



HAL
open science

Déficits centraux auditifs dans les formes génétiques de surdité: l'exemple des gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*

Olivier Postal

► **To cite this version:**

Olivier Postal. Déficits centraux auditifs dans les formes génétiques de surdité: l'exemple des gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*. Neurobiologie. Sorbonne Université, 2022. Français. NNT: 2022SORUS324 . tel-04213556

HAL Id: tel-04213556

<https://theses.hal.science/tel-04213556v1>

Submitted on 21 Sep 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Sorbonne Université

Ecole doctorale « Complexité du vivant »

Plasticité des circuits auditifs centraux / Institut de l'Audition

Déficits centraux auditifs dans les formes génétiques de surdité

L'exemple des gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*

Par **Olivier Postal**

Thèse de doctorat de Biologie du développement-Neurobiologie

Dirigée par Boris Gourévitch et Nicolas Michalski

Présentée et soutenue publiquement le 14 septembre 2022

Devant un jury composé de :

Laurent TIRET Professeur à l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (Université Paris-Est)	Président
Arnaud NORENA Directeur de recherche CNRS (Université Aix-Marseille)	Rapporteur
Régis NOUVIAN Directeur de recherche INSERM (Institut de Neurosciences de Montpellier)	Rapporteur
Tania RINALDI BARKAT Professeur à l'Université de Bâle (Suisse)	Examinatrice
Volker BORMUTH Maître de conférences Sorbonne Université (Paris)	Examineur
Boris GOUREVITCH Chargé de recherche CNRS (Institut de l'Audition, Paris)	Directeur de thèse
Nicolas MICHALSKI Chargé de recherche Pasteur (Institut de l'Audition, Paris)	co-Directeur de thèse



Remerciements

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de juger de la qualité de mon travail de thèse, les rapporteurs Arnaud Norena et Régis Nouvian, Volker Bormuth, Tania Rinaldi Barkat, toujours bienveillante à chaque rencontre, et enfin Laurent Tiret, qui après avoir dirigé ma thèse de doctorat vétérinaire a accepté de nouveau de lire mes travaux. Un grand merci à tous.

Je remercie mes deux directeurs de thèse, Boris Gourévitch et Nicolas Michalski, qui ont accepté de me supporter pendant plusieurs années, me faisant confiance pour de nombreux projets et passant du temps à m'enseigner leur savoir. Leur complémentarité a été un atout pour moi au cours de ces années passées au laboratoire, et j'espère avoir répondu de la meilleure manière possible à leurs attentes.

Je remercie aussi Christine Petit, qui m'a accepté dans son laboratoire il y a 5 ans, et avec qui les échanges sont toujours intéressants.

Un travail de thèse, comme tout travail scientifique, est aussi un travail d'équipe. Je remercie chaleureusement l'ensemble de l'équipe PCAC pour leur aide et leur support toutes ces années. Typhaine, d'abord formatrice en microchirurgie, puis conseillère technique en électrophysiologie, et soutien moral permanent, devenue depuis une amie sincère ; je n'aurai pas pu rêver meilleure partenaire de travail pour réaliser cette thèse. Sabrina et Camille, arrivées au cours de ma thèse, dont la bonne humeur, le dynamisme, et la motivation m'ont été précieux dans les moments compliqués qui ont jalonné la fin de mon parcours. Philippe, son verbe acerbe et son humour cynique toujours là quand il faut. Alexa, avec qui j'aurais aimé avoir plus de temps pour travailler. Carolina, à qui je souhaite tout le meilleur pour sa thèse. Mathilde, toujours d'accord pour discuter de tout. Monica, à qui je dois certains de mes résultats. Marianne, dont le stage fut trop vite arrêté par la crise. Et enfin Elodie, Julia et Agathe, trois stagiaires motivées et motivantes qui auront chacune dans son style apporté un petit truc en plus aux journées de manip parfois très longues.

Je tiens à avoir une pensée particulière pour Charlotte Calvet et Chloé Felgerolle avec qui j'ai pris plaisir à travailler ponctuellement, mais surtout à discuter de tout et de rien et avec qui j'espère pouvoir le faire encore à l'avenir.

Je remercie toutes les personnes qui ont pris du temps pour m'apporter une aide scientifique, technique et de précieux conseils : Céline Trébeau, Sedigheh Delmaghani, Jacques Boutet de Monvel Sophie Bagur, Joanna Schwenkgrub, Maïa Brunstein, Magdanela Solyga, Gabriel Lepousez, Eric Nicoleau, Christophe Préhaud, Souheila Benfrid. En particulier, je tiens à remercier Danuta Oficjalska pour son aide pour sortir du labyrinthe administratif rencontré au début de ma thèse ainsi qu'Evelyne Castanié et Vincent Petit et leur aide pour les démarches administratives. Plus largement, je salue les membres de l'IDA avec qui il est toujours agréable de discuter : Fabienne Wong Jun, Sylvie Nouaille, Maureen Wentling, Carla Barbosa Spinola, Ghizlène Lahlou, Baptiste Plion, Andréa Lelli, Amrit Estivalet, Marie Giorgi, Maxence Cornille, Raphaël Etournay, Aziz El Amraoui, Saaid Safieddine. Je souhaiterais aussi avoir une pensée pour Danica, qui nous a quittés pendant ma thèse. Son sourire, sa douceur et sa gentillesse quotidienne m'ont été précieux, et son souvenir m'a accompagné lors de la rédaction de ce travail.

Je remercie l'ensemble du personnel des animaleries de l'Institut Pasteur et de l'IDA, notamment Marta Lindner, Gabriela Rusulet, Edna Huamani qui sont toujours disponibles, ainsi que ma consœur vétérinaire Myriam Mattei pour son aide et ses conseils. Je tiens aussi à remercier chaleureusement Déborah Groussard et Noémi Dominique qui m'ont aidé à collecter certaines données comportementales.

Sans eux impossible de surmonter les moments difficiles qu'on rencontre inmanquablement au cours d'une thèse. Je remercie toute ma famille, mes parents Catherine et Jean-Michel qui me soutiennent quoique je fasse, quoique je dise, et quelle que soit mon humeur, et dont je ne sais jamais comment leur exprimer ma gratitude ; si j'en suis là, c'est d'abord grâce à eux et ce qu'ils m'ont transmis. Ma sœur Jeanne, qui va, j'en suis certain faire une excellente thèse dans quelques mois qui fera la fierté de son grand frère ; ma grand-mère Michaëla, toujours attentionnée, et mes grands-parents Pierre, Jacqueline et Jeannot qui n'auront pu me voir terminer ceux que j'ai commencé en leur compagnie et avec qui j'aurais aimé partager ce travail.

Je remercie tous mes amis en dehors du laboratoire. Ils m'ont chacun apporté au cours des quelques années qui s'achèvent un soutien, un réconfort, un moment de détente nécessaire pour oublier quelques instant le stress qui a parfois pris un peu trop de place. Merci aux agro-vétos Céline, Pierre, Antoine, Koko, Élise, Clotilde, Margaux, Flok, Clémentine, Lou, Camille. Merci aux vétos, en particulier à Jorno, à Gaëlle, à Lena. Un salut à Clément, qui m'a permis d'avoir un toit ces derniers mois et à Ronan.

Enfin, Sarah, merci d'avoir été à mes côtés pendant toutes ces années.

Sommaire

Remerciements	I
Sommaire	III
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	XI
Liste des annexes	XII
Liste des abréviations.....	XIII
Préambule	XV
Introduction	1
I) L'oreille, récepteur des ondes sonores.....	3
A. L'oreille : une anatomie adaptée à la réception des ondes sonores	3
1. L'oreille externe	3
2. L'oreille moyenne	4
3. L'oreille interne	5
B. La cochlée, siège de la transduction des ondes sonores en influx nerveux.....	6
1. Tonotopie cochléaire et analyse fréquentielle des sons.....	6
2. L'organe de Corti, organe neurosensoriel auditif.....	8
a. Fluides cochléaires et gradient potassique.....	8
b. Les cellules ciliées sensorielles auditives	10
3. Principe général de la transduction mécano-électrique.....	12
a. La transduction mécano-électrique des cellules ciliées internes.....	12
b. Les cellules ciliées externes et l'amplification cochléaire	14
4. Les composants moléculaires du complexe de mécano-transduction	15
a. La mécano-transduction repose sur la mise en tension des <i>tip-links</i>	16
b. L'amplification cochléaire des cellules ciliées externes repose sur des liens spécifiques	18
c. Bases moléculaires du développement de la touffe ciliaire	19
C. Le nerf auditif relie le système périphérique au système auditif central	21
1. Innervation des cellules ciliées sensorielles	23
2. Propriétés fonctionnelles des fibres du nerf auditif.....	25
a. Activité spontanée et caractérisation fonctionnelle	25
b. Codage fréquentiel et verrouillage en phase.....	26
c. Le codage de l'intensité sonore	28
II) Le système auditif central, des noyaux cochléaires au cortex auditif.....	29
A. Les noyaux auditifs du tronc cérébral.....	31
1. Les noyaux cochléaires	31
2. Le complexe olivaire supérieur	34
3. Le lemnisque latéral	36
4. Le colliculus inférieur	36
B. Le corps genouillé médian du thalamus	38
C. Le cortex auditif	40
1. Organisation anatomique, fonctionnelle et cellulaire.....	40
a. Anatomie et topographie	40
b. Organisation fonctionnelle	45

c.	Organisation cellulaire et notion d'équilibre excitation et inhibition	46
2.	Le développement du cortex auditif	49
a.	Développement morphologique et cellulaire	49
b.	Développement fonctionnel	51
III)	Les surdités, des déficits auditifs périphériques aux conséquences centrales ..	54
A.	Les différents types de surdités	55
B.	Les déficits auditifs périphériques ont des conséquences importantes sur le système nerveux central.....	57
1.	Les déficits centraux associés aux déficits auditifs périphériques	57
2.	Des gènes de surdité nécessaires au développement du système nerveux central	58
3.	Des déficits auditifs sans atteinte périphérique : les troubles de l'audition centrale	60
C.	Les traitements des déficits auditifs nécessitent la prise en compte des déficits centraux.....	61
D.	L'identification des déficits auditifs centraux chez les rongeurs	62
IV)	Les troubles auditifs centraux, point d'entrée pour l'étude de l'hyperexcitabilité du système nerveux central	64
A.	Hyperexcitabilité, troubles neurologiques et audition	64
1.	L'hyperexcitabilité des voies auditives centrales	64
2.	L'hyperexcitabilité neuronale est présente dans de nombreux troubles neurologiques	65
3.	Les neurones inhibiteurs, acteurs majeurs de l'hyperexcitabilité.....	66
B.	Crises audiogènes, voie d'entrée pour l'étude de déficits centraux	68
1.	Qu'est-ce qu'une crise audiogène ?	68
2.	Les facteurs favorisant les crises audiogènes	68
3.	Les supports neurophysiologiques des crises audiogènes.....	69
V)	<i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i>, deux modèles murins atypiques d'hyperexcitabilité des voies auditives.....	72
	Objectifs de thèse.....	77
	Matériel et Méthodes	79
I)	Animaux	81
II)	Anesthésie et chirurgie.....	82
A.	ABR et CAEP	82
B.	Chirurgie préparatoire aux enregistrements électrophysiologiques sous anesthésie.....	82
C.	Chirurgie préparatoire aux enregistrements électrophysiologiques éveillés	84
III)	Enregistrements électrophysiologiques	87
A.	Seuils auditifs	87
B.	Potentiels évoqués du cortex auditif	88
C.	Enregistrements extracellulaires	89
1.	Double implantation sous anesthésie	89
2.	Enregistrements sur animaux vigiles.....	92
3.	Stimulations auditives	93
IV)	Études comportementales.....	94
A.	Dispositif expérimental : les Audiobox.....	94
B.	Les protocoles expérimentaux.....	96

1.	Protocole de discrimination temporelle.....	96
2.	Protocole de perception de la rugosité acoustique	96
C.	L'inhibition du réflexe de sursaut par un gap	96
V)	Analyses statistiques.....	98
Résultats	99
I)	Partie I : Développement et optimisation de systèmes d'étude des déficits centraux chez la souris.....	101
A.	Publication n°1 : Caractérisation des Potentiels Evoqués Auditifs Sous-Cutanée chez la Souris	103
B.	Publication n°2 : Comportement spontané de la souris en présence de sons dissonants et rugueux.....	114
C.	S'affranchir de l'anesthésie : mesures électrophysiologiques sur souris vigiles	128
II)	Partie II : Etude de l'expression et du rôle fonctionnel de <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i>	131
A.	Etude du rôle de <i>Cdhr23</i> dans le fonctionnement du cortex auditif chez les souris <i>Cdhr23</i> cKO anesthésiées	133
1.	Les seuils auditifs périphériques et corticaux des souris <i>Cdhr23</i> cKO sont normaux.....	134
2.	Une réduction des champs récepteurs chez les souris <i>Cdhr23</i> cKO	136
3.	Les champs récepteurs des souris <i>Cdhr23</i> cKO sont plus sensibles au bruit....	141
4.	Les neurones des souris <i>Cdhr23</i> cKO montrent une modification de l'adaptation neuronale	143
5.	Réponse neuronale à un stimulus « crise audiotogène »	148
B.	Etude du rôle de <i>Pcdh15</i> dans le fonctionnement du cortex auditif chez les souris <i>Pcdh15</i> cKO	150
1.	Réponse neuronale à un son pur et influence d'un bruit de fond.....	151
2.	Diminution de l'adaptation et allongement des réponses à des clicks.	154
3.	Les souris <i>Pcdh15</i> cKO détectent aussi bien les <i>gaps</i> que les souris CTRL, mais avec un allongement de leur durée de réponse.....	157
4.	La durée de réponse est allongée en réponse à certains sons complexes chez les souris <i>Pcdh15</i> cKO.....	159
5.	Potentiels évoqués corticaux pendant la période critique chez les souris <i>Pcdh15</i> cKO	161
C.	Perception des sons chez les souris <i>Cdhr23</i> cKO et <i>Pcdh15</i> cKO	164
1.	Conséquence de l'absence d'une partie des interneurones à parvalbumine sur la perception des sons par les souris <i>Cdhr23</i> cKO.....	164
a.	Les souris <i>Cdhr23</i> cKO sont capables de différencier des bruits aux modulations d'amplitude proches	164
b.	La perception des <i>gaps</i> n'est pas modifiée chez les souris <i>Cdhr23</i> cKO	167
2.	Conséquence de l'absence d'une partie des interneurones à parvalbumine sur la perception des sons par les souris <i>Pcdh15</i> cKO.....	170
a.	Les souris <i>Pcdh15</i> cKO sont capables de différencier des bruits aux modulation d'amplitude proches	170
b.	La perception des sons rugueux n'est pas modifiée chez les souris <i>Pcdh15</i> cKO.....	172
c.	Le développement de l'inhibition du réflexe de sursaut par un <i>gap</i> est altéré chez les souris <i>Pcdh15</i> cKO.....	173

D. <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> sont-ils comme attendu des marqueurs des progéniteurs d'interneurons à parvalbumine ?.....	176
1. La microglie est le principal type cellulaire marqué dans le cortex des souris <i>Cdhr23</i> ^{cre}	176
2. L'expression de <i>Cdhr23</i> n'est pas restreinte au néocortex chez les souris <i>Cdhr23</i> ^{cre}	179
3. <i>Pcdh15</i> est exprimé dans des oligodendrocytes et leurs progéniteurs	181
a. L'ARNm de <i>Pcdh15</i> est retrouvé dans des oligodendrocytes du néocortex.....	181
b. L'isoforme CD2 de <i>pcdh15</i> est majoritairement exprimé dans le néocortex des souris	183
Discussion.....	185
I) <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> ne sont pas restreints au cortex auditif en développement : quels sont leurs rôles dans le développement des interneurons à parvalbumine du cortex auditif ?	187
A. <i>Cdhr23</i> est exprimé dans le cortex et dans plusieurs noyaux sous-corticaux .	187
1. <i>Cdhr23</i> , microglie et interneurons.....	187
2. <i>Cdhr23</i> et crises audiogènes : une origine sous-corticale ?.....	190
B. <i>Pcdh15</i>, oligodendrocytes, et interneurons.....	192
1. <i>Pcdh15</i> dans le développement embryonnaire : un marqueur d'oligodendrocytes ou d'interneurons ?	192
2. Perspectives	196
a. Caractérisation spatio-temporelle de l'expression de <i>Pcdh15</i>	196
b. Caractérisation du rôle moléculaire de <i>Pcdh15</i>	197
C. <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> sont-ils coexprimés dans l'encéphale ?	198
II) Quels sont les rôles dans le fonctionnement du système auditif des interneurons dépendant de <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> au cours du développement ?	200
A. Des modèles aux seuils auditifs préservés	200
B. L'inactivation de <i>Cdhr23</i> entraîne des défauts fonctionnels dans le cortex auditif et le colliculus inférieur.	201
1. L'activité spontanée et évoquée sont modifiées dans le cortex auditif et le colliculus inférieur.....	201
2. Réduction des champs récepteurs et sensibilité au bruit : un avantage pour la discrimination de sons purs ?	202
3. Une perte de précision temporelle des neurones du cortex auditif qui n'a pas d'influence sur la perception des sons.....	205
4. Les réponses neuronales changent au cours du développement	207
5. La cre-recombinase perturbe-t-elle le fonctionnement des circuits neuronaux ?	208
C. L'inactivation de <i>Pcdh15</i> : un possible allongement de la période critique de développement ?	209
1. Réponses à un son pur et influence du bruit.....	209
2. Les neurones des souris <i>Pcdh15</i> cKO répondent plus fortement à des sons large bande	209
3. Le développement de la perception des <i>gaps</i> est altéré chez les souris <i>Pcdh15</i> cKO210	
D. Les interneurons à parvalbumine dépendant de <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> forment-ils bien une même sous-population ?	212

III) Perspectives : un rôle de <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> dans les maladies neuropsychiatriques ?	213
Références	215
Annexes	251

Liste des figures

Figure 1 : L'oreille chez l'humain.....	4
Figure 2 : L'oreille interne et la cochlée chez l'humain.....	6
Figure 3 : La membrane basilaire.....	7
Figure 4 : L'organe de Corti	9
Figure 5 : Anatomie des cellules ciliées.....	11
Figure 6 : Transduction mécano-électrique, dépolarisation et exocytose des CCI.....	13
Figure 7 : L'électromotilité et la sélectivité fréquentielle des CCEs.....	15
Figure 8 : Les composants moléculaire du complexe de transduction mécano-électrique	18
Figure 9 : Stéroiline, Otogeline et Otogeline-like, composant essentiels des top-connectors horizontaux et des liens à la membrane tectoriale.....	19
Figure 10 : Les protéines participant à la cohésion de la touffe ciliaire.....	21
Figure 11 : Schéma des neurones ganglionnaires, de la cochlée jusqu'à leur terminaison dans le noyau cochléaire.....	22
Figure 12 : L'innervation des cellules ciliées auditives.....	24
Figure 13 : Innervation d'une cellule ciliée interne	26
Figure 14 : Préservation de la tonotopie cochléaire par les fibres du nerf auditif.....	27
Figure 15 : Les voies auditives du système nerveux central	30
Figure 16 : Circuits multisensoriels du DCN	33
Figure 17 : Organisation tonotopique de la cochlée au complexe olivaire supérieur	35
Figure 18 : Illustration des principales connexions ascendantes et descendantes entre le cortex auditif, le corps genouillé médian et le colliculus inférieur	39
Figure 19 : Schéma comparatif de l'organisation du cortex auditif de différentes espèces de Mammifères	41
Figure 20 : Représentation schématique des aires corticales chez la souris selon différentes études.....	44
Figure 21 : Schéma comparatif des couches corticales chez trois espèces de Mammifères	46
Figure 22 : Principaux types d'interneurones néocorticaux chez la souris	48
Figure 23 : Migration des progéniteurs des neurones pyramidaux et des interneurones chez la souris	50
Figure 24 : Succession de certaines périodes critiques du développement de l'aire primaire A1 chez le rat	53
Figure 25 : Classification des surdités.....	56
Figure 26 : Structures cérébrales impliquées dans le développement des crises audiogènes ..	71
Figure 27 : <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> ont un rôle critique pour la migration d'une population de précurseurs	73
Figure 28 : L'inactivation conditionnelle de <i>Cdhr23</i> et <i>Pcdh15</i> entraîne une réduction du nombre d'interneurones à parvalbumine dans le cortex auditif.....	75
Figure 29 : Souris dans sa cage après la chirurgie préparatoire aux enregistrements vigiles ..	86
Figure 30 : Représentation schématique de la méthode de mesure des ABRs.....	87
Figure 31 : Potentiels évoqués auditifs corticaux (CAEPs)	89
Figure 32 : Identification des aires tonotopiques du cortex auditif permettant l'implantation des électrodes corticales dans les aires primaires	91
Figure 33 : Exemple de signaux recueillis sur deux électrodes voisines	91
Figure 34 : Dispositif expérimental Audiobox.....	95

Figure 35 : L'inhibition du réflexe de sursaut par un <i>gap</i>	98
Figure 36 : Illustration du système d'enregistrement sur souris vigiles mis en place au cours de ma thèse.....	130
Figure 37 : Représentation des seuils auditifs corticaux et sous-corticaux.....	135
Figure 38 : Comparaison des principales caractéristiques des champs récepteurs spectro-temporels auditifs	137
Figure 39 : Comparaison des caractéristiques des champs spectro-temporel pour les animaux enregistrés pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes (<P35)	139
Figure 40 : Comparaison des caractéristiques des champs spectro-temporels pour les animaux enregistrés après la période de susceptibilité aux crises audiogènes (>P35)	140
Figure 41 : Modification des paramètres des champs récepteurs lors de l'ajout d'un bruit blanc de 60dB.	142
Figure 42 : Verrouillage de phase et adaptation neuronale dans le cortex auditif et le colliculus inférieur.	144
Figure 43 : Durée moyenne de réponse au 1 ^{er} click pour une cadence de 4 clicks/s	145
Figure 44 : Illustration du mécanisme de <i>forward masking</i> en réponse à deux sons purs successifs.....	147
Figure 45 : Taux de décharge en réponse à un son pur continu	148
Figure 46 : Comparaison des principales caractéristiques des champs récepteurs spectro-temporels auditifs	151
Figure 47 : L'activité spontanée sans stimulation auditive.....	152
Figure 48 : Modifications des paramètres des champs récepteurs lors de l'ajout d'un bruit de fond.....	153
Figure 49 : Caractéristiques des réponses neuronales à une succession de clicks	155
Figure 50 : Adaptation et verrouillage de phase en réponse à des trains de clicks	156
Figure 51 : Réponse à un <i>gap</i> dans un bruit blanc continu	158
Figure 52 : Corrélation de la synchronisation temporelles des potentiels d'actions entre les différentes répétitions de chaque vocalisation.....	159
Figure 53 : Exemple de réponses à deux vocalisations.....	160
Figure 54 : Potentiels évoqués auditifs chez le modèle <i>Pcdh15</i> cKO.....	162
Figure 55 : Les performances lors de la discrimination des bruits modulés en amplitude ne montrent pas de différence entre les groupes <i>Cdhr23</i> cKO et CTRL	166
Figure 56 : La perception des <i>gaps</i> n'est pas modifiée chez les souris <i>Cdhr23</i> cKO.....	168
Figure 57 : Les performances lors de la discrimination des modulations d'amplitude ne montrent pas de différence entre les groupes <i>Pcdh15</i> cKO et CTRL	171
Figure 58 : Effets des sons harmoniques modulés en amplitude sur le comportement des souris <i>Pcdh15</i> cKO	172
Figure 59 : L'atténuation du réflexe de sursaut en fonction de la durée du <i>gap</i>	174
Figure 60 : Expression de la cre-recombinase via le marqueur tdTomato dans le cortex auditif	177
Figure 61 : <i>Cdhr23</i> est exprimé par la microglie dans le cortex auditif.....	178
Figure 62 : <i>Cdhr23</i> est exprimé dans des neurones et des fibres de nombreuses régions sous-corticales auditives et non auditives.....	180
Figure 63 : <i>Pcdh15</i> est retrouvé dans des oligodendrocytes et des interneurons à parvalbumine de souris C57Bl6/J par hybridation <i>in situ</i> de l'ARNm et par l'analyse du transcriptome sur cellule unique	182
Figure 64 : Expression des trois isoformes de <i>Pcdh15</i> dans le cortex de souris C57Bl6/J....	183

Figure 65 : Données transcriptomiques issues du site The Humain Atlas Protein	190
Figure 66 : Expression de <i>Nkx2.1</i> dans le colliculus inférieur	192
Figure 67 : Illustration des origines communes des OPCs et interneurons au cours du développement	194
Figure 68 : Données transcriptomiques issues du site The Humain Atlas Protein	196

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des microARN et des protéines communs au système auditif périphérique et central 60

Liste des annexes

Annexe 1 : Plan de la pièce de maintien à fixer au crâne des souris élaborée avec Eric Nicoleau (plate-forme FabLab de l'Institut Pasteur)	253
Annexe 2 : Plan du socle permettant d'immobiliser la souris via la pièce de maintien fixée à son crâne, élaboré avec Eric Nicoleau (plate-forme FabLab de l'Institut Pasteur)	254
Annexe 3 : Zones d'expression communes aux gènes <i>Nkx2.1</i> et <i>Cdhr23</i>	255

Liste des abréviations

Dans ce manuscrit rédigé en français, certaines abréviations seront conservées sous leur forme anglaise (par exemple AC plutôt que CA pour désigner le cortex auditif).

A1 : aire primaire du cortex auditif
AAF : champs auditif antérieur du cortex auditif (*Anterior Auditory Field*)
ABR : potentiel évoqué auditif du tronc cérébral (*Auditory Brainstem Response*)
AC : cortex auditif (*Auditory Cortex*)
AM : modulation d'amplitude (*Amplitude Modulation*)
AVCN : noyau cochléaire antéro-ventral (*anteroventral cochlear nucleus*)
CAEP : potentiel évoqué cortical auditif (*Cortical Auditory Evoked Potential*)
CCE : Cellule ciliée externe
CCI : Cellule ciliée interne
CDHR : protéine apparentée aux cadhérines (*Cadherin Related Protein*)
cKO : *conditional Knock-Out*
DCN : noyau cochléaire dorsal (*Dorsal Cochlear Nucleus*)
DP : champs postéro-dorsal du cortex auditif (*DorsoPosterior field*)
IC : colliculus inférieur (*Inferior Colliculus*)
LSO : noyau olivaire latéral (*Lateral Superior Olive*)
MGB : corps genouillé médian du thalamus (*Medial Geniculate Body*)
MGE : éminence ganglionnaire médiale (*Medial Ganglionic Eminence*)
MSO : noyau olivaire médian (*Medial Superior Olive*)
OPC : progéniteur d'oligodendrocyte (*Oligodendrocyte Progenitor Cell*)
PCDH : protocadhérine
PVCN : noyau cochléaire postéro-ventral (*posteroventral cochlear nucleus*)
SOC : noyau olivaire supérieur (*Superior Olivary Complex*)
PV : Parvalbumine
dB SPL : *Decibel Sound Pressure Level*
STRF : champs récepteur spectro-temporel (*Spectro-Temporal Receptive Field*)
UF : *Ultrasonic Field*

Préambule

Au cours des trois dernières décennies, l'étude des formes héréditaires de surdité par une approche génétique a permis de mieux comprendre la physiologie de la cochlée, l'organe sensoriel de l'audition. Cependant, cette approche ne permet pas d'étudier aussi efficacement les dysfonctionnements du système auditif central affectant pourtant la perception auditive de nombreux patients. En effet, la surdité, dans la majorité des formes héréditaires, a pour origine un dysfonctionnement de la cochlée ou du nerf auditif : on parle de déficits périphériques. Mais les troubles de la perception auditive peuvent aussi venir d'anomalies touchant le système nerveux central. Ces déficits auditifs centraux sont mal connus et, dans certains cas, passent même inaperçus. Ceci est probablement dû à l'atteinte périphérique qui prive le cerveau de tout ou partie des informations acoustiques qu'il reçoit normalement. Les patients qui en souffrent présentent des difficultés de compréhension dans le bruit, des retards d'acquisition du langage ou plus largement des neuropathies auditives comme les acouphènes ou l'hyperacousie. Ces déficits centraux auraient en commun une hyperexcitabilité des circuits neuronaux auditifs. Or, cette hyperexcitabilité neuronale est l'une des caractéristiques des syndromes épileptiques et elle est aussi retrouvée dans de nombreuses pathologies psychiatriques comme, l'autisme, la schizophrénie ou d'autres troubles psychotiques. Ces patients atteints par ces pathologies présentent régulièrement des déficits auditifs centraux qui pourraient donc s'expliquer par l'hyperexcitabilité des circuits neuronaux. Afin de mieux comprendre ces déficits auditifs centraux, mon laboratoire de thèse cherche à identifier les formes génétiques de surdités pouvant associer à la fois des déficits auditifs périphériques et centraux en étudiant la susceptibilité des souris aux crises audiogènes. Ce sont des épilepsies réflexes en réponse à un son de forte intensité, une manifestation typique d'une hyperexcitabilité des circuits neuronaux. Plusieurs lignées de souris mutantes pour des gènes de surdité présentent une susceptibilité aux crises audiogènes et peuvent donc servir de point d'entrée pour l'étude des déficits auditifs centraux. C'est notamment le cas des souris porteuses de mutation dans les gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*, sourdes à l'état bi-allélique mais susceptibles aux crises audiogènes à l'état mono-allélique sans perte auditive. Les précédents travaux de mon laboratoire de thèse ont suggéré que ces deux gènes de surdité jouent un rôle dans le développement des interneurons inhibiteurs corticaux exprimant la parvalbumine (Libé-Philippot et al. 2017).

Au cours de mon doctorat, j'ai approfondi les rôles de *Cdhr23* et *Pcdh15* dans le système auditif central grâce à des modèles murins d'inactivation conditionnelle dans l'encéphale. Je

présenterai ces résultats en détail, ceux-ci n'étant pas encore publiés. De plus, j'ai développé des outils permettant d'identifier la présence de troubles auditifs centraux chez la souris qui ont conduit à deux publications intégrées à ce manuscrit. La première présente une méthode de mesure des potentiels évoqués corticaux auditifs chez la souris qui pourra servir à rapidement identifier les troubles auditifs centraux chez des modèles murins. La deuxième publication montre que les souris percevaient de manière plus agréable certaines modulations temporelles de l'enveloppe des sons qui provoquent une sensation désagréable chez l'humain et suggère donc que l'enveloppe temporelle acoustique porte bien des caractéristiques émotionnelles même chez la souris qui pourraient être modifiées en cas de déficits auditifs centraux.

Avant de présenter et de discuter les résultats de mon travail de thèse, j'exposerai d'abord l'anatomie et le fonctionnement du système auditif depuis l'oreille jusqu'au cortex. Je détaillerai notamment le fonctionnement de la cochlée, qui implique de nombreux gènes de surdité potentiellement à l'origine de troubles auditifs centraux, et celui du cortex auditif. Je présenterai ensuite le lien étroit entre déficits auditifs périphériques et centraux qui rend ces derniers si difficiles à étudier ainsi que l'intérêt que présente leur étude pour mieux comprendre certaines pathologies neuropsychiatriques. Je conclurai cette introduction en présentant l'étude de Libé-Philippot et al. (2017) sur les gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*, point de départ de mes travaux de thèse.

Une fois mes résultats présentés, je conclurai en discutant du rôle de ces deux gènes de surdité dans le développement et le fonctionnement du système auditif central et leur possible lien avec des pathologies neuropsychiatriques.

Introduction

I) L'oreille, récepteur des ondes sonores

La compréhension de l'anatomie et du fonctionnement de l'oreille est issue de nombreux travaux scientifiques tant dans le domaine de la biologie que de la physique, dont on retrouve les débuts dès la Grèce antique avec une première description de l'oreille, identifiée comme organe de l'audition. Il faut ensuite attendre la Renaissance et les travaux de Vésale ou Eustachi pour que soit précisée cette anatomie, puis l'optimisation du microscope pour que soit décrit l'organe de Corti (Corti 1851), ses composantes cellulaires (Deiters 1860) et plus récemment les liens de cohésion qui lient les stéréocils de la touffe ciliaire, l'antenne mécanique de réception des sons des cellules sensorielles (Pickles et al., 1984). Je présenterai dans cette première partie les principaux points qui seront utiles à la compréhension de mes travaux de thèse.

A. L'oreille : une anatomie adaptée à la réception des ondes sonores

Pour comprendre le rôle de l'oreille et son fonctionnement, il faut d'abord définir la nature d'un son. Un son est composé d'ondes de pression provoquées par des molécules (de l'air le plus souvent) en vibration. Le rôle de l'oreille est de capter, amplifier puis transmettre au système nerveux central l'information portée par ces ondes.

L'oreille se divise en trois compartiments : externe, moyen et interne (**Figure 1**). Les deux premiers sont consacrés uniquement à l'audition, tandis que le compartiment interne abrite la cochlée, organe sensoriel auditif, et le vestibule, organe de l'équilibre.

1. L'oreille externe

L'oreille externe, la seule partie visible, capte les ondes sonores puis les focalise sur la membrane tympanique (**Figure 1**). Elle est composée du pavillon, de la conque et du conduit auditif. Ces structures anatomiques exercent deux rôles : d'une part, l'amplification sélective de certaines fréquences par effet passif de résonance dû à la conformation du conduit auditif. D'autre part, le pavillon et la conque filtrent les fréquences afin d'apporter une indication sur l'élévation des sources sonores. Si une source est en hauteur, le pavillon et la conque vont transmettre davantage les composantes hautes fréquences émises par la source sonore (Purves et al. 2015), donnant ainsi un indice sur sa localisation.

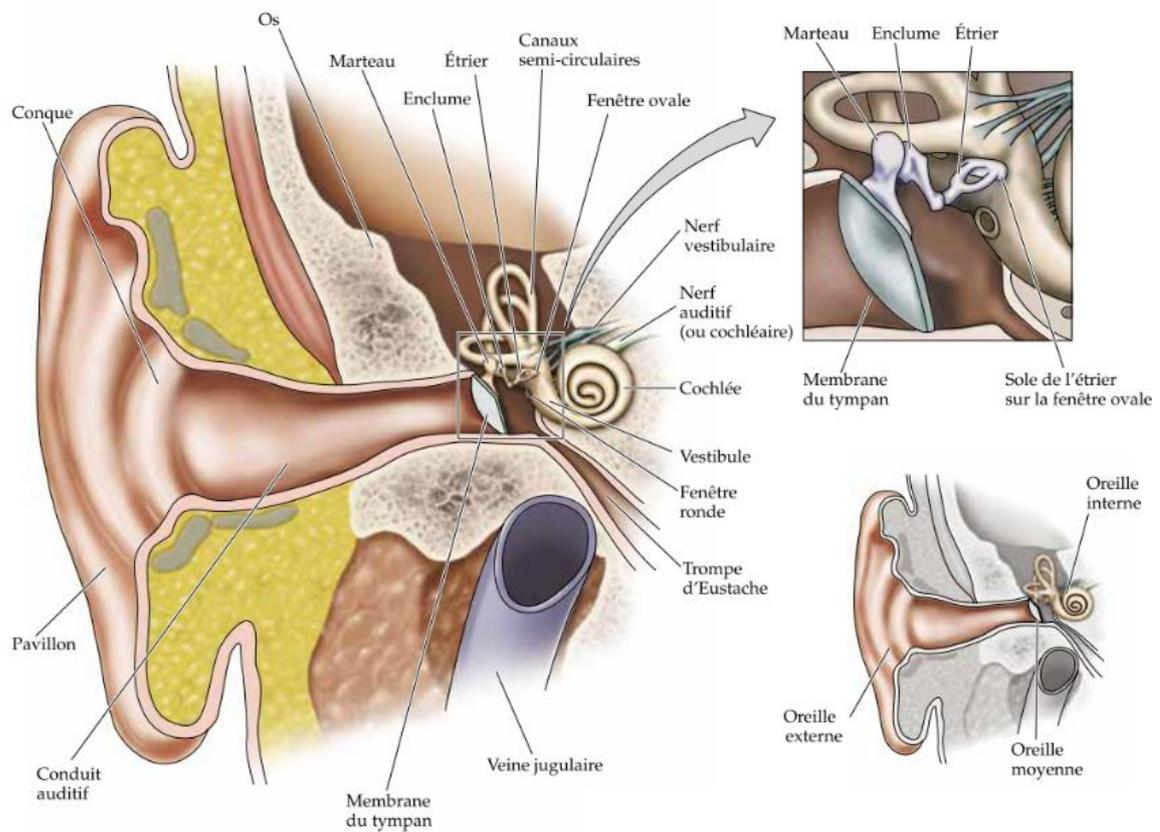


Figure 1 : L'oreille chez l'humain
Reproduit d'après Purves *et al.*, 2015.

2. L'oreille moyenne

A l'extrémité médiale du conduit tympanique se trouve l'oreille moyenne. Formant une cavité remplie d'air, elle est délimitée par deux fines membranes : le tympan du côté du conduit tympanique et la fenêtre ovale au niveau de l'oreille interne. L'oreille moyenne peut être subdivisée en trois parties : les annexes mastoïdiennes (partie de l'os temporal), la caisse du tympan contenant les osselets et la trompe d'Eustache (Marchioni et al., 2011). Les osselets sont trois os : le marteau, l'enclume et l'étrier. Ils permettent d'assurer la transmission de l'onde sonore à l'interface entre l'air et le milieu liquide composant l'oreille interne. En effet, ils forment une chaîne entre le tympan, membrane conique vibrant à l'arrivée d'une onde sonore aérienne, et la fenêtre ovale, au contact du milieu liquide constitutif de la cochlée. Or, le milieu liquide de l'oreille interne a une impédance plus élevée que l'air dans lequel se propage l'onde sonore : sans mécanisme compensateur, l'énergie acoustique transportée par l'onde sonore serait presque entièrement réfléchi sans se propager jusqu'aux cellules sensorielles auditives. L'oreille moyenne agit donc comme un adaptateur d'impédance entre le milieu aérien extérieur et le milieu liquidien cochléaire grâce à une amplification de la pression exercée au niveau du

tympan en l'amenant à un niveau près de 200 fois supérieur à l'entrée de l'oreille interne (Bizley 2017). Ce gain est obtenu d'une part par la différence de surface entre le tympan et la fenêtre ovale de l'oreille interne. Cette dernière, plus petite, permet de concentrer l'énergie acoustique qui arrive à la membrane tympanique augmentant ainsi les forces de vibrations. D'autre part, le bras du marteau est plus long que celui de l'enclume, ce qui produit un effet de levier amplifiant les vibrations. Enfin, ce gain peut être adapté, notamment pour protéger l'oreille interne de sons trop forts par la contraction du muscle de l'étrier qui limite les mouvements des osselets (Bizley 2017). Enfin, la trompe d'Eustache relie la paroi de la caisse du tympan à la paroi latérale du rhinopharynx et a pour rôle d'égaliser la pression de l'air de part et d'autre du tympan afin de protéger l'oreille moyenne lors des changements de pression d'air (El Hachem 2012).

3. L'oreille interne

La dernière partie de l'oreille, l'oreille interne, est composée du système vestibulaire (vestibule et canaux semi-circulaires), associé à l'équilibre, et de la cochlée, associée à l'audition. C'est au niveau de la cochlée que les sons sont transformés en influx nerveux. De plus, la cochlée amplifie les ondes sonores et agit comme un analyseur mécanique de fréquence comme nous le verrons plus loin. La cochlée apparaît comme un tube osseux enroulé en spirale autour d'un os central, le modiolus. Chez l'humain, elle s'enroule sur deux tours et demi de spire, la cochlée droite s'enroulant dans le sens horaire et la cochlée gauche dans le sens antihoraire. Elle est recouverte d'une paroi osseuse : la capsule otique. Une fois la cochlée déroulée, celle-ci mesure environ 3 cm de long. La cochlée se divise en 3 compartiments : la *scala tympani* (ou rampe tympanique), la *scala media* (ou canal cochléaire) et la *scala vestibuli* (ou rampe vestibulaire). A sa base se trouve la fenêtre ovale (en contact avec l'étrier de l'oreille moyenne) et la fenêtre ronde (**Figure 2**, à droite). Le canal cochléaire est limité par la membrane de Reissner dans sa partie supérieure et par la membrane basilaire à sa base. L'organe de Corti, structure complexe abritant les cellules sensorielles auditives, repose sur cette membrane. Le compartiment cochléaire ne va pas jusqu'à l'apex. A la place se trouve une structure appelée hélicotrème, un orifice faisant communiquer les rampes tympanique et vestibulaire. La pression provoquée par une onde sonore sur la fenêtre ovale entraîne par propagation de l'onde un mouvement vertical oscillatoire de la membrane basilaire. Ce mouvement de la membrane basilaire provoque à son tour la transduction mécano-électrique par les cellules sensorielles de l'organe de Corti, les cellules ciliés. Le fonctionnement précis de la cochlée sera détaillé dans la partie suivante. Située au bout de la rampe tympanique, la fenêtre ronde permet d'absorber

les ondes de pressions mécaniques afin d'éviter leur réverbération et une nouvelle stimulation de l'organe de Corti.

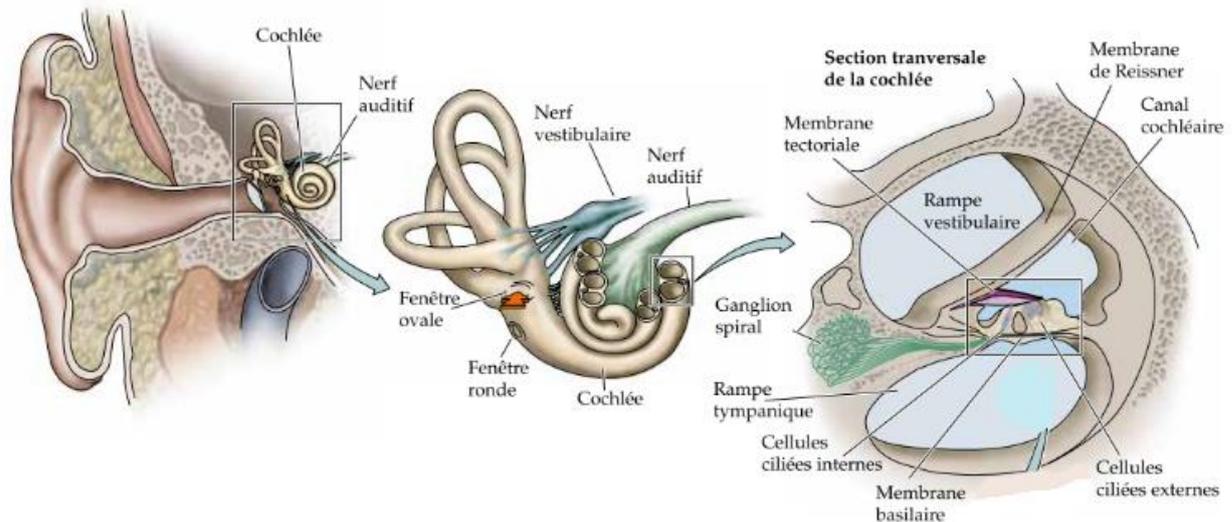


Figure 2 : L'oreille interne et la cochlée chez l'humain.

À gauche, l'oreille interne vue de face. Au centre, agrandissement du vestibule et de la cochlée ; la flèche orange indique l'emplacement de l'étrier. À droite, coupe transversale de la cochlée ; l'organe de Corti est situé dans l'encadré. Reproduit d'après Purves *et al.*, 2015.

B. La cochlée, siège de la transduction des ondes sonores en influx nerveux

1. Tonotopie cochléaire et analyse fréquentielle des sons

Comme évoqué plus haut, la morphologie des structures auditives comme celle de l'oreille externe, qui participe à l'identification de la source sonore dans l'espace, est pleinement impliquée dans l'analyse des sons, c'est-à-dire l'extraction d'informations provenant de l'onde sonore. Il est de même pour la cochlée. Georg Von Békésy (Prix Nobel en 1961), a montré que la transmission de l'onde sonore d'un milieu aérien au milieu liquidien de la cochlée se fait grâce au déplacement de la périlymphe dans la rampe vestibulaire et de l'endolymphe dans le canal cochléaire, déplacement induit par la différence de pression au niveau de la fenêtre ovale. Ce mouvement d'onde fait ensuite ployer la membrane basilaire. Mais von Békésy a surtout montré que les oscillations de la membrane basilaire lors de la propagation de l'onde sonore variaient en amplitude suivant un gradient spatial organisé en fréquences, appelé gradient tonotopique. Cette tonotopie, qui permet donc une représentation

topographique des sons dans la cochlée repose sur la morphologie de la membrane basilaire : épaisse et large à la base de la cochlée, mais fine et étroite à son apex. La membrane basilaire possède donc des propriétés biophysiques qui lui permettent de vibrer à différents endroits en fonction de la fréquence de l'onde sonore (**Figure 3**). Ainsi, la base de la membrane vibre en réponse aux sons de haute fréquence tandis que l'apex vibre en réponse aux sons de basse fréquence. Les sons complexes sont représentés par un profil de vibration qui est équivalent à la superposition des vibrations causées par les fréquences individuelles qui les composent (Békésy 1928; Békésy et Wever 1960).

Comme nous le verrons plus loin dans l'introduction, cette sensibilité fréquentielle de la cochlée est exacerbée par une amplification locale active du mouvement de la membrane basilaire effectuée par les cellules ciliées externes (**Figure 7**), permettant une discrimination plus fine des fréquences sonores (Brownell et al. 1985; Kachar et al. 1986).

La transformation des ondes de vibration de la cochlée en influx nerveux est permise par une structure située dans la membrane basilaire : l'organe de Corti.

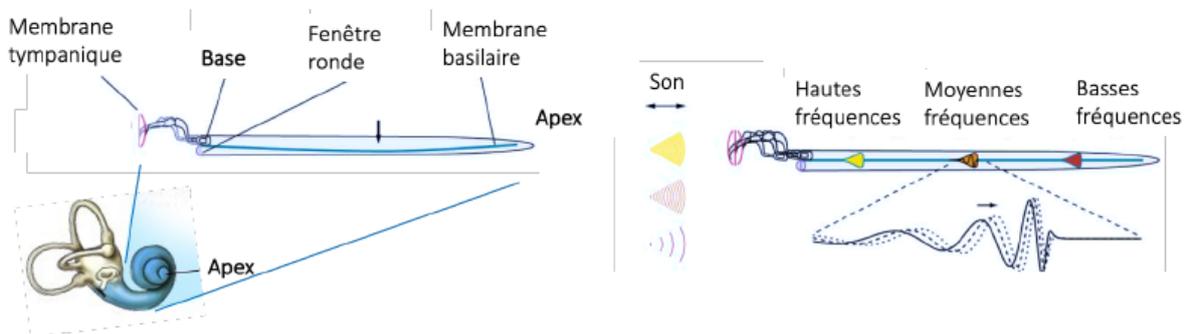


Figure 3 : La membrane basilaire

Discrimination fréquentielle des sons grâce aux propriétés mécaniques de la membrane basilaire. Chaque point de la membrane basilaire correspond à une fréquence. L'amplitude de vibration est conditionnée par la largeur et la rigidité de la membrane basilaire. Adapté de Kandel 2013.

2. L'organe de Corti, organe neurosensoriel auditif

L'organe de Corti permet de coder l'onde sonore en signal électrique transmissible par le système nerveux. Il doit son nom à l'anatomiste Alfonso Corti qui en fit la description détaillée en 1851. L'organe de Corti abrite les cellules sensorielles auditives, dites cellules ciliées, entourées des structures de support leur assurant un soutien structurel et jouant un rôle important dans leur homéostasie ainsi que des fibres nerveuses qui leur sont connectées (**Figure 4**).

a. Fluides cochléaires et gradient potassique

Le fonctionnement de l'organe de Corti repose sur la composition ionique des différents compartiments cochléaires. Les rampes tympanique et vestibulaire contiennent la périlymphe, un liquide extracellulaire classique présentant une faible concentration en ions potassiques K^+ , mais riche en ions sodium Na^+ . En revanche, le canal cochléaire contient l'endolymphe, un liquide extracellulaire physiologique atypique qui présente une forte concentration en ions K^+ et une faible concentration en ions Na^+ . Le maintien de cette forte concentration en ions K^+ est le résultat d'un processus actif effectué par la strie vasculaire, située du côté de la paroi latérale osseuse du canal cochléaire (**Figure 4A-B**). Cette différence de composition entre ces compartiments crée une différence de potentiel de part et d'autre de la membrane basilaire, entretenue par la sécrétion active de K^+ au niveau de la strie vasculaire et par la diffusion passive de K^+ au niveau des cellules sensorielles. Elle est indispensable à la transduction mécano-électrique. Chez l'humain par exemple, le potentiel endocochléaire est d'environ +80 mV, et le potentiel membranaire au repos des cellules ciliées varie entre -70 mV et -55 mV. Lors de l'ouverture des canaux cationiques à l'arrivée d'une onde sonore, la différence de potentiel entraîne l'entrée massive d'ions K^+ dans les cellules ciliées du fait de leur surcharge dans l'endolymphe, et donc leur dépolarisation. Une concentration en K^+ plus faible limiterait cette dépolarisation et l'activité des cellules ciliées. L'activité des cellules sensorielles dépend donc de la concentration en potassium de l'endolymphe (Sewell 1984; Rickheit et al. 2008).

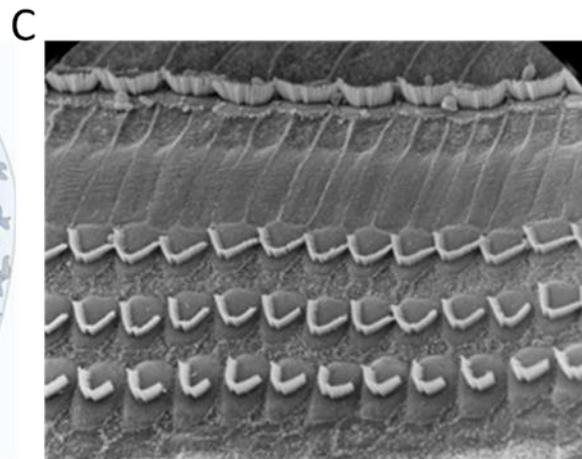
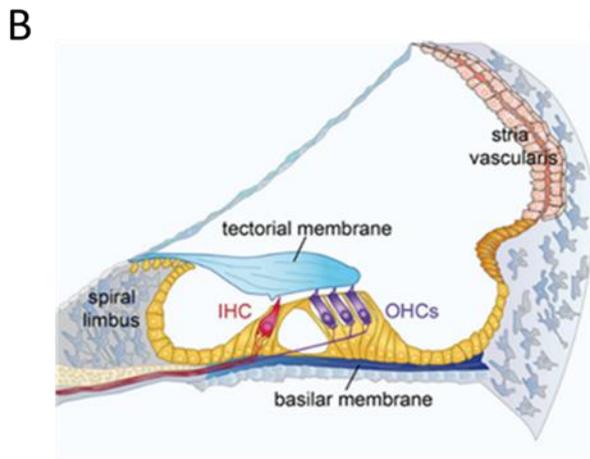
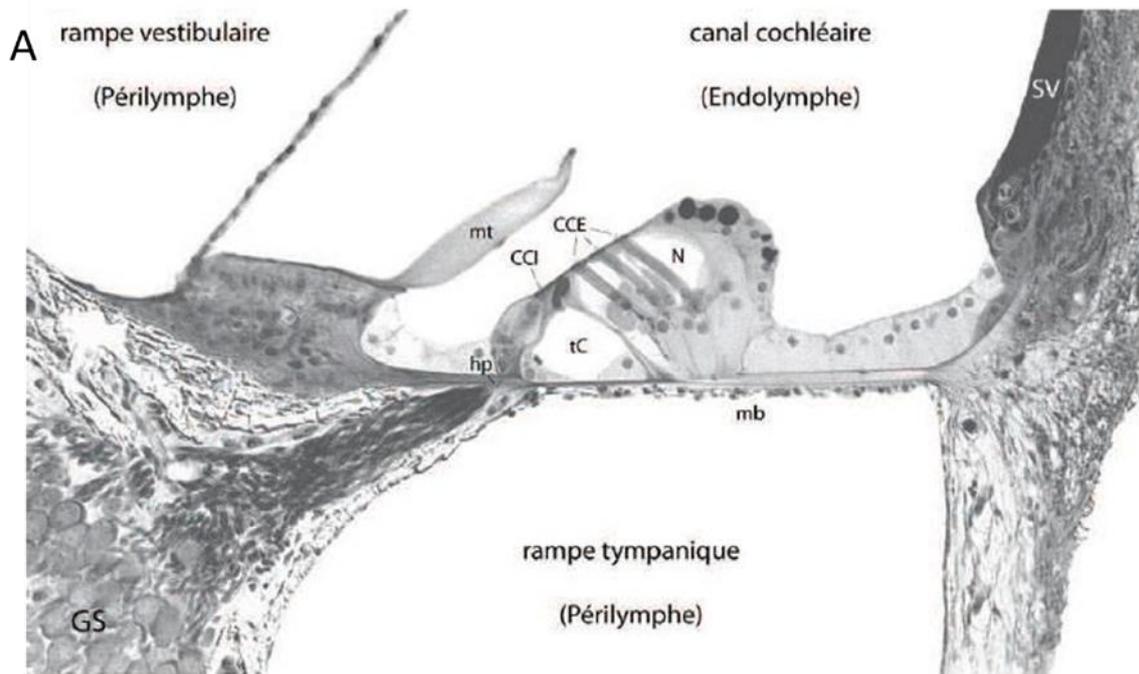


Figure 4 : L'organe de Corti

(A) Coupe transversale d'une cochlée de cobaye visualisée au microscope électronique à transmission. On y voit l'organe de Corti reposant sur la membrane basilaire (mb), qui délimite le canal cochléaire avec la strie vasculaire (SV) et la membrane de Reissner (mR). L'organe de Corti abrite les cellules sensorielles : les cellules ciliées internes (CCI) sur une rangée, et les cellules ciliées externes, réparties sur 3 rangées. La membrane tectoriale flotte dans l'endolymphe. L'innervation de l'organe de Corti passe par l'habenula perforata (hp) au travers de la membrane basilaire. Les corps cellulaires des neurones auditifs primaires sont situés dans le ganglion spiral (GS). tC : tunnel de Corti ; N : espace de Nuel. Reproduit d'après Batrel 2014.

(B) Représentation schématique de l'organe de Corti. La membrane tectoriale est normalement fixée aux touffes ciliaires des CCE. Reproduit d'après Michalski et Petit, 2015.

(C) Vue de dessus des trois rangées de cellules ciliées externes et de la rangée de cellules ciliées internes au milieu de la cochlée après retrait de la membrane tectoriale chez le chinchilla. Reproduit d'après Negandhi et Harrison 2014.

b. Les cellules ciliées sensorielles auditives

Les cellules ciliées sont des cellules épithéliales en forme de bouteille qui possèdent une touffe de microvillosités à leur extrémité apicale. Il existe deux types de cellules ciliées auditives : les cellules ciliées internes (CCI), réparties sur une seule rangée depuis la base de la cochlée jusqu'à l'apex et les cellules ciliées externes (CCE), regroupées dans trois rangées (**Figure 4C**). Chez l'humain, on retrouve environ 16 000 cellules ciliées. Les CCIs, au nombre de 4000, sont les véritables récepteurs sensoriels auditifs car elles forment des contacts synaptiques avec les neurones primaires afférents du nerf auditif. Les CCEs, quant à elles, sont environ au nombre de 12 000. Grâce à différentes propriétés physiologiques comme l'électromotilité (variation de la taille des cellules en réponse aux dépolarisation et hyperpolarisation, Brownell *et al.*, 1985), elles servent à amplifier le signal sonore reçu, augmentant ainsi considérablement la sensibilité de la cochlée et sa capacité de discrimination fréquentielle (**Figure 7A**).

Les cellules ciliées sont situées entre deux membranes : la membrane basilaire sur laquelle reposent les cellules ciliées et la membrane tectoriale, un gel acellulaire (**Figure 4 et Figure 4**). La membrane tectoriale coiffe une structure particulière située à l'apex des cellules sensorielles : une touffe de microvillosités appelée touffe ciliaire (**Figure 5**). Chaque touffe contient de 30 à quelques centaines de microvillosités appelées stéréocils, formées par un cytosquelette d'actine leur assurant une forte rigidité. Ces stéréocils sont disposés de manière ordonnée par taille croissante en forme de U (pour les cellules internes) ou en forme de V (pour les cellules externes) (**Figure 4C**). Seuls les stéréocils de la rangée la plus haute des CCEs sont ancrés dans la membrane tectoriale. Cette organisation spatiale est maintenue grâce à la présence de liens interstéréociliaires latéraux appelés « top-connecteurs » et un lien extracellulaire à l'apex nommé « *tip-link* ». Ce lien oblique connecte le sommet de chaque stéréocil d'une rangée inférieure au stéréocil adjacent de la rangée supérieure (Pickles *et al.*, 1984; Goodyear *et al.* 2005). Au cours du développement embryonnaire chez les Mammifères, d'autres liens intercalaires existent et on trouve au sommet des rangées de stéréocils une structure tubulaire, le kinocilium, qui disparaît peu après la naissance (Purves *et al.* 2001).

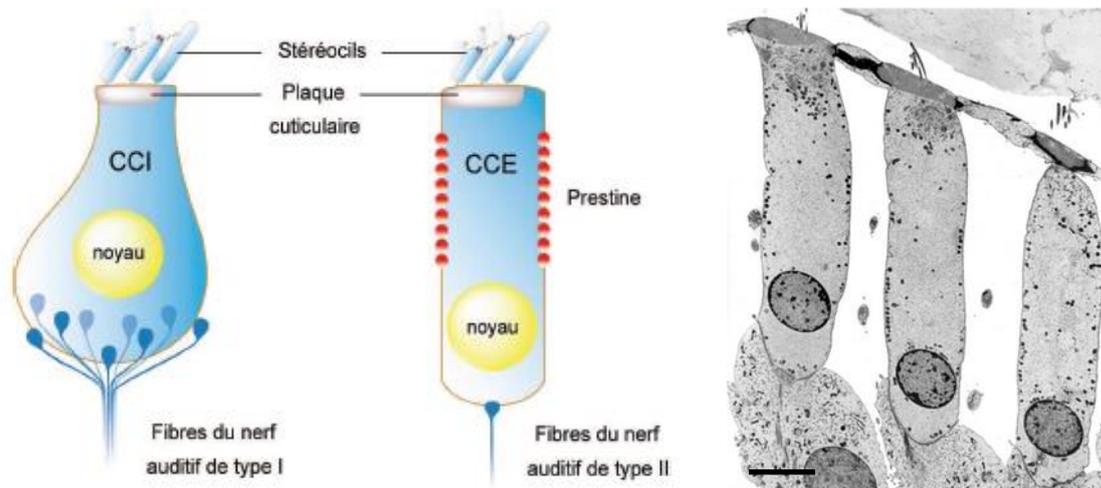


Figure 5 : Anatomie des cellules ciliées

À gauche, schémas successifs d'une cellule ciliée interne (CCI) et d'une cellule ciliée externe (CCE) ; la prestine (en rouge) est la protéine responsable des propriétés d'électromotilité des cellules ciliées externes (reproduit d'après Batrel 2014). À droite, coupe transversale d'une rangée de cellules ciliées externes vue au microscope électronique à transmission (reproduit d'après Pujol et Lenoir 2017).

La touffe ciliaire est le siège de la transduction mécano-électrique (MET) : au point d'ancrage des *tip-links* se trouvent des canaux mécano-sensibles (Hudspeth 1982; 1989; Kros et al., 1992; Kennedy et al., 2003; Kennedy et al., 2005), transformant l'onde sonore mécanique en signal électrique. La propagation de l'onde sonore depuis l'oreille moyenne fait vibrer la membrane basilaire et initie une déflexion immédiate de la touffe ciliaire grâce à son ancrage via les CCEs dans la membrane tectoriale. Lors de cette déflexion, les stéréocils vont fléchir, entraînant une augmentation de la tension des *tip-links* et permettant l'ouverture des canaux ioniques mécano-sensibles. L'entrée de cations dans la cellule ciliée va dépolariser la cellule et initier la transduction du signal mécanique en signal électrique. Suite aux mouvements de la membrane basilaire, le mouvement relatif entre la plaque cuticulaire (formée par les pôles apicaux des cellules ciliées) et la membrane tectoriale initie un mouvement liquidien oscillant qui stimule les stéréocils des CCI malgré leur supposée absence d'ancrage dans la membrane tectoriale (Nowotny et Gummer 2006; Guinan 2012). Cependant, les récents travaux d'Hakizimana et Fridberger (2021) suggèrent que les stéréocils des CCI sont aussi ancrés dans la membrane tectoriale de la même manière que les CCEs.

3. Principe général de la transduction mécano-électrique

a. La transduction mécano-électrique des cellules ciliées internes

La transduction mécano-électrique (MET, *mechanoelectrical transduction*) se définit comme la transformation de la vibration sonore en un message nerveux interprétable par le cerveau. L'arrivée d'une onde sonore dans la cochlée provoque la vibration de la membrane basilaire, entraînant la déflexion mécanique des touffes ciliaires des CCI (Figure 6). Si cette déflexion se fait parallèlement au plan de symétrie bilatérale, elle provoque l'étirement des *tip-links* et l'ouverture des canaux cationiques non sélectifs mécano-sensibles auxquels ils sont associés (Pan et al. 2018). Cela permet l'entrée d'ions potassiques K^+ présents en grande quantité dans l'endolymphe dans les CCI, déclenchant leur dépolarisation (Hudspeth et Corey 1977; Assad, Shepherd, et Corey 1991). En réponse à cette dépolarisation, des canaux calciques voltage-dépendants situés à la base des CCI s'ouvrent, entraînant l'exocytose de vésicules stockant des neurotransmetteurs, ce qui permet de transmettre le signal électrique ainsi formé aux fibres du nerf auditif formant des contacts synaptiques à la base des cellules ciliées. En revanche, si la touffe ciliaire est défléchie dans le sens opposé, il y a une compression des liens apicaux et les quelques canaux de transduction mécano-électrique ouverts au repos se referment, ce qui aboutit à une hyperpolarisation des cellules ciliées. Ce système est le plus rapide et le plus sensible des systèmes sensoriels : la conversion de la déflexion en variation de potentiel électrique prend seulement quelques microsecondes (Fettiplace et Kim 2014). Cette fiabilité temporelle est indispensable pour toutes les tâches sonores impliquant une comparaison des entrées sonores entre les deux oreilles, notamment pour la localisation des sources sonores et la transduction précise des signaux à hautes fréquences (Purves et al. 2015).

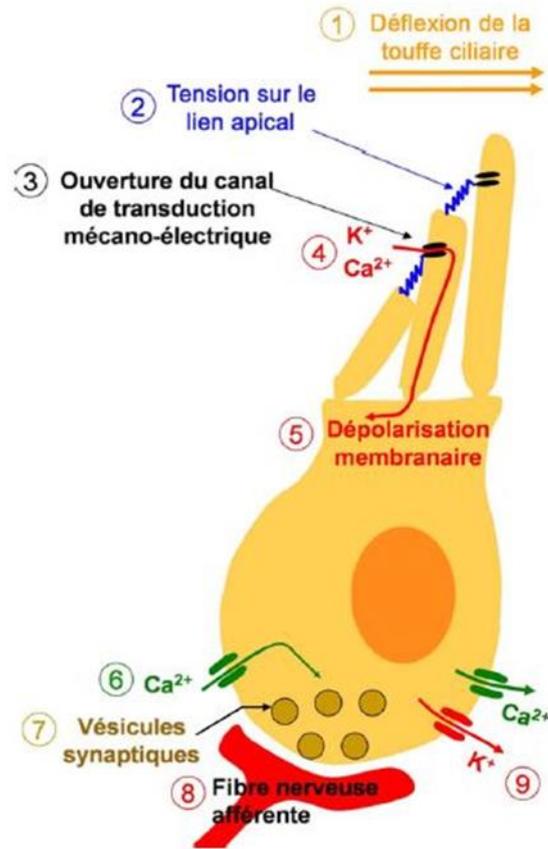


Figure 6 : Transduction mécano-électrique, dépolarisation et exocytose des CCI

La déflexion de la touffe ciliaire (1) provoque la mise sous tension des liens apicaux *tip-links* (2) ce qui provoque l'ouverture de canaux cationiques (3) et l'entrée massive d'ions K^+ et d'ions Ca^{2+} et la dépolarisation de la membrane (5). A la base de la cellule, la dépolarisation entraîne l'ouverture de canaux calciques sensibles au voltage (6) : l'afflux d'ions Ca^{2+} provoque l'exocytose des vésicules de glutamate au niveau de la synapse à ruban (7), et la formation d'un potentiel post-synaptique dans la fibre afférente (8). La sortie d'ions K^+ et Ca^{2+} repolarise la membrane basale (9). Adaptée de Michalski 2008.

b. Les cellules ciliées externes et l'amplification cochléaire

Comme évoqué précédemment, les CCEs participent autrement que les CCI à l'audition : elles n'agissent pas directement comme récepteur sensoriel mais comme amplificateur grâce à une propriété mécano-électrique, l'électromotilité (Brownell et al. 1985). L'électromotilité est un mécanisme permettant à la membrane plasmique des CCEs de se contracter ou de s'allonger en fonction de leur potentiel intracellulaire, amplifiant ainsi le mouvement de la membrane basilaire à la suite de l'arrivée d'une onde sonore. Ce mécanisme repose d'une part sur l'ancrage des CCEs à la membrane tectoriale par la touffe ciliaire (Legan et al. 2000) et d'autre part sur une protéine membranaire, la prestine. La prestine se polarise sous contrainte mécanique (ou se déforme sous contrainte électrique) et change de conformation lorsque la membrane basilaire oscille, étirant ou rétrécissant la cellule (Zheng et al. 2000; Liberman et al. 2002). Ces mouvements d'extension et de contraction permettent de soulever davantage la membrane que la simple propagation de l'onde sonore. Ce mécanisme actif appelé amplification cochléaire a pour conséquence l'amplification locale de l'onde initiale sur la membrane basilaire, permet d'augmenter la sélectivité en fréquence des cellules ciliées et joue donc un rôle de filtre sélectif en fréquences (**Figure 7** ; Chan et Hudspeth 2005).

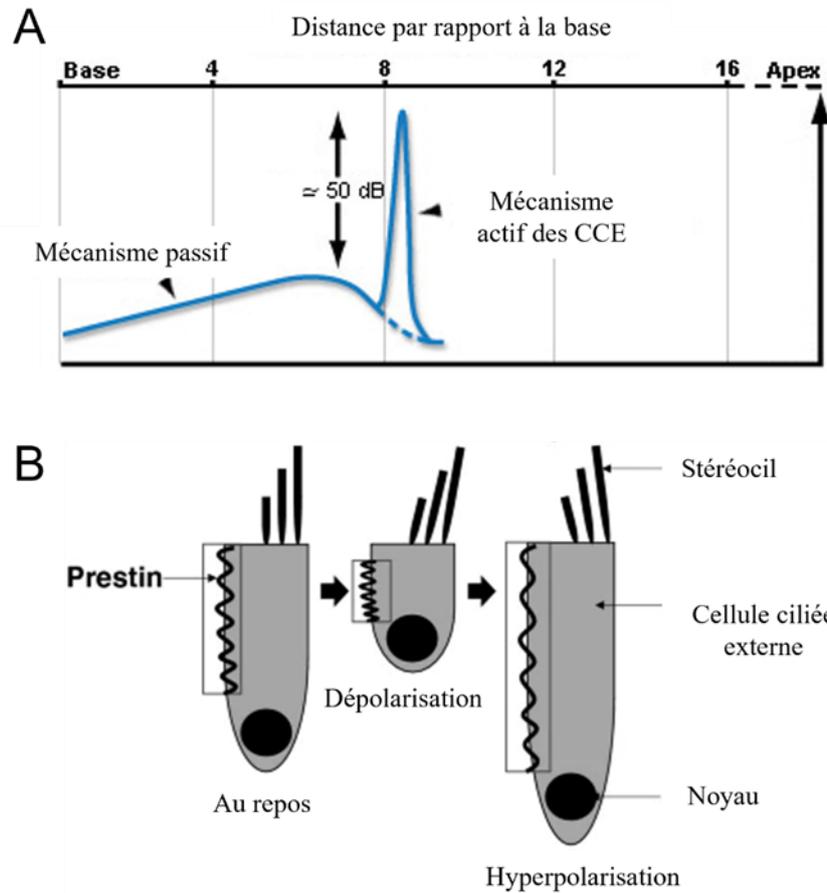


Figure 7 : L'électromotilité et la sélectivité fréquentielle des CCEs

(A) Illustration du mécanisme d'amplification de la vibration de la membrane basilaire par les cellules ciliées externes (CCEs). Cette amplification très localisée permet d'activer des zones distinctes même pour des fréquences très proches (illustration issue du site cochlea.eu). (B) Cette amplification est permise par les propriétés d'électromotilité des CCEs : la prestine change de conformation en fonction du potentiel membranaire, faisant varier la taille de la CCE. Adaptée de Parker et al. 2022.

4. Les composants moléculaires du complexe de mécano-transduction

La transduction mécano-électrique repose sur la cohésion des stéréocils de la touffe ciliaire. Cette cohésion est assurée par différents liens protéiques entre les stéréocils qui changent de nature au cours du développement et sont impliqués dans les variations de configuration de la touffe ciliaire selon le type de cellule ciliée. Ces liens interstéréociliaires sont indispensables à la morphogénèse de la touffe ciliaire autour d'un cil primaire (le kinocil) et au mécanisme de la transduction mécano-électrique. Au moins six types de liens différents ont été décrits dans la cochlée. Certains sont présents à différents stades de développement. Chez les Mammifères, on trouve les liens kinociliaires (*kinociliar links*), les liens latéraux (*lateral links*), les liens connecteurs (*shaft connectors*), les liens basaux (*ankles links*), qui sont

présents uniquement au cours du développement. Les types de liens présents chez l'adulte sont les liens de bout de cil (*tip-links*), composant du complexe de MET, et les connecteurs supérieurs horizontaux (*top connectors*) (Goodyear et al. 2005; Michalski et Petit 2015). Les protéines participant à la cohésion de la touffe ciliaire s'organisent toujours selon le même schéma : des protéines transmembranaires formant les liens, des protéines sous-membranaires organisatrices grâce à leur domaine PDZ, des moteurs moléculaires, et dans certains cas des protéines extracellulaires participant à l'ancrage de la touffe ciliaire dans la membrane tectoriale. Enfin, les CCEs sont reliés à la membrane tectoriale via la présence de liens protéiques spécifiques à l'apex de la dernière rangée de stéréocils.

a. La mécano-transduction repose sur la mise en tension des *tip-links*

Les *tip-links* relient l'apex d'un stéréocil à l'apex du stéréocil suivant, parallèles au plan de symétrie bilatérale (**Figure 8**). Ils sont formés par l'association de deux protéines d'adhésion apparentées à la famille des cadhérines : la protocadhérine 15 (*pcdh15*) (Zubair M. Ahmed et al. 2006) et la cadhérine 23 (*cdhr23*) (Jan Siemens et al. 2004). Ces deux protéines sont connues pour interagir en trans différemment des cadhérines classiques : l'interaction est dite « en serrage de main ». *Cdhr23* constitue la partie apicale du *tip-link* et *pcdh15* la partie basale (Kazmierczak et al. 2007; Pepermans et Petit 2015). Les *tip-links* sont des structures sous tension. Les mouvements de la membrane basilaire provoqués par l'arrivée d'une onde sonore entraînent l'oscillation de la touffe ciliaire, ce qui fait varier cette tension et ouvre les canaux ioniques de transduction mécano-électrique auxquels les *tip-links* sont liés.

Pcdh15 est directement associée aux protéines qui constituent les canaux ioniques mécanosensibles à l'origine des courants de MET (Maeda et al. 2014). Situés à l'apex des stéréocils, la nature moléculaire de ces canaux et de leur sous-unité a été découverte récemment : TMC 1 et TMC 2 (en anglais, *Transmembrane channel-like protein 1 et 2*) constitueraient principalement les pores du complexe de MET (Denk et al. 1995; Pan et al. 2013; 2018; Fettiplace 2016; Jia et al. 2020), la protéine LHFPL5 (*lipoma HMGIC fusion partner-like 5*) (Xiong et al. 2012) et la protéine TMIE (*transmembrane inner ear*) (Zhao et al. 2014; Qiu et Müller 2018) seraient des protéines transmembranaires interagissant avec le pore et nécessaires à son fonctionnement. A l'extrémité supérieure, la cadhérine-23 (*cdhr23*) possède un domaine cytoplasmique qui interagit de manière indirecte avec le cytosquelette d'actine du stéréocil et avec des phospholipides membranaires (J. Siemens et al. 2002; Bahloul et al. 2010) par l'intermédiaire d'un complexe protéique formant l'échafaudage sous-membranaire et comportant l'harmonine (USH1C), sans (USH1G) et la myosine-VIIa (MyoVIIa ou USH1B)

(Reiners et al. 2005; Senften et al. 2006). Leur interaction au cours du développement est essentielle au fonctionnement du complexe de MET mature (Michalski et al. 2009; Caberlotto et al. 2011; Bahloul et al. 2017; Li et al. 2020). D'autres protéines participent à la régulation de la tension exercée par les *tip-links*, l'adaptation des canaux de MET ou la mise en place de ces complexes protéiques : à l'extrémité supérieure du lien, la myosin-1c (MYO1C) (Holt et al. 2002); à l'extrémité inférieure, la whirlin (WHRN) et la myosin-XVa (MYO15A) (Belyantseva et al., 2003; Delprat et al. 2005) (**Figure 8**). Des mutations dans les gènes codant ces protéines associées entraînent une désorganisation de la touffe ciliaire et une déficience auditive congénitale : chaque type de liaison contribue donc de manière critique à la construction ou au maintien de la touffe ciliaire (Michalski et Petit 2015b).

En particulier, chez l'humain, les deux gènes *CDHR23* et *PCDH15* sont associés au syndrome d'Usher de type I (USH1), caractérisé par une surdité profonde et des troubles vestibulaires à la naissance ainsi que des troubles visuels qui se manifestent par une rétinopathie pigmentaire avant la puberté (Ahmed et al. 2001; Alagramam et al. 2001; Bork et al. 2001). Ces trois défauts sont dus à l'absence des liens fibreux formés par *cdhr23* et *cdhr15* dans les cellules sensorielles auditives, vestibulaires, et dans des processus comparables à des microvillosités dans les photorécepteurs, appelés processus calycéaux (Sahly et al. 2012). Ainsi les *tip-links* sont indispensables à la transduction mécano-électrique et leur absence provoque un défaut de développement des stéréocils et une surdité congénitale profonde.

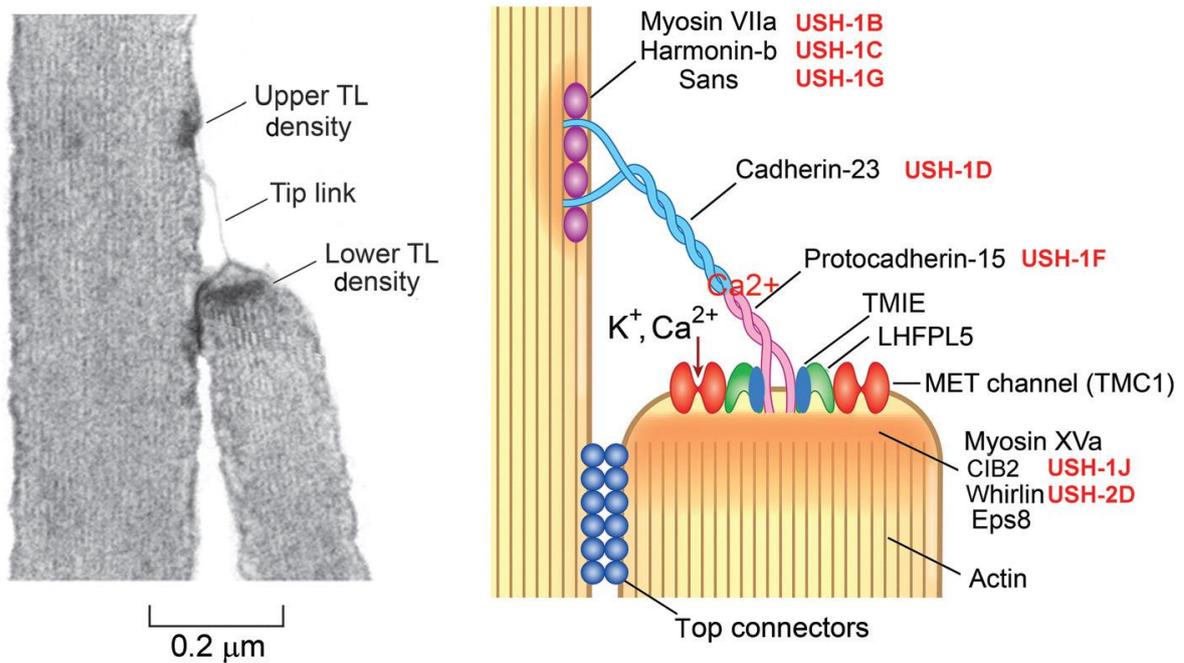


Figure 8 : Les composants moléculaire du complexe de transduction mécano-électrique
 A gauche, deux stéréocils d'une cellule ciliée externe reliés par un *tip-link*. Les sites d'insertion du *tip-link* (TL) sont fortement denses aux électrons, ce qui suggère une forte densité de protéines. Microscope électronique à transmission. A droite, représentation schématique du complexe protéine impliquée dans la MET. Reproduit d'après Fettiplace 2017.

b. L'amplification cochléaire des cellules ciliées externes repose sur des liens spécifiques

Le deuxième type de liens protéiques entre les stéréocils de la cochlée mature est retrouvé principalement dans les CCEs. Situés dans la partie supérieure de la touffe ciliaire, ces *top connectors* relient aussi bien les stéréocils d'une même rangée que les stéréocils de la rangée supérieure. Bien que des liens similaires existent dans les CCI, les *top connectors* des CCEs sont particulièrement denses et possèdent une forme caractéristique au microscope électronique, en forme de fermeture éclair (**Figure 9**). De plus, les CCEs sont ancrées dans la membrane tectoriale par des liens protéiques situés à l'apex des stéréocils les plus hauts de la rangée. Ces deux types de liens sont formés des mêmes protéines : stéréociline (*strc*) (Goodyear et al. 2005), otogelin (*otog*) et otogelin-like (*otogl*) (Avan et al. 2019). Otog et otogl constituent aussi une partie des composants de la membrane tectoriale (Cohen-Salmon et al. 1997; El-Amraoui et al. 2001). Des mutations dans les gènes codant ces protéines entraînent des conséquences similaires : une désorganisation de la touffe ciliaire des CCEs, les stéréocils n'étant plus connectés entre eux ou à la membrane tectoriale. Chez les patients touchés par ces mutations, malgré la présence de courants de MET, les CCEs ne remplissent par leur fonction

d'amplificateur cochléaire et de filtre sélectif en fréquences. Ces patients sont atteints de surdité congénitale légère à modérée (Verpy et al. 2008; 2011; Yariz et al. 2012; Bonnet et al. 2013; Avan et al. 2019).

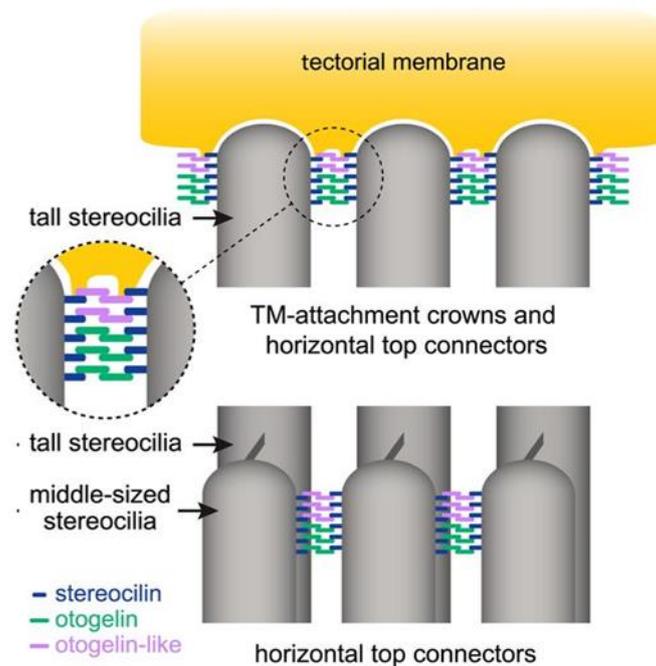


Figure 9 : Stérocline, Otogeline et Otogeline-like, composant essentiels des top-connectors horizontaux et des liens à la membrane tectoriale

Les *top connectors* sont formés d'homodimère d'otogeline et d'otogeline-like, et sont ancrés dans la membrane par la stérocline. Modèle proposé par Avan et al. 2019.

c. Bases moléculaires du développement de la touffe ciliaire

Au cours du développement de la touffe ciliaire, d'autres types de liens entre stéréocils se forment et sont nécessaires à la mise en place et la maturation des CCI et CCE, ainsi que le fonctionnement du complexe de MET.

Tout d'abord, le développement de la touffe se fait autour d'un cil primaire, le kinocilium, primordial pour la position et la morphogénèse des stéréocils. Il est lié à la dernière rangée de stéréocils par des structures protéiques appelées liens kinociliaires. Deux protéines déjà rencontrées sont des composants majeurs de ces liens : *cdhr23* et *pcdh15* (Michel et al. 2005; Lagziel et al. 2005; Ahmed et al. 2006). Bien qu'ils soient des composants essentiels de la touffe ciliaire, les liens kinociliaires ne sont pas nécessaires à une transduction mécanoélectrique normale (Hudspeth et Jacobs 1979).

Cdhr23 et *pcdh15* sont aussi des composants majeurs des liens latéraux transitoires, un vaste réseau de filaments apparaissant au cours du développement embryonnaire entre les

microvillosités des cellules ciliées en développement, dont la maturation donnera les futurs stéréocils (Michel et al. 2005; Goodyear et al. 2010). Les protéines myoVIIa, sans et harmonin, qui interagissent avec cdhr23 dans les *tip-links*, y participent aussi. Chez la souris, des mutations dans les gènes codants ces protéines désorganisent la touffe ciliaire un à deux jours après le début attendu de leur expression (Lefèvre et al. 2008).

Des liens basaux, les *ankle-links* (littéralement les liens de cheville en anglais), sont retrouvés chez la souris à la base des stéréocils, entre P2 (deuxième jour post-natal) et P12 (ce qui marque le début de l'audition chez la souris) (Goodyear et al. 2005). Ils sont formés par un complexe moléculaire appelé *ankle-link molecular complex* (ALC). L'ALC est composé de protéines transmembranaires. Parmi elles, *adgrv1*, un récepteur couplé aux protéines G à long domaine extracellulaire et l'*usherine* interagissent directement ensemble. La localisation d'*adgrv1* et de l'*usherine* sont contrôlées par le gène codant pour le moteur moléculaire *myoVIIA* (Michalski et al. 2007). Au moins deux autres protéines sous-membranaires complètent l'ALC : la *whirline*, essentielle pour déterminer la position précise des *ankle-links* sur le stéréocil, et la protéine *PDZD7*, une protéine de structure fortement exprimée dans les CCI (Schneider et al. 2009). Des mutations dans les gènes codant pour les composants de ce complexe protéique ont pour conséquence le syndrome d'Usher de type 2 provoquant une surdité congénitale modérée à sévère et une cécité progressive par rétinopathie pigmentaire (McGee et al. 2006; Yagi et al. 2007; Ebermann et al. 2007; 2010).

Enfin, les *shaft connectors* sont des liens augmentant la rigidité de la touffe ciliaire et la cohésion des stéréocils lors d'oscillations, favorisant un fonctionnement optimal des canaux de MET (Kozlov et al., 2007). *PTPRQ*, de la famille des récepteurs tyrosine phosphatases, a été identifié comme un composant majeur de ces liens (Goodyear et Richardson 1992) qui sont indispensables à la maturation du MET mais pas à son fonctionnement dans les cellules matures (Goodyear et al. 2003).

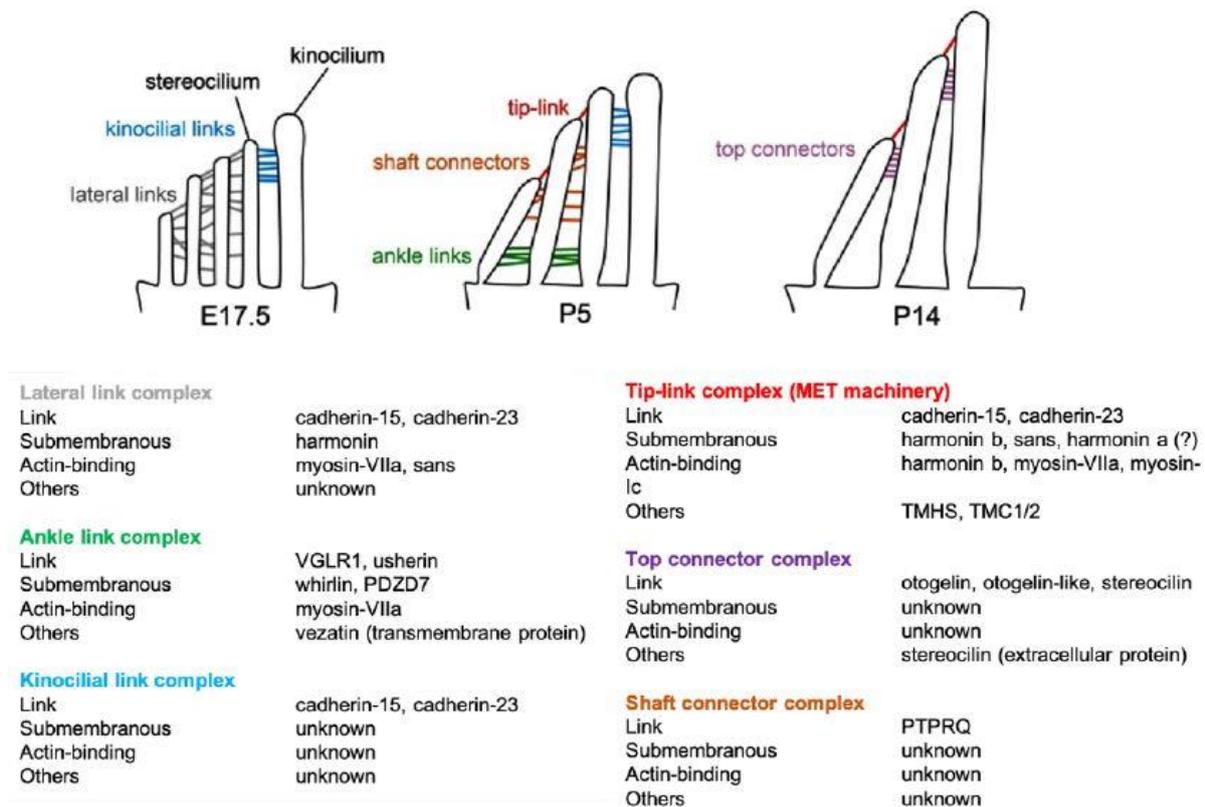


Figure 10 : Les protéines participant à la cohésion de la touffe ciliaire.

Adaptée de Michalski et Petit 2015.

C. Le nerf auditif relie le système périphérique au système auditif central

Le nerf auditif est la dernière structure anatomique du système auditif périphérique. Ses fibres afférentes véhiculent l'information auditive depuis les cellules ciliées jusqu'aux premiers relais du système nerveux central. Ces fibres sont constituées de neurones dont les corps cellulaires forment le ganglion spiral, ce nom venant de la spirale qu'il forme de la base à l'apex de la cochlée. Les fibres afférentes sont divisées en deux types selon la morphologie des neurones les constituant, c'est-à-dire la position du soma par rapport à l'axone et aux dendrites. Les neurones de type I sont bipolaires tandis que les neurones de type II sont dits pseudo-unipolaires. Leurs prolongements centraux se terminent au niveau du noyau cochléaire ipsilatéral où ils s'y séparent en deux composantes antérieure et postérieure (**Figure 11**, Dabdoub et al. 2016).

Il existe également des fibres efférentes, véhiculant l'information depuis le tronc cérébral jusqu'à l'organe de Corti, constituant une boucle de rétrocontrôle des fonctions auditives périphériques.

Le nerf auditif joue un rôle crucial : il reçoit les informations des cellules sensorielles et les transmet au système nerveux central avec une grande précision. Il est indispensable à la représentation spatiale des sons dans le tronc cérébral grâce à ses propriétés électrophysiologiques lui permettant de transmettre fidèlement les informations de discriminations fréquentielle, temporelle ou en intensité qui seront primordiales pour les traitements ultérieurs des voies auditives centrales (Davis et Crozier 2016).

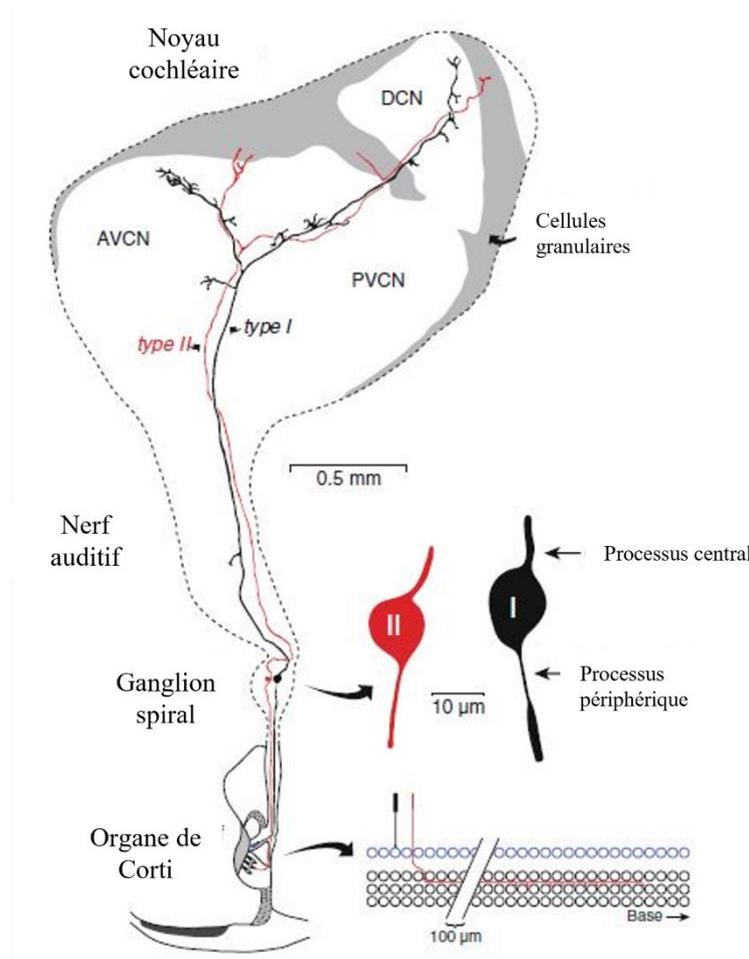


Figure 11 : Schéma des neurones ganglionnaires, de la cochlée jusqu'à leur terminaison dans le noyau cochléaire.

Adaptée de Dabdoub et al. 2016.

1. Innervation des cellules ciliées sensorielles

L'innervation afférente des cellules ciliées sensorielles est différente entre les CCI et les CCEs (**Figure 12**). Les neurones bipolaires de type I, qui représentent 90 à 95 % des fibres afférentes (Spoendlin 1972; 1973), innervent les CCI. Une fibre de type I ne forme généralement qu'une seule synapse avec une CCI, chaque CCI étant innervée par une quinzaine de fibres nerveuses, mais environ 12% de ces fibres connectent jusqu'à deux CCI (Hua et al. 2021). Les fibres de type I sont de gros diamètre et myélinisées. Ce sont ces fibres qui véhiculent directement les informations auditives. Les fibres de type II innervent les CCEs, possèdent des petits corps cellulaires et ne sont pas myélinisées. Chaque fibre de type 2 peut innerver plusieurs CCEs appartenant à la même rangée (Spoendlin 1973; Kiang et al. 1982; Weisz et al. 2012). Contrairement aux fibres de types I, les afférences de types II ne transmettent pas d'information auditive mais rendent compte aux relais du système nerveux central de l'état de contraction des cellules ciliées et informent de potentielles lésions cochléaires lors d'expositions à des sons de fortes intensité (Flores et al., 2015; Liu et al., 2015). Il semble cependant qu'elles soient aussi capables de véhiculer les informations auditives pour des sons d'intensité modéré non traumatiques (Weisz et al. 2021).

A la base des cellules ciliées, la première synapse du système auditif, est une synapse particulière dans le système nerveux, appelée synapse à ruban. Ce type de synapse est spécifique de certains systèmes sensoriels (vision, équilibre, audition) et de l'épiphyse (ou glande pinéale), qui doivent transmettre des informations rapidement, sur de longues périodes et s'adapter très finement à des grandes variations d'intensité (Matthews et Fuchs 2010). Ces propriétés nécessitent une machinerie cellulaire et moléculaire capable d'assurer la libération de plusieurs centaines de potentiels d'action par seconde dans le système auditif. Cette synapse est caractérisée par un corps pré-synaptique, le ruban (*ribbon*, en anglais) autour duquel s'agglutinent de nombreuses vésicules pré-synaptiques remplies de glutamate. Ce ruban concentre les vésicules au voisinage des canaux calciques présynaptiques, permettant une libération du glutamate rapide et synchronisée (Safieddine et al., 2012), ainsi qu'un réapprovisionnement continu en vésicules, ce que ne permet pas une synapse conventionnelle à l'exception de celles formées par les fibres moussues sur les cellules granuleuses dans cervelet (Saviane et Silver 2006).

Quant aux fibres efférentes, elles sont principalement inhibitrices et issues de neurones dont le corps cellulaire se trouve dans le complexe olivaire supérieur du tronc cérébral. Comme pour les fibres afférentes, l'innervation efférente des cellules ciliées est différente pour les CCI

et les CCEs. Les fibres efférentes issues de petits neurones de l'olive supérieure homolatérales sont non myélinisées et effectuent un rétrocontrôle au niveau des dendrites radiales des afférences auditives de type I postsynaptiques aux CCI, l'ensemble formant le système efférent latéral (Elgoyhen et Fuchs 2010). Ce rétrocontrôle négatif permet de protéger la synapse d'évènements excitotoxiques comme des traumatismes. Les CCEs sont quant à elles innervées directement par le système efférent médian, constitué de fibres myélinisées issues du complexe olivaire supérieur médian (Elgoyhen et Fuchs 2010). Le système efférent médian permettrait d'optimiser la détection d'informations pertinentes dans un environnement bruyant, ou encore de protéger la cochlée des traumatismes liés à l'exposition à des sons forts (Guinan 2011).

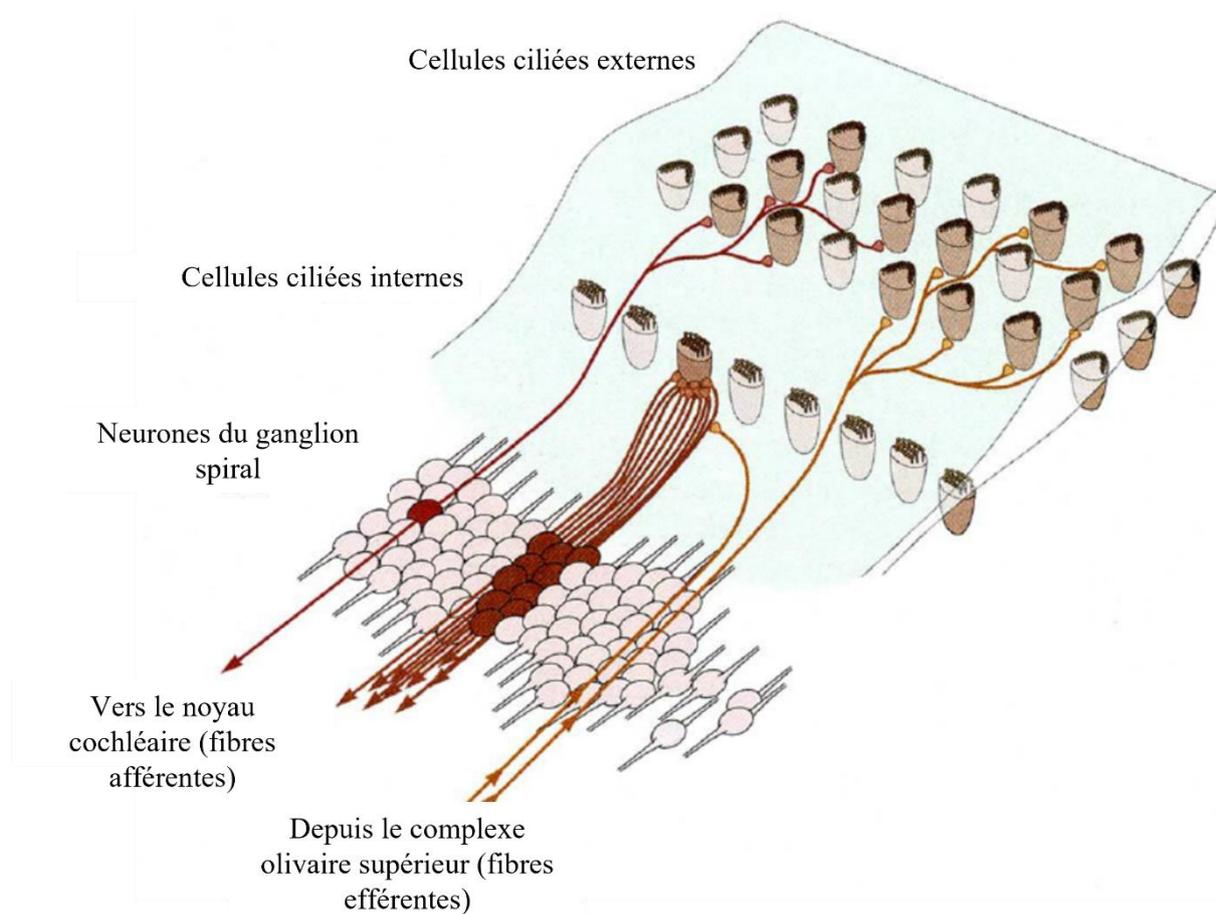


Figure 12 : L'innervation des cellules ciliées auditives
Adapté de Graven et Browne 2008.

2. Propriétés fonctionnelles des fibres du nerf auditif

Les propriétés physiologiques détaillées par la suite sont spécifiques des fibres de type I. Les propriétés des fibres de type II sont méconnues car les données expérimentales *in vivo* sont éparées (Heil et Peterson 2015).

a. Activité spontanée et caractérisation fonctionnelle

Comme la plupart des neurones, les neurones du ganglion spiral présentent une activité spontanée. Les neurones de type I peuvent être séparés en trois sous-types selon la fréquence de décharge de cette activité spontanée (Liberman 1978) :

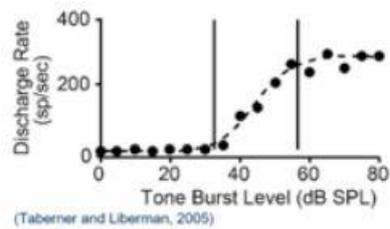
- Des neurones à basse activité spontanée (*low spontaneous rate*, moins de 0.5 spikes/s), qui représentent 15 % des neurones ganglionnaires ;
- Des neurones à haute activité spontanée (*high spontaneous rate*, plus de 18 spikes/s), qui sont les plus nombreux puisqu'ils constituent 60% des neurones ganglionnaires ;
- Des neurones au taux de décharge spontanée intermédiaire (*medium spontaneous rate*), constituant 25 % des neurones ganglionnaires.

Cette caractérisation des fibres de type I en fonction de leur activité spontanée est renforcée par une caractérisation anatomique basée sur la position du bouton synaptique avec les CCI (Figure 12) : les fibres à haute activité spontanée innervent préférentiellement le côté abneural (côté pilier) des CCI (*i.e.* la région faisant face aux CCEs) alors que les neurones à basse activité spontanée innervent préférentiellement le côté neural (côté modiolaire) de la CCI, face aux fibres afférentes (Liberman 1982a). Enfin, de récents travaux de transcriptomique ont permis de définir trois types moléculaires de neurones qui correspondraient assez largement aux trois sous-types de neurones de type I définis fonctionnellement (Shrestha et al. 2018; S. Sun et al. 2018; Sherrill et al. 2019).

Côté modiolaire (neural)

Post-synaptique :

Fibre à haut seuil / activité spontanée basse



Côté pilier (abneural)

Post-synaptique :

Fibre à bas seuil / activité spontanée haute

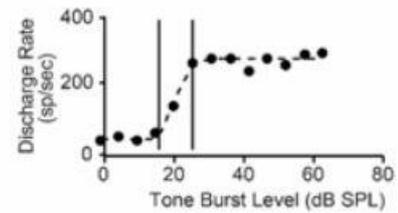


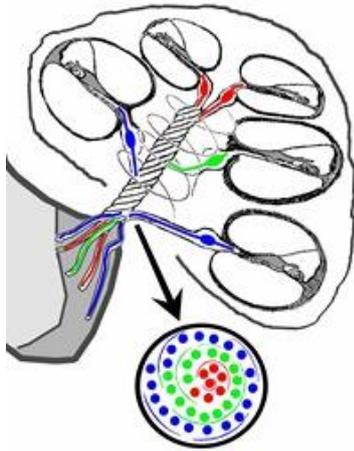
Figure 13 : Innervation d'une cellule ciliée interne

De plus, si les CCI sont capables de coder l'ensemble de la gamme d'intensité via leur potentiel récepteur, grâce aux mécanismes d'amplification ou de compression cochléaires (Russell et Sellick 1978), les neurones de type I ont une gamme de fonctionnement beaucoup plus restreinte : ils ne répondent que sur une dynamique de 10 à 40 dB en intensité. Chez la souris, cet intervalle est même inférieur à 15 dB pour les fibres à bas seuil (Taberner et Liberman 2005). Les neurones de type I ne répondent que sur une bande de fréquences limitée (1 à 2 octaves). Ainsi, pour encoder l'ensemble du champ auditif (chez la souris, de 2 à 90 kHz et 120 dB (Heffner et Masterton 1980), il faut un grand nombre de neurones, chacun codant pour une fraction du spectre auditif.

b. Codage fréquentiel et verrouillage en phase

Le nerf auditif préserve la tonotopie cochléaire : les fibres innervant l'extrémité apicale de la cochlée répondent aux basses fréquences et forment la partie centrale du nerf. Elles sont

progressivement entourées par les fibres innervant l'extrémité basale de la cochlée qui, elles, répondent préférentiellement aux hautes fréquences (**Figure 13**).



En rouge, les fibres répondant aux basses fréquences, issues de l'apex de la cochlée. En bleu, les fibres répondant aux hautes fréquences, issues de la base de la cochlée. En vert, les fibres répondant aux moyennes fréquences.
Reproduit d'après Gil-Loyzaga et Pujol 2016.

Figure 14 : Préservation de la tonotopie cochléaire par les fibres du nerf auditif.

Mais la sélectivité fréquentielle des fibres auditives ne repose pas que sur cette propriété. En effet, pour les sons avec une fréquence inférieure à 3 kHz, un deuxième mécanisme rentre en jeu : le verrouillage en phase.

Comme décrit précédemment, l'arrivée d'une onde sonore, en provoquant une vibration de la membrane basilaire et l'oscillation des stéréocils de la touffe ciliaire, entraîne l'entrée de cations dans les CCI. L'entrée d'ions K^+ à l'apex des stéréocils dépolarise la cellule ciliée et entraîne l'ouverture de canaux calciques Ca^{2+} à sa base. Cela déclenche l'exocytose des vésicules de la synapse à ruban, la libération de glutamate dans la fente synaptique qui en se fixant sur les récepteurs post-synaptiques AMPA et entraîne la formation de potentiels post-synaptiques excitateurs (EPSP) dans les neurones du ganglion spiral (Corey et Hudspeth 1979; Robertson et Paki 2002). Chez l'humain, pour des sons dont la fréquence est inférieure à 3 kHz, l'alternance dépolarisation/repolarisation des CCI, définie comme le potentiel récepteur, suit la même fréquence que le signal sonore. La libération de glutamate en phase avec chaque fréquence de stimulation entraîne l'émission de potentiels d'action à chacun des cycles. Les fibres du nerf auditif répondent alors en phase à la stimulation sonore.

A partir de 2 kHz, les CCI perdent progressivement leur capacité à effectuer des cycles de dépolarisation/repolarisation en phase avec la fréquence de stimulation. Elles codent alors non plus la fréquence de stimulation mais l'enveloppe de la stimulation sonore, et les potentiels d'action des fibres auditives sont émis majoritairement au début du son (Johnson 1980). Ce

mécanisme est observé chez tous les Mammifères étudiés, mais sa gamme de fréquences varie selon les espèces (Heil et Peterson 2015). Chez la souris par exemple, il est présent jusqu'à 4 kHz mais en constitue une composante négligeable (Taberner et Liberman 2005).

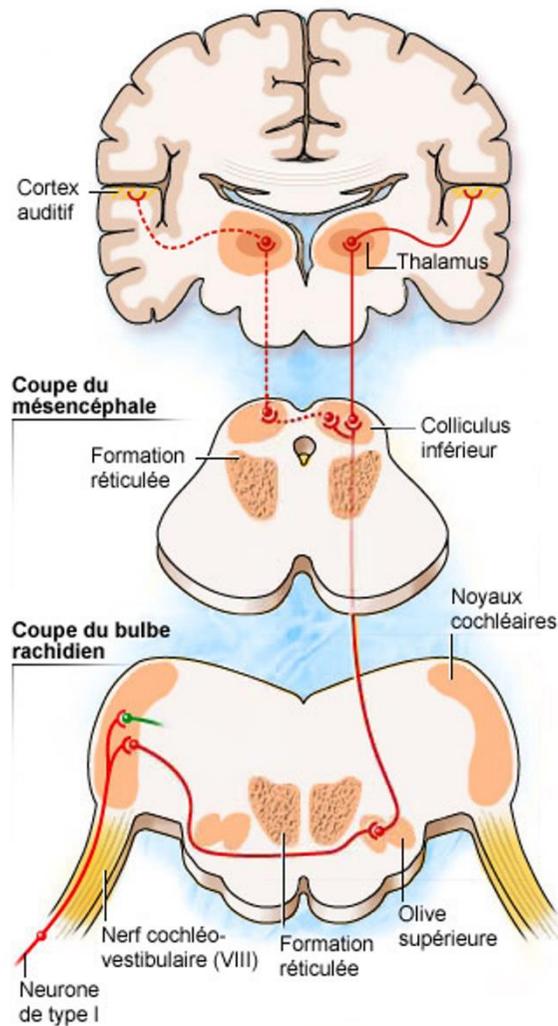
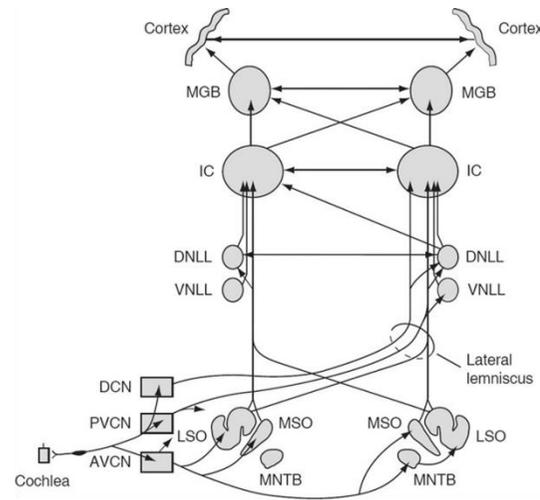
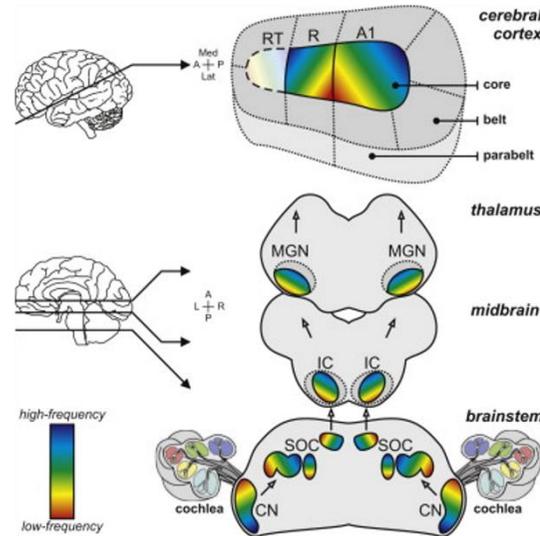
c. Le codage de l'intensité sonore

Les neurones de type I peuvent répondre à des stimuli sonores qui varient plus de mille fois en intensité sonore, en variant leur réponse grâce à une grande hétérogénéité de leurs caractéristiques (taux de décharge, seuil de réponse...). Au-delà de 3 kHz, l'intensité sonore est d'abord codée par la fréquence d'émission des potentiels d'action par les fibres du nerf auditif. Cependant, le codage de l'intensité et de sa dynamique s'appuie sur une autre propriété des 3 sous-types de fibres : leur seuil d'activation. En effet, les fibres à haute activité spontanée ont un seuil d'activation faible (de l'ordre du décibel) etaturent autour de 30 à 40 dB. Les fibres intermédiaires commencent à répondre à 30 dB etaturent autour de 60 dB. Enfin, les fibres à faible activité spontanée sont appelées fibres à haut seuil : elles ne sont recrutées qu'à partir de 50 dB, et leur latence diminue jusqu'à 80 dB (Liberman 1978; Winter et al., 1990; Taberner et Liberman 2005).

II) Le système auditif central, des noyaux cochléaires au cortex auditif

Le système auditif central s'étend depuis le noyau cochléaire jusqu'au cortex auditif (désigné ci-après par l'acronyme AC, pour *auditory cortex*). Il est organisé de manière parallèle de part et d'autre de l'axe de symétrie bilatérale. Les voies ascendantes, c'est-à-dire les fibres nerveuses issues de la cochlée et remontant vers l'AC, effectuent des relais synaptiques dans certains noyaux du tronc cérébral (cochléaires, olivaires, lemnisque latéral), le colliculus inférieur dans le mésencéphale, puis dans la zone auditive du thalamus (le corps genouillé médian) avant d'atteindre le cortex (**Figure 15**). Chaque structure traversée possède un rôle dans le décodage de l'information sonore. En fonction des caractéristiques étudiées du système nerveux central, plusieurs divisions sont possibles afin d'en décrire au mieux les détails. Par exemple, on peut diviser le système auditif central et notamment le tronc cérébral, en une voie ventrale (ou voie binaurale, analysant l'information auditive issue des deux oreilles et dont le principal rôle est la localisation des sources sonores) et une voie dorsale (ou voie monaurale, qui analyse les sons complexes captés par l'oreille controlatérale) (Pickles 2015). De même, si l'AC reçoit les influx nerveux issus de la cochlée (et formant les voies auditives ascendantes), il projette lui-même de nombreuses fibres vers les structures auditives sous-corticales. Ces projections corticales forment les voies auditives descendantes. Enfin, on distingue les voies auditives primaires, qui sont spécifiquement dédiées à l'audition, des voies auditives non primaires, ou voies associatives. La diversité de ces voies ascendantes est illustrée en **Figure 15**. Comme nous le verrons par la suite, chaque structure auditive du système nerveux central peut être divisée en sous-régions, et pour chacune d'entre elles au moins une sous-division préserve la répartition topographique des fibres nerveuses en fonction de leur fréquence caractéristique qui est issue de la tonotopie cochléaire. Dans l'AC, ces aires tonotopiques sont appelées « aires primaires », et les aires corticales non tonotopiques sont appelées « aires secondaires ».

Je détaillerai les structures dans l'ordre de succession de la voie primaire, tout en faisant référence à d'autres voies auditives lorsque l'anatomie et le rôle de ces structures y sont fortement liés.

A**B****C**

(A) Schéma simplifié de la voie auditive primaire (reproduit d'après Pujol 2016).

(B) Illustration de la complexité des voies ascendantes (reproduit d'après Pickles 2015).

AVCN, noyau cochléaire ventro-antérieur ; PVCN, noyau cochléaire ventro-postérieur ; DCN, noyau cochléaire dorsal ; LSO, olive supérieure latérale ; MSO, olive supérieure médiane ; MNTB, noyau médian du corps trapézoïde ; VLL, noyau ventral du lemnisque latéral ; DNLL, noyau dorsal du lemnisque latéral ; IC, colliculus inférieur ; MGB, corps génouillé médian.

(C) Préservation de la tonotopie à chaque relai auditif du système nerveux central humain.

CN, noyau cochléaire, SOC, complexe olivaire supérieur, IC, colliculus inférieur, MGB, corps génouillé médian. Reproduit de Saenz et Langers 2014.

Figure 15 : Les voies auditives du système nerveux central

A. Les noyaux auditifs du tronc cérébral

1. Les noyaux cochléaires

Ils sont au nombre de trois : le noyau dorsal (DCN), le noyau antéro-ventral (AVCN) et le noyau postéro-ventral (PVCN), ces deux derniers étant parfois désignés comme noyau cochléaire ventral (VCN). Ils reçoivent l'ensemble des terminaisons centrales des neurones du ganglion spiral, et en conservent la tonotopie (**Figure 17**): Ces noyaux cochléaires sont caractérisés par une organisation cellulaire différente ainsi que par plusieurs types de neurones spécifiques et différenciables par leur morphologie (Osen et Roth 1969; Kane 1974; Tolbert et al. 1982; Tolbert et Morest 1982; Wu et Oertel 1984) et leurs propriétés électrophysiologiques (Manis et al., 2019).

L'AVCN est innervé par la branche antérieure du nerf auditif et initie la partie ventrale du système auditif central impliquée dans la localisation des sons (Pickles 2015). Il est composé de deux types de neurones excitateurs : les neurones « en buisson » (*bushy cells*, BC), et les neurones en étoiles (*stellate cells*, SC), qui doivent leurs noms à la forme particulière de leur arbre dendritique. Les BCs envoient leur projections axonales vers le noyau médian du corps trapézoïde (MNTB, où ils y forment un relai synaptique géant appelé le calyx de Held) et l'olive supérieure, formant ainsi un circuit participant à la localisation des sons en comparant les informations temporelles et en intensité provenant des deux oreilles (Grothe et al., 2010). Quant aux SC, ils ont été divisés en trois sous-types : T-SC, D-SC et L-SC (Ngodup et al., 2020). Les T-SC sont excitatrices, participent au codage des caractéristiques spectrales des sons et projettent sur le DCN et le colliculus inférieur (Oertel et al. 2011). Les D-SC et L-SC sont des neurones inhibiteurs glycinergiques et contrôlent finement l'excitabilité des BCs et T-SC du VCN, les D-SC projetant aussi sur les neurones du DCN. (Doucet et Ryugo 1997; Oertel et al. 2011; Campagnola et Manis 2014).

Les noyaux dorsal et postéro-ventral reçoivent la branche postérieure du nerf auditif et initient la partie dorsale du système auditif qui est impliquée dans l'analyse des sons complexes (Pickles 2015). Le PVCN se distingue par des neurones à la forme particulière : les cellules « en pieuvre », ou *octopus cells* (Pickles 2015). Ils envoient leurs projections principalement vers le lemnisque latéral controlatéral et répondent seulement s'ils reçoivent une excitation massive et synchronisée des fibres du nerf auditif. Leurs réponses sont caractérisées par une très grande synchronisation et précision temporelle, faisant de ces neurones des acteurs majeurs de l'analyse des fluctuations temporelles des stimuli complexes du système nerveux. Ils jouent

donc un rôle important dans les sons du langage (McGinley et Oertel 2006). On retrouve aussi dans le PVCN les mêmes types de neurones SC que dans le reste du VCN.

Enfin le DCN est caractérisé par une grande diversité cellulaire et une organisation laminaire, chaque couche possédant des types cellulaires et un ensemble de connexions particulières. (Young et Oertel 2004, **Figure 16**). Chez certaines espèces comme le chat ou l'humain, on distingue généralement 3 couches : la couche moléculaire (couche 1, externe), la couche fusiforme/pyramidale (couche 2) et la couche polymorphe, la plus profonde (couche 3). En plus des fibres du nerf auditif et du VCN, le DCN reçoit des fibres des systèmes vestibulaire, somatosensoriel et pontique, dont certaines sont des fibres moussues (*mossy fibers*) ; le DCN est une structure d'intégration sensorielle multimodale, dont l'organisation cellulaire et synaptique est proche de celle du cervelet (Oertel et Young 2004; Baizer et al. 2012). Enfin, le DCN est considéré comme une des structures impliquées dans la perception des acouphènes (*tinnitus* en anglais, une perception auditive fantôme sans stimulus extérieur). Dans certains modèles animaux, les acouphènes sont corrélés à une hyperactivité spontanée des neurones pyramidaux du DCN et chez l'humain, certains mouvements volontaires ou stimuli somatosensoriels modulant ces acouphènes, ce qui renforce l'hypothèse que le DCN est un lieu d'interaction de plusieurs systèmes sensoriels (Baizer et al. 2012)

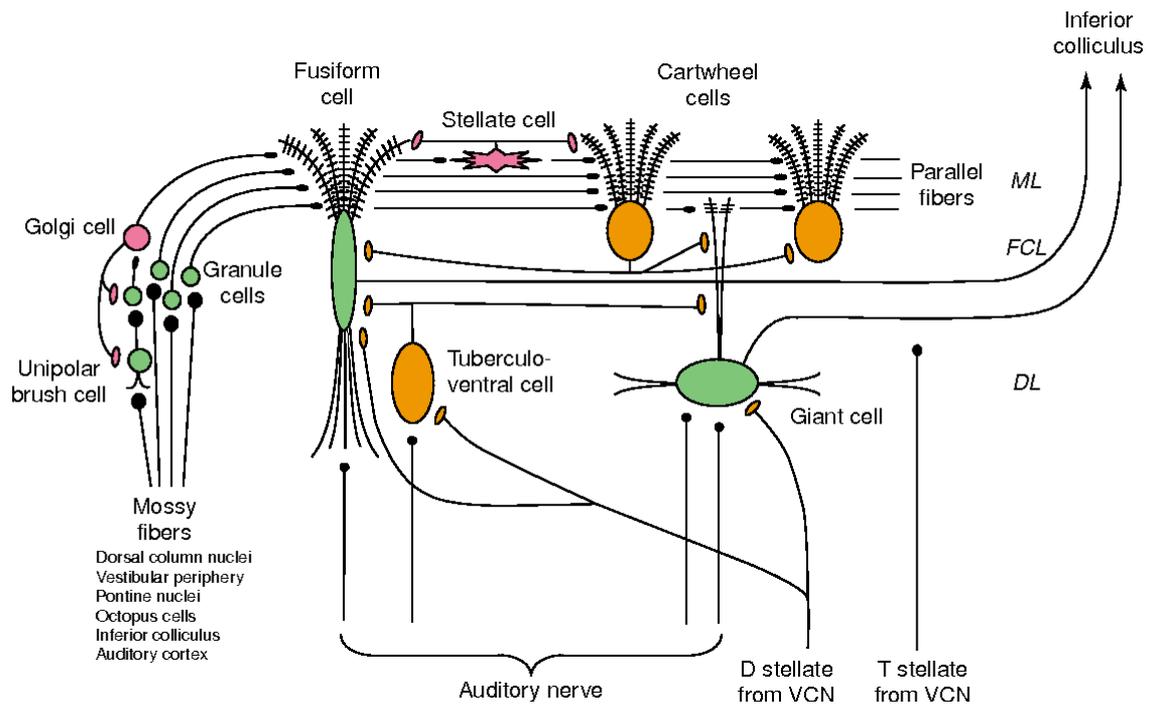


Figure 16 : Circuits multisensoriels du DCN

Représentation schématique des circuits du noyau cochléaire dorsal (DCN) dont les couches superficielles forment une structure semblable à celle du cervelet. Les cellules granuleuses sont regroupées autour du noyau cochléaire ventral (VCN), ainsi que dans la couche des cellules fusiformes (FCL). Comme dans le cervelet, les cellules granuleuses sont excitées par des fibres moussues (*mossy fibers*) provenant des cellules en brosse unipolaires et d'autres régions du cerveau. Les axones des cellules granuleuses (fibres parallèles) contactent les dendrites épineuses des cellules en brosse dans la couche moléculaire (ML). Ils contactent également d'autres interneurons inhibiteurs, des cellules étoilées (*stellate*) superficielles et des cellules de Golgi. Les axones des cellules en roue (*cartwheel cells*) contactent les cellules fusiformes, qui sont elles-mêmes contactées par des fibres parallèles sur leurs dendrites apicales, et les cellules géantes, qui reçoivent peu ou pas d'entrée de fibres parallèles. Les fibres du nerf auditif innervent la couche profonde (DL), contactant les dendrites basales des cellules fusiformes et géantes, ainsi que les neurones tuberculoventraux. Deux groupes de cellules du VCN, les cellules D- et T-*stellate*, fournissent des entrées auditives à la couche profonde. Les cibles des axones des cellules T-*stellate* dans la DCN ne sont pas connues. Les cellules fusiformes et géantes, les principales cellules du NDC, se projettent vers le colliculus inférieur. Les neurones glutamatergiques sont représentés en vert et leurs terminaisons en noir, les neurones glycinergiques et leurs terminaisons en orange, et les neurones GABAergiques en rose.

Reproduit d'après Oertel et Young 2004.

2. Le complexe olivaire supérieur

Deuxième relais auditif du tronc cérébral, le complexe olivaire supérieur (*superior olivary complex*, SOC) est composé de trois noyaux principaux : l'olive supérieure latérale (LSO), l'olive supérieure médiale (MSO) et le noyau médian du corps trapézoïde (MNTB), chacun préservant la tonopie issue de la cochlée (**Figure 17**).

Le SOC est le premier relais auditif recevant et transmettant des informations en provenance des deux cochlées. Ce relais participe de manière importante à la localisation spatiale des sources sonores en comparant les informations issues des deux cochlées (Purves et al. 2015). En particulier, le MSO reçoit les afférences issues des AVCNs droit et gauche et participe à la localisation des sons en analysant les délais interauraux (en anglais *interaural time difference*, ITD), c'est-à-dire le décalage de phase entre les informations arrivant des deux oreilles. Les neurones du MSO agissent comme des détecteurs temporels et répondent avec précision si et seulement si les informations des deux oreilles arrivent à quelques microsecondes d'intervalles. Le LSO reçoit des afférences excitatrices des SBCs de l'AVCN ipsilatéral et des afférences inhibitrices des GBCs de l'AVCN controlatéral via le relais synaptique intermédiaire, le calyx de Held dans le MNTB. Le LSO participe à la localisation des sources sonores en détectant les différences d'intensité interaurales (en anglais, *interaural sound level differences*, ILD), différences issues des variations du taux de décharge entre afférences excitatrices et inhibitrices. Cependant, cette division fonctionnelle entre LSO et MSO est sans doute moins évidente qu'initialement envisagée. En effet, les principaux neurones du LSO sont aussi capables de détecter les délais interauraux avec une grande précision, et leur implication dans les mécanismes de l'ILD reposerait non pas sur l'intégration d'une différence d'intensité de décharge des afférences excitatrices et inhibitrices mais sur la détection de différences temporelles entre afférences excitatrices ipsilatérales et inhibitrices controlatérales (Franken et al., 2018).

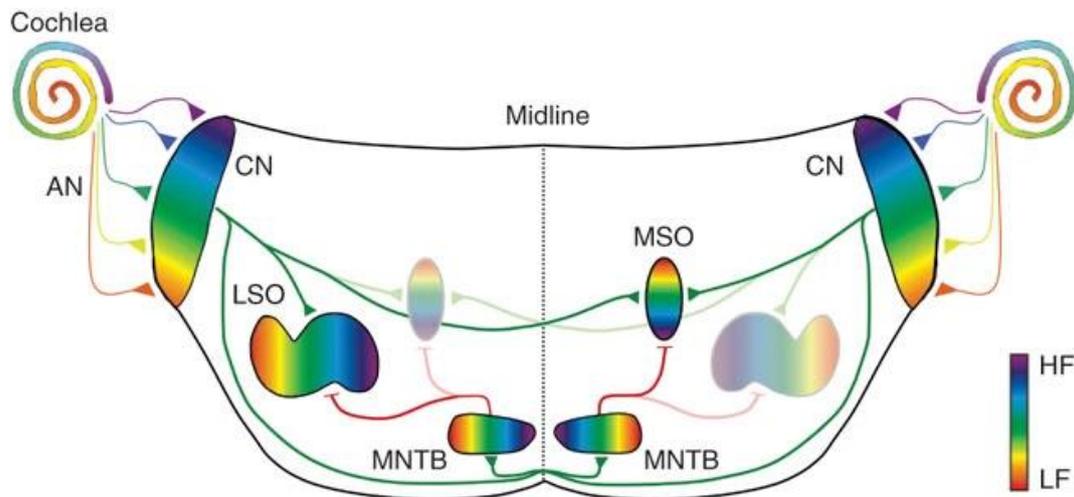


Figure 17 : Organisation tonotopique de la cochlée au complexe olivaire supérieur

Schéma simplifié de la voie auditive primaire des Mammifères impliquée dans la localisation des sons, illustrant la conservation de la tonotopie à chaque relai depuis la cochlée. A l'exception du nerf auditif, les connexions excitatrices sont en vert, les connexions inhibitrices en rouge.

AN: nerf auditif ; CN : noyau cochléaire ; HF : hautes fréquences ; LF: basses fréquences ; LSO : olive supérieure latérale ; MNTB : noyau médian du corps trapézoïde ; MSO : olive supérieure médiane. Adaptée de Kandler et al., 2009.

De plus, tout autour de ces trois noyaux principaux se trouvent différents noyaux accessoires : ceux regroupant les neurones olivocochléaires, qui font partie de voies auditives descendantes depuis le cortex vers la cochlée ; et les noyaux périolivaires, dont le nombre varie selon les espèces (Illing et al., 2000). L'un d'entre, le noyau paraolivaire supérieur, est composé de neurones inhibiteurs capables de répondre au début mais aussi à la fin des stimuli auditifs, ce qui les rend capables de transmettre des informations sur l'enveloppe temporelle des sons ou la présence de silence dans des stimuli complexes, informations cruciales dans l'analyse des signaux de communications (parole, vocalisation) (Felix et al. 2013, 2015).

Enfin, le SOC a un deuxième rôle majeur : il assure un rétrocontrôle des cellules sensorielles de la cochlée par des fibres efférentes, déjà évoqué plus haut (voir I-C.1 *Innervations des cellules ciliées sensorielles*). Ce rétrocontrôle protège la cochlée des traumatismes provoqués par l'exposition à des sons de forte intensité et permet d'optimiser la détection d'informations pertinentes dans un environnement bruyant (Guinan 2011). De plus, le SOC participe, avec des noyaux moteurs du tronc cérébral, à des circuits neuromusculaires assurant une protection de l'oreille, via la contraction réflexe des muscles des osselets dans l'oreille moyenne (Lee et al. 2006; Venet et al. 2011). Parmi ces réflexes, on trouve le réflexe stapédien, qui déclenche la contraction du muscle de l'étrier (aussi appelé muscle stapédien),

via l'innervation du nerf facial (VII) et le réflexe du muscle du marteau, innervé par le nerf trijumeaux (V) (Rouiller et al. 1989).

3. Le lemnisque latéral

Cette structure du tronc cérébral est composée de deux noyaux : le noyau dorsal et le noyau ventral.

Le noyau dorsal reçoit des afférences du MSO ipsilatéral, des LSO et du noyau cochléaire controlatéral, et envoie ses projections axonales vers les deux colliculi inférieurs ainsi que le noyau dorsal du lemnisque latéral controlatéral. Il est impliqué dans le mécanisme de localisation spatiale des sources sonores. En particulier, les neurones du noyau dorsal répondent aux sons de l'oreille controlatérale mais sont inhibés par les sons de l'oreille ipsilatérale, comme les neurones du LSO. De plus, ces neurones peuvent être inhibés pendant plusieurs dizaines de millisecondes en réponse à des sons répétés émanant de différents endroits dans l'espace (ce mécanisme est appelé « inhibition persistante »). Les neurones du noyau dorsal du lemnisque latéral permettent d'augmenter la précision, le contraste et la gamme dynamique des réponses entre les hautes et basses fréquences par rapport aux neurones du LSO, ce qui permet d'augmenter la précision du système lors de la localisation d'une source en mouvement ou de plusieurs sources différentes (Pecka et al. 2007; 2009).

Le noyau ventral n'a pas d'organisation tonotopique et est un relai de la voie monaurale : il reçoit des projections directes des noyaux cochléaires controlatéraux, sans passer par le SOC. Il transporte et analyse les sons issus d'une seule oreille et possède des neurones spécialisés dans l'analyse temporelle des sons complexes comme les vocalisations (Pickles 2015). Les neurones de ce noyau envoient leurs projections vers le colliculus inférieur ipsilatéral (Manuel S. Malmierca et al. 1998).

4. Le colliculus inférieur

Situé dans le mésencéphale, le colliculus inférieur (IC, *Inferior Colliculus*) est le lieu de projection des fibres ascendantes excitatrices et inhibitrices issues de tous les niveaux précédents (Oliver 2005). Les IC droit et gauche sont reliés entre eux par une commissure.

L'IC est divisé en deux parties principales : un cortex (sous-divisé en une partie externe, ou latérale, et une partie dorsale) et un noyau central (Pickles 2015). Seul le noyau central possède une organisation tonotopique. Son anatomie est laminaire, c'est-à-dire qu'il est organisé en bandes de cellules horizontales répondant à la même fréquence. Il permet une représentation spatiale de l'espace auditif : la plupart des neurones répondent préférentiellement

à une région spécifique de l'espace d'où proviennent les sons. Ce mécanisme est permis par l'intégration des afférences contralatérales et modulé par les afférences ipsilatérales (Kuwada et al. 2011). De plus, le noyau central est impliqué dans la détection des sources sonores en mouvement (Pickles 2015). Enfin, il permet l'analyse de sons aux caractéristiques temporelles complexes grâce à des neurones répondant à des sons modulés en fréquence, en amplitude, ou encore des sons d'une durée spécifique. Ces mécanismes sont indispensables à l'analyse des sons d'origine biologique : communication intraspécifique ou identification de prédateurs par exemple (Bizley 2017). Le noyau central de l'IC projette essentiellement sur la partie ventrale du thalamus auditif (voir ci-dessous, **Figure 18**), et envoie des projections descendantes vers les noyaux de l'olive supérieure et les noyaux cochléaires.

Les cortex externe et dorsal ne présentent quant à eux aucune tonotopie. Ils sont associés aux voies auditives non primaires, notamment la partie externe. Cette dernière reçoit l'essentielle des projections descendantes issues des couches V et VI de l'AC (King et Bajo 2013) ainsi que des fibres descendantes inhibitrices issues d'autres régions corticales comme le cortex somatosensoriel (Pickles 2015). La partie dorsale intervient dans un phénomène appelé adaptation spécifique au stimulus, retrouvé dans de nombreuses structures auditives mais particulièrement importante dans l'IC et défini comme une diminution de la réponse neuronale à un son récurrent et une augmentation de cette réponse à un son nouveau (Lumani et Zhang 2010; Patel et al. 2012).

Enfin, on distingue dans l'IC deux grands types de neurones basés sur leur morphologie : les neurones en forme de disque (*disc-shaped*), dont les dendrites sont parallèles à la structure laminaire du noyau central, et les neurones étoilés (*stellate*), de forme elliptique, dont les dendrites traversent les différentes couches laminaires (Malmierca et al. 1993). Cette dichotomie basée sur la morphologie ne permet pas de déterminer cependant la nature même des neurones, mais la diversité fonctionnelle des neurones de l'IC est encore peu connue (Schofield et Beebe 2019). L'IC contient principalement des neurones excitateurs et des neurones inhibiteurs GABAergiques représentent entre 20 et 40 % du total des neurones selon les espèces. Les neurones excitateurs comme inhibiteurs forment des connexions avec le thalamus auditif (Ito et Oliver 2012; Schofield et Beebe 2019).

B. Le corps genouillé médian du thalamus

Le thalamus auditif, situé dans le corps genouillé médian (MGB, *Medial Geniculate Body*), est divisé en trois zones principales : les noyaux dorsal (MGBd), médial (ou magnocellulaire, MGBm) et ventral (MGBv).

Le MGBv reçoit des afférences du noyau central de l'IC et présente une organisation tonotopique chez les nombreux Mammifères étudiés, que ce soit le chat (Winer et al., 1977) ou la souris (Hackett et al. 2011). Les neurones de la MGBv intègrent des informations issues des différentes voies auditives primaires binaurales et monaurales, ce qui leur permet d'intégrer des combinaisons de sons aux différentes caractéristiques spectrales et temporelles ainsi que l'intensité des messages avant de les transmettre au cortex. Ils projettent principalement sur la couche IV des aires primaires de l'AC. Ce noyau thalamique est ainsi étroitement interconnecté avec l'AC (Winer 2011 ; **Figure 18**) : il est par exemple possible de modifier la résolution spectrale des neurones du MGBv en manipulant l'AC (Zhang et Suga 2000).

Les noyaux dorsal et médial ne font pas partie de la voie auditive primaire et ne présentent pas d'organisation tonotopique. Le MGBm reçoit des afférences de tous les noyaux de l'IC, ainsi que d'autres structures nerveuses comme le système limbique. Il envoie ses projections vers la plupart des aires de l'AC et sur l'amygdale, siège des émotions (Winer 2011). Les neurones du MGBd reçoivent des afférences du cortex dorsal de l'IC ainsi que du système somatosensoriel et envoient leurs projections uniquement sur les aires corticales secondaires.

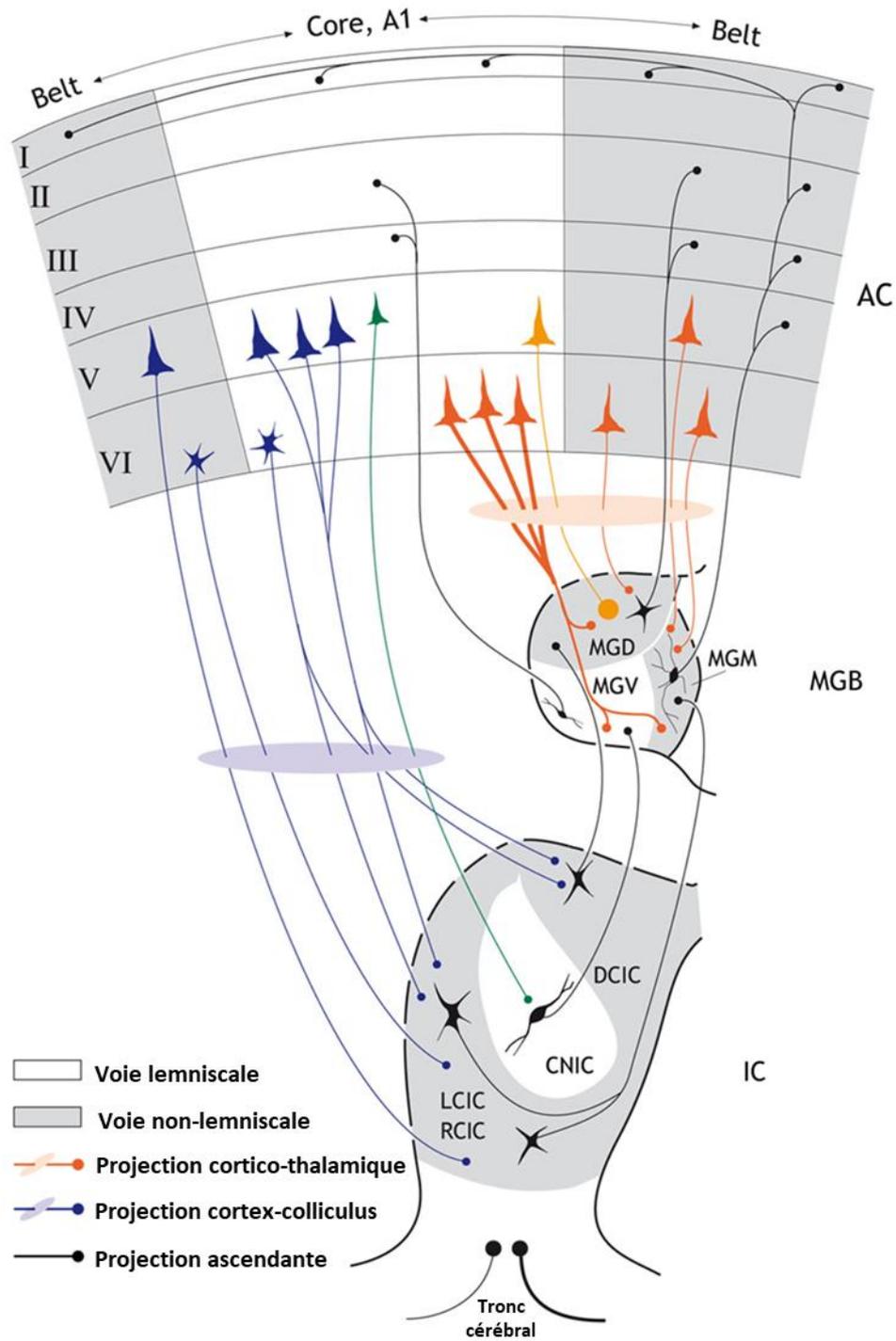


Figure 18 : Illustration des principales connexions ascendantes et descendantes entre le cortex auditif, le corps genouillé médian et le colliculus inférieur

Représentation schématique des connexions entre les trois dernières régions du système auditif central. Les régions associées aux voies auditives secondaires (non-lemniscale, appelé *belt* dans le cortex auditif) sont grisées. A1 : cortex auditif primaire ; AC : cortex auditif ; CNIC : noyau central du colliculus inférieur ; DCIC : cortex dorsal du colliculus inférieur ; LCIC, RCIC : cortex latéral et rostral du colliculus inférieur ; MGD : partie dorsale du corps genouillé médian ; MGM : partie médiale du corps genouillé médian ; MGV : partie ventrale du corps genouillé médian.

Reproduit d'après Malmierca et al. 2015.

C. Le cortex auditif

L'AC se trouve dans le lobe temporal, dans la partie inférieure du sulcus latéral et du gyrus temporal supérieur chez les primates (Hackett 2015). Les neurones de l'AC envoient leurs projections d'une part vers les structures auditives en amont (voies auditives descendantes) et d'autre part sur d'autres régions corticales avec lesquelles il est interconnecté. L'AC participe ainsi à l'analyse des informations auditives, que ce soit la localisation des sources sonores, l'analyse de sons complexes ou l'association des stimuli auditifs d'une part avec d'autres modalités sensorielles, d'autre part avec de nombreuses régions cérébrales impliquées dans les processus cognitifs (comme l'apprentissage), émotionnels ou moteurs.

1. Organisation anatomique, fonctionnelle et cellulaire

a. Anatomie et topographie

i. Principes généraux

L'AC a été étudié chez de nombreuses espèces de Mammifères. Parmi elles, le chat est une des espèces les plus étudiées à l'origine et a permis d'établir les concepts clés du développement et de l'organisation de l'AC des Mammifères. Ces concepts ont par la suite été transposés et adaptés à d'autres espèces : primates, rongeurs ou autres carnivores comme le furet (Kaas 2011).

L'AC peut être divisé en différentes régions : le « *core* », qui regroupe les aires dites primaires, la « *belt* » et la « *parabelt* », qui regroupent les aires dites secondaires (**Figure 19**). Chaque région est caractérisée par un schéma de connexions thalamo-corticales et cortico-corticales, une architecture spécifique et des propriétés physiologiques particulières. Ainsi, les aires primaires du *core* sont composées de neurones présentant des latences plus courtes, une meilleure précision temporelle et un accord en fréquence plus fin que les neurones des aires secondaires. Elles reçoivent principalement des afférences issues du MGBv, tandis que les aires secondaires reçoivent en plus des afférences d'autres régions thalamiques et corticales (Hackett 2015). De plus, les aires primaires présentent une organisation tonotopique. Cette tonotopie disparaît progressivement dans les aires secondaires de la *belt* et de la *parabelt* (Hackett 2015). Enfin, les neurones du *core* envoient leurs projections vers les neurones de la *belt* (et réciproquement), mais pas de la *parabelt*. Les aires de la *belt* et de la *parabelt* établissent des connexions entre elles ainsi qu'avec d'autres aires corticales, dont notamment le cortex préfrontal (Bizley 2017), impliqué dans de nombreux processus cognitifs complexes comme la prise de décision.

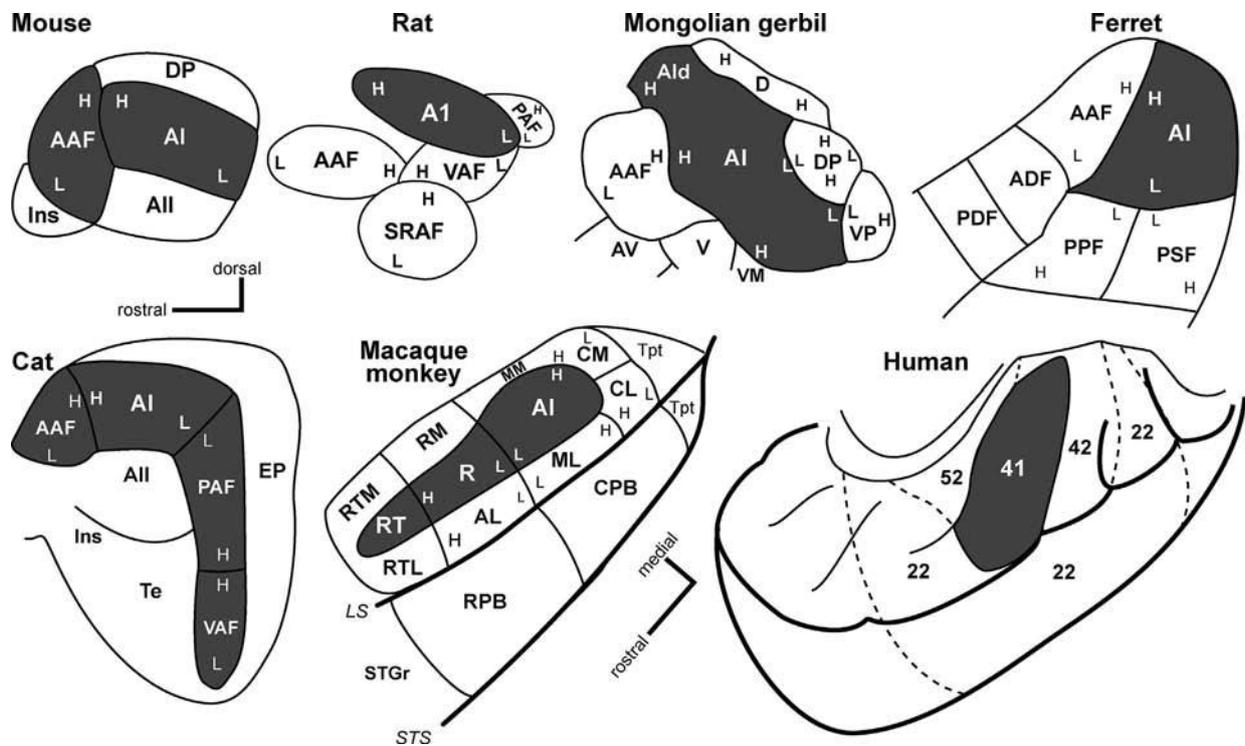


Figure 19 : Schéma comparatif de l'organisation du cortex auditif de différentes espèces de Mammifères

Les aires primaires (*core*) sont représentées en noir. Les aires secondaires (*belt* et *parabelt*) sont en blanc. Les gradients tonotopiques sont indiqués par H pour les hautes fréquences et L pour les basses fréquences. La division *core-belt-parabelt* est particulièrement bien visible chez le macaque, animal modèle pour l'étude du cortex auditif des Primates.

Souris : AAF, aire auditive antérieure ; AI, aire auditive primaire ; AII, aire auditive secondaire ; DP, aire dorso-postérieure ; Ins, cortex insulaire. Les abréviations concernant les autres espèces ne seront pas détaillées ici. Reproduit d'après Hackett, 2015.

L'AC peut être découpé en de nombreuses autres « cartes topographiques » indépendantes les unes des autres suivant différentes propriétés physiologiques des neurones. Par exemple, une carte amplitopique (organisation topographique en fonction de l'intensité des stimuli auditifs) indépendante de la tonotopie a été mise en évidence chez le chat, le rat, la chauve-souris et l'humain (Schreiner et Winer 2007). Lors de l'établissement de ces cartes topographiques, il faut toujours prendre en compte l'influence des paramètres expérimentaux : Hackett et ses collègues (2011) notent ainsi le niveau d'anesthésie, la résolution spatiale de la technique d'enregistrement, l'intensité des stimuli par rapport aux seuils auditifs des neurones enregistrés (Guo et al. 2012), ou encore la couche corticale dans laquelle sont effectués les

enregistrements (Guo et al. 2012; Winkowski et Kanold 2013) sont autant de facteurs de variation de ces cartes. Quelle que soit l'espèce et plus encore lorsque la souris est l'animal modèle, ces paramètres doivent être pris en considération lors de l'analyse de l'activité neuronale auditive.

Enfin, de telles « cartes topographiques » semblent essentielles aux systèmes sensoriels corticaux : la quasi-totalité des aires sensorielles du cortex cérébral présentent des représentations ordonnées des paramètres sensoriels qu'elles analysent. Par exemple, le cortex visuel peut être divisé en une carte rétinotopique (une représentation ordonnée du champ visuel, préservant la représentation topographique de l'image sur la rétine), une carte de dominance oculaire, désignant la répartition ordonnée et alternée de la préférence pour les stimuli délivrés au niveau de l'œil controlatéral par rapport à l'œil ipsilatéral de neurones qui forment ainsi une structure colonnaire, ou encore des cartes basées sur des préférences d'orientation, de direction du mouvement, etc. (Hubel et Wiesel 1968; Horton 2006; Zhuang et al. 2017). Ces cartes topographiques permettent de réduire les connexions redondantes et de coordonner efficacement les processus d'analyse (Chklovskii et Koulakov 2004; Schreiner et Winer 2007).

ii. Carte tonotopique du cortex auditif murin

Chez la souris, l'existence d'aires auditives basées sur le modèle *core-belt-parabelt* et présentant une organisation tonotopique précise est encore soumise à controverse. Ce sont les travaux de Stiebler et ses collègues (1997) qui ont abouti à la première description complète de la tonotopie corticale murine (**Figure 20**). Ces auteurs ont utilisé des techniques d'électrophysiologie qui leur ont permis d'enregistrer l'activité neuronale des neurones pyramidaux de la couche IV de l'AC en réponse à des sons purs. Selon eux, l'AC de la souris peut être divisé en cinq aires : aire primaire A1, aire auditive antérieure AAF (*Anterior Auditory Field*), aire secondaire A2, aire ultrasonique UF (*Ultrasonic Field*) et aire dorso-postérieure DP (*DorsoPosterior field*). A1 et AAF possèdent une tonotopie « en miroir » et constituent, par analogie avec les autres Mammifères, le « *core* » (soit la région primaire) de l'AC. UF, DP et A2 ne présentent pas d'organisation tonotopique et forment la « *belt* » (région secondaire). UF contient des neurones ne répondant qu'à des fréquences supérieures à 40 kHz. Enfin, chez la souris, le côté gauche de l'AC serait plus grand que le côté droit.

Récemment, d'autres études ont remis en question ces résultats, que ce soit le nombre d'aires auditives, leur disposition relative et leur organisation tonotopique (Rothschild et al., 2010; Bandyopadhyay, Shamma, et Kanold 2010; Hackett et al. 2011; Sawatari et al. 2011; Guo et al. 2012; Winkowski et Kanold 2013; Tsukano et al. 2015; 2016). Les travaux de

Sawatari et ses collègues (2011), utilisant des colorants sensibles au potentiel (*Voltage Sensitive Dye*), ont permis d'identifier une région auditive dans le cortex insulaire, rostralement à AAF. Cette région est caractérisée par une organisation tonotopique et des neurones possédant des latences très courtes pour les basses fréquences. De plus, de nombreux travaux, utilisant des techniques d'électrophysiologie (Guo et al. 2012) ou d'imagerie optique (comme la microscopie biphotonique, *two-photon imaging* en anglais), technique permettant une plus grande résolution spatiale que les méthodes d'électrophysiologie classiques ; Issa *et al.*, 2014 ; Tsukano *et al.*, 2015; 2016), ont précisé et redéfini certaines aires primaires et secondaires et leur organisation tonotopique (**Figure 20B-D**). Dans ces travaux, l'aire UF n'est plus détectée, les neurones répondant aux fréquences supérieures à 40 kHz étant répartis à la fois dans A1 et dans AAF (Guo et al. 2012; Issa et al. 2014; Tsukano et al. 2015; 2016). Issa et ses collègues (Issa et al. 2014) ont quant à eux mis en évidence un gradient tonotopique de l'aire A2, les basses fréquences étant en position caudo-ventrale. De plus, ils ont trouvé une variation des gradients tonotopiques de A1 et AAF par rapport aux travaux de Stiebler. Ces deux conclusions ont été retrouvées par Tsukano et ses collègues (2015 ; 2016), qui ont en plus conclu qu'une nouvelle aire, l'aire dorso-médiale DM (*DorsoMedial field*), pouvait être séparée de A1.

Cependant, précédemment à ces études, deux équipes avaient mis en évidence une importante hétérogénéité dans l'organisation tonotopique des aires primaires en utilisant la microscopie biphotonique (Bandyopadhyay, Shamma, et Kanold 2010; Rothschild, Nelken, et Mizrahi 2010). Leurs études se focalisaient sur les couches corticales II/III et non la couche IV. Depuis, de nombreuses études ont confirmé l'hétérogénéité tonotopique de la couche corticale II/III par rapport à la couche IV et ce même avec des méthodes à plus faible résolution spatiale (Hackett et al. 2011; Guo et al. 2012; Winkowski et Kanold 2013).

Winkowski et Kanold (2013) expliquent cette perte d'homogénéité dans l'organisation tonotopique entre ces couches par leurs afférences : les afférences de la couche IV proviennent principalement du thalamus, tandis que les afférences de la couche II/III proviennent en partie de la couche IV. Cette différence suggère que les couches II/III et IV n'ont pas le même niveau d'analyse. Ils ont émis l'hypothèse que les caractéristiques fréquentielles et les autres propriétés particulières des réponses neuronales de la couche II/III sont le signe d'une spécialisation dans le traitement des sons complexes tels que les vocalisations.

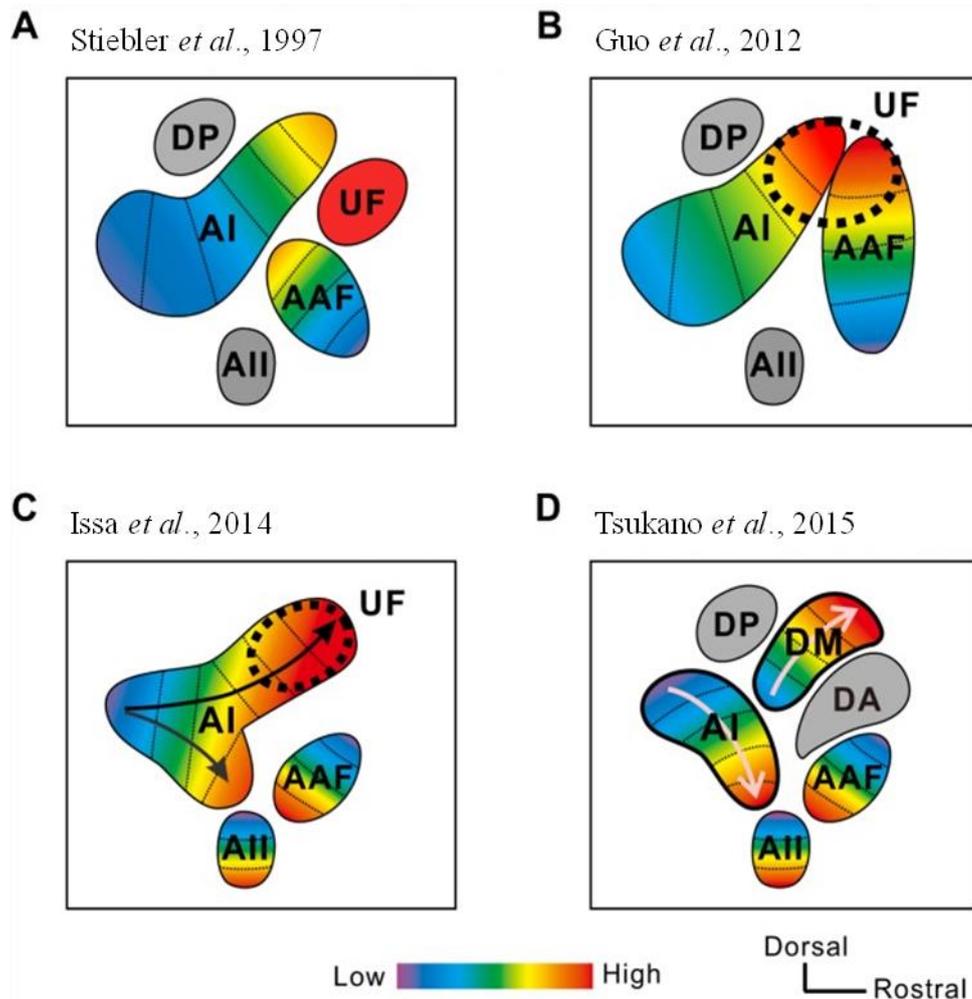


Figure 20 : Représentation schématique des aires corticales chez la souris selon différentes études.

(A) Carte tonotopique d'après les travaux de Stiebler *et al.* (1997). Les neurones ayant des fréquences préférentielles supérieures à 50 kHz se trouvent dans l'aire ultrasonique (UF) distincte des aires A1 et AAF qui ne comportent que des neurones dont la fréquence préférentielle peut aller jusqu'à 40 kHz. (B) Carte tonotopique d'après les travaux de Guo *et al.* (2012). UF est interprétée comme faisant partie des portions répondant aux hautes fréquences de A1 et AAF. (A et B) Cartes obtenues par enregistrements électrophysiologiques. (C) Carte tonotopique d'après les travaux d'Issa *et al.* (2014), montrant deux gradients tonotopiques différents dans A1. L'aire secondaire AII présente aussi un gradient tonotopique. (D) Carte tonotopique d'après les travaux de Tsukano *et al.* (2015). L'aire dorso-médiale (DM) est séparée de la partie répondant aux hautes fréquences de A1. Deux aires non tonotopiques sont aussi définies : l'aire dorso-antérieure (DA) et l'aire dorso-postérieure (DP). (C et D) Cartes obtenues par des techniques d'imagerie optique. Reproduit d'après Tsukano *et al.*, 2015.

b. Organisation fonctionnelle

La régionalisation de certaines fonctions est une caractéristique du cortex cérébral. La tonotopie (ou son absence) et les connexions thalamo-corticales ou cortico-corticales du *core*, de la *belt* et de la *parabelt* suggèrent un ou des rôles différents entre ces trois régions.

Les premiers travaux étudiant une potentielle division spatiale de l'analyse auditive dans l'AC se basaient sur des modèles de lésions corticales. Ces méthodes présentaient plusieurs écueils, notamment l'impossibilité d'utiliser un même animal dans chacune des situations étudiées (cortex lésé *versus* cortex sain), ou encore l'impossibilité de contrôler les modifications post-lésionnelles inévitables à cause de la plasticité du cortex (Lomber et McMillan 2011).

Chez le chat, une équipe a montré de manière directe une régionalisation fonctionnelle dans l'AC (Malhotra et Lomber 2007; Lomber et Malhotra 2008). En utilisant des tests comportementaux et une méthode réversible, le *cooling* (c'est-à-dire un refroidissement localisé de l'AC permettant d'inhiber la transmission nerveuse), Lomber et ses collègues (2007 ; 2008) ont pu montrer au cours de plusieurs études que les aires rostrales à A1 étaient spécialisées dans l'identification d'objets (*pattern*) acoustiques tandis que les aires caudales à A1 étaient impliquées dans la localisation des sources sonores. Ces travaux sont venus appuyer une hypothèse (*the 'what' and 'where' hypothesis*) déjà proposée par d'autres chercheurs après leurs études chez le macaque rhésus (Rauschecker et Tian 2000; Tian et al. 2001) ou chez l'humain (Warren et Griffiths 2003) et reposant sur des méthodes d'électrophysiologie ou des études lésionnelles. L'aire primaire A1 est aussi nécessaire à la localisation des sources sonores, du moins chez le chat (Malhotra et Lomber 2007), à un degré toutefois moindre que les aires qui lui sont postérieures.

Enfin, des différences interhémisphères ont été mises en évidence dans le traitement des informations auditives, notamment chez l'humain, chez qui l'hémisphère cérébral gauche serait plutôt spécialisé dans l'analyse de la structure temporelle des sons et l'hémisphère droit dans l'analyse des composantes spectrales des sons (Zatorre et Belin 2001). Cependant, cette dichotomie ne se ferait probablement pas lors d'un premier processus d'analyse "brut" de l'information sonore arrivant aux deux cortex, mais s'appliquerait aux informations auditives ayant déjà subi un premier processus d'analyses (Griffiths et Warren 2004).

c. Organisation cellulaire et notion d'équilibre excitation et inhibition

Comme le cortex dans son ensemble, l'AC comporte deux populations neuronales, l'une excitatrice à transmission glutamatergique et l'autre inhibitrice à transmission d'acide γ -aminobutyrique (GABA)ergique. Les neurones excitateurs sont majoritaires (~80%) et représentés principalement par les neurones pyramidaux. Ils forment six couches de cellules (de I à VI, **Figure 21**) et sont, chez tous les Mammifères, organisés en colonnes néocorticales représentant un module fonctionnel élémentaire (Horton et Adams 2005).

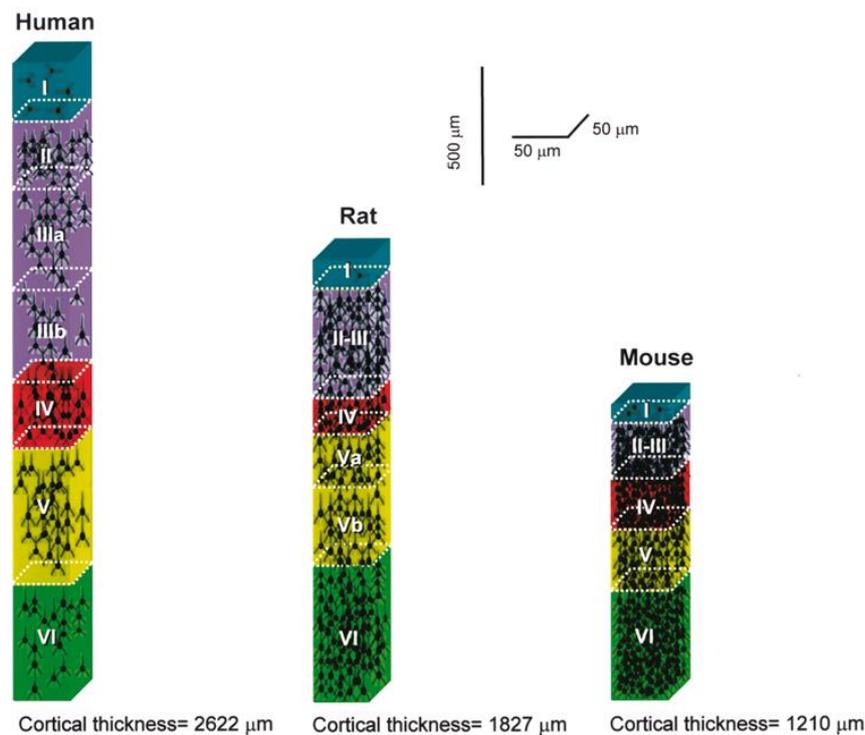


Figure 21 : Schéma comparatif des couches corticales chez trois espèces de Mammifères
Comparaison de l'épaisseur des couches corticales et de leur correspondance relative dans des cubes de tissus (50 µm*50 µm) depuis la surface du cortex temporal latéro-antérieur chez l'humain, du cortex somatosensoriel chez le rat, et du cortex à tonneaux (cortex associé aux vibrisses) chez la souris. Adapté de DeFelipe 2011.

Les interneurones GABAergiques, que j'appellerai par la suite interneurones, ne représentent qu'environ 20% de l'ensemble des neurones du cortex cérébral. Ils sont cependant très diversifiés aux niveaux moléculaire, morphologique ou en termes de propriétés électrophysiologiques (Kelsom et Lu 2013). Alors que les neurones pyramidaux forment des connexions synaptiques à longue distance, les interneurones forment le plus souvent des connexions synaptiques locales. Trois grandes populations d'interneurones ont été caractérisées (**Figure 22**) : les interneurones synthétisant la parvalbumine (PV, un tampon calcique), ceux synthétisant la somatostatine (un neuropeptide) représentant à eux deux jusqu'à 70% de l'ensemble des interneurones et ceux exprimant le récepteur à la sérotonine 5-HT_{3a}, qui représentent une population beaucoup plus hétérogène (Rudy et al. 2011). Si leurs rôles respectifs aux seins des différentes aires fonctionnelles corticales sont encore peu connus, ces populations sont primordiales dans le fonctionnement des microcircuits corticaux. Elles permettent le contrôle de l'excitation des réseaux corticaux (Isaacson et Scanziani 2011), notamment la prévention d'une saturation du taux de décharge et l'amélioration de la précision temporelle des décharges neuronales. De plus, dans l'AC, le poids relatif des composantes excitatrice et inhibitrice améliore la résolution fréquentielle des neurones (Wehr et Zador 2003) et leur relation temporelle permet à la réponse neuronale d'atteindre une précision inférieure à la milliseconde (Oswald et al., 2006). Cet équilibre permet par exemple de sélectionner des informations d'intérêt en milieu bruyant (Nelken et al. 2014) ou encore de détecter des événements sonores de courte durée ou transitoires (Sanes et Woolley 2011). En d'autres termes, un équilibre adéquat entre excitation et inhibition rend possible la sélection, parmi un signal brut, d'informations pertinentes à la compréhension et l'interprétation d'une situation, dans le but d'élaborer les comportements qui seront les mieux adaptés. De plus, il est parfois suggéré qu'un déséquilibre entre excitation et inhibition dans le traitement des modalités sensorielles serait impliqué dans des affections psychiatriques parfois sévères, telles que l'autisme (Rubenstein et Merzenich 2003) (voir partie IV)A.2). Chez certaines espèces de Mammifères telles que la souris, un défaut de l'équilibre excitation-inhibition dans le système auditif prédispose aux crises audiogènes (Ross et Coleman 2000). Il s'agit de crises convulsives réflexes d'activité neuronale paroxystique, déclenchées par un son d'une très forte intensité, typiquement 100-110 dB SPL (*Sound Pressure Level*). L'étude de lignées de souris présentant une susceptibilité aux crises audiogènes est particulièrement utile pour trouver des molécules impliquées dans l'équilibre excitation-inhibition de l'AC et déchiffrer leur rôle (Italiano et al. 2016). Les crises audiogènes sont développées plus en détail en partie IV)B.

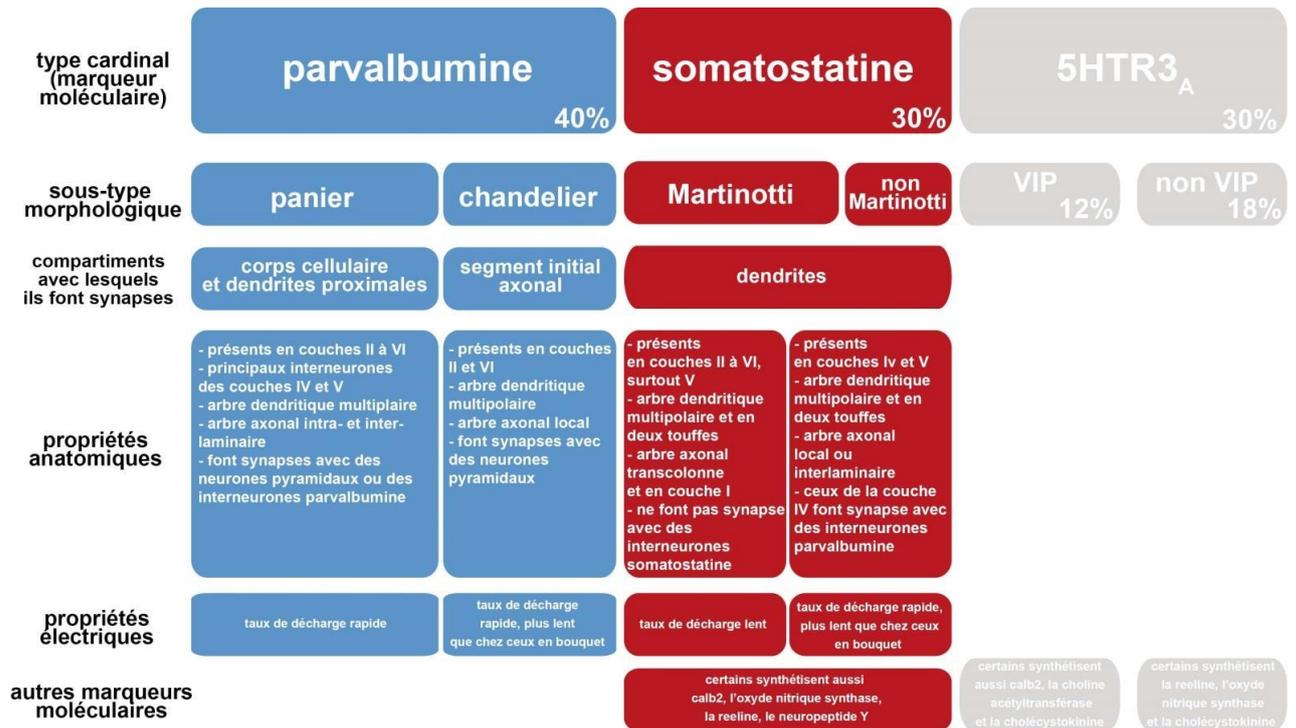


Figure 22 : Principaux types d'interneurones néocorticaux chez la souris

Les trois principales populations d'interneurones se différencient par la synthèse exclusive d'un de ces marqueurs : parvalbumine, somatostatine et récepteur ionotrope 5HTR3a. Chaque population peut être divisée en différentes sous-populations selon des caractéristiques morphologiques, moléculaires, électrophysiologiques et en fonction des compartiments des neurones cibles avec lesquels elles font synapse.

Adapté de Tremblay et al., 2016.

2. Le développement du cortex auditif

a. Développement morphologique et cellulaire

Au même titre que les cortex visuel et somatosensoriel, l'AC fait partie du néocortex, siège des fonctions cognitives complexes. Une partie des cellules du néocortex naît dans la zone ventriculaire. C'est un épithélium pseudostratifié formé par des cellules appelées progéniteurs apicaux (ou cellules de la glie radiaire) et présent dès la formation du tube neural au cours du développement embryonnaire (Nowakowski et Hayes 2005). Les progéniteurs apicaux donnent naissance aux neurones glutamatergiques, (ainsi qu'aux astrocytes et une partie des oligodendrocytes) par une division dite asymétrique : les cellules filles ne sont pas identiques, l'une devient un neuroblaste tandis que l'autre garde ses propriétés de progéniteur neuronal. Le neuroblaste effectue ensuite une migration radiaire jusqu'à sa position finale dans sa colonne corticale et après maturation deviendra un neurone pyramidal. Au cours du développement embryonnaire, une deuxième zone de prolifération cellulaire se forme : la zone sous-ventriculaire. Cette zone contient des progéniteurs dit basaux (ou intermédiaires) issus de la zone ventriculaire. Les progéniteurs basaux subissent une division symétrique : les deux cellules filles sont identiques (Paridaen et Huttner 2014). La zone sous-ventriculaire est particulièrement développée dans la partie ventrale du télencéphale, appelée subpallium. Ce développement aboutit à la formation de trois protubérances, les éminences ganglionnaires latérale, médiale et caudale et d'une aire non-protubérante, l'aire préoptique. Ces structures embryonnaires sont le lieu de naissance des neurones GABAergiques, ou interneurons (Butt et al. 2008).

Certains de ces interneurons sont destinés à rejoindre les couches corticales du néocortex. Au stade de progéniteurs, ils effectuent une migration en deux phases. D'abord, une migration latérale tangentielle au néocortex (migration tangentielle), depuis les éminences jusqu'à ce dernier. Ensuite, une migration radialement à la zone ventriculaire (migration radiaire), qui permet l'envahissement des colonnes corticales. Chacune des migrations est constituée de deux flux (**Figure 23**). Enfin, ces interneurons établissent les microcircuits par deux processus : la synaptogenèse (c'est-à-dire la formation de connexions entre deux neurones) et la maturation synaptique (Faux et al. 2012). Chez les rongeurs, les processus de maturation des microcircuits neuronaux peuvent s'étendre jusqu'à 40 jours après la naissance (de Villers-Sidani et Merzenich 2011)

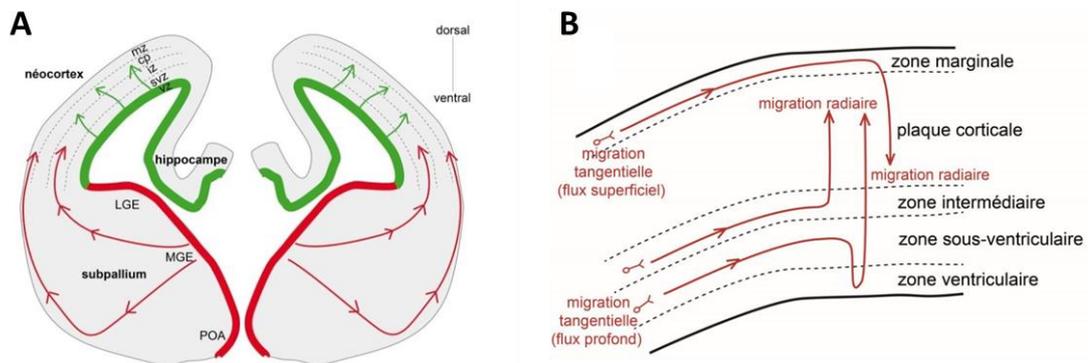


Figure 23 : Migration des progéniteurs des neurones pyramidaux et des interneurons chez la souris

(A) Coupe coronale de télencéphale dans la région des éminences ganglionnaires latérale (LGE) et médiale (MGE) à 14,5 jours embryonnaires. La zone ventriculaire (vz) du néocortex est en vert, celle du subpallium est en rouge. La migration des neuroblastes pyramidaux est indiquée par les flèches vertes. La migration tangentielle des progéniteurs des interneurons est indiquée par les flèches rouges. Mz, zone marginale ; cp, plaque corticale ; iz, zone intermédiaire ; svz, zone sous-ventriculaire.

(B) Migration radiaire des progéniteurs d'interneurons. Les progéniteurs sont issus des deux flux de migration tangentielle et changent de direction vers 18,5 jours embryonnaires.

Adapté de Libé-Philippot et al. 2017.

Chez les rongeurs, l'éminence ganglionnaire médiale est le principal lieu de naissance des interneurons (60% des neurones corticaux en sont originaires). Parmi eux, les deux tiers expriment la parvalbumine et le tiers restant la somatostatine (Celio 1986). Cependant, les interneurons forment une population très diversifiée, même au sein des grands groupes définis par la parvalbumine ou la somatostatine, alors qu'ils sont originaires de la même structure anatomique, la zone ventriculaire du tube neural. Cette diversité est issue de mécanismes apparaissant très tôt au cours du développement embryonnaire. L'expression différentielle de gènes, appelés morphogènes, entraîne la formation de gradients moléculaires tout au long du tube neural et fait que chaque progéniteur est soumis à un environnement moléculaire différent dès sa naissance (Lander 2013). Ces mécanismes commencent avant la formation du tube neural avec l'acquisition d'une identité de position : l'axe dorso-ventral est défini par les gradients opposés de deux molécules, *sonic hedgehog* et *bone morphogenetic protein*, et l'axe antéro-postérieur est défini par différentes molécules telles que l'acide rétinoïque ou les protéines homéotiques (Kral et Pallas 2011). En suivant au cours du temps ces gradients de molécules et l'expression de facteurs de transcription, on peut suivre le développement de différentes lignées d'interneurons. Ainsi, les progéniteurs neuronaux de la MGE expriment tous le facteur de

transcription *Nkx2.1* (Butt et al. 2008), qui est lui-même activé par *sonic hedgehog* (Kelsom et Lu 2013) ; l'identité GABAergique s'acquiert par l'expression de gènes homéotiques de la famille *distal-less* (*Dlx*) (Miyoshi et al. 2010a); l'identité parvalbumine ou somatostatine s'acquiert par le gène homéotique *Lhx6* (Kelsom et Lu 2013). De plus, les progéniteurs neuronaux seront soumis à différents gradients moléculaires au cours de leur migration qui déterminera leur position finale au sein des colonnes corticales du néocortex (Faux et al. 2012).

Malgré de nombreuses études, une question majeure est longtemps restée sans réponse quant au devenir des différentes sous-populations d'interneurones : à partir de quel stade développemental ces sous-populations sont-elles déterminées et surtout existe-t-il des sous-populations spécifiques d'une colonne corticale ou d'une aire fonctionnelle ? Récemment, l'étude du développement de l'AC a permis d'obtenir une première réponse à cette question : Libé-Philippot et ses collègues (2017) ont démontré qu'une sous-population d'interneurones spécifiques de l'AC seraient déterminée dès sa naissance dans l'éminence ganglionnaire médiale. Cette hypothèse est cependant remise en question par de récents résultats obtenus par notre équipe (Résultats **II**D).

Enfin, l'AC, comme l'ensemble du système nerveux central, n'est pas constitué que de neurones. Des cellules de support, appelées cellules gliales, sont indispensables au fonctionnement de neurones. Ces cellules sont aussi nombreuses que les neurones (von Bartheld et al. 2016). Cependant, leur développement dépasse le cadre de ce travail. J'aborderai certains aspects du développement des cellules gliales dans la Discussion à partir de la page 185 lorsque cela sera nécessaire pour comprendre certains de mes résultats.

b. Développement fonctionnel

Le développement fonctionnel de l'ensemble des systèmes sensoriels est sous le contrôle des expériences vécues. Ainsi, à partir du moment où les récepteurs sensoriels deviennent fonctionnels, l'environnement acoustique, visuel et tactile façonne le système nerveux central et particulièrement les cortex sensoriels correspondant. Cependant, cette influence est surtout prépondérante durant certaines périodes du développement, appelées périodes critiques (ou périodes sensibles selon les auteurs) (Kral et Pallas 2011; de Villers-Sidani et Merzenich 2011). Kral et Pallas (2011) définissent une période critique en ces termes : « période durant laquelle un stimulus spécifique est requis pour le développement normal, la préservation ou la récupération d'une fonction neuronale et durant laquelle le système sensoriel est vulnérable aux manipulations sensorielles ». Autrement dit, une période critique correspond à un moment pendant lequel la plasticité (dans notre cas la plasticité corticale) est maximale :

les microcircuits neuronaux y ont la capacité à se réorganiser rapidement en cas de modification de leur environnement.

L'AC n'échappe pas à cette règle : l'exposition passive aux sons durant certaines périodes du développement entraîne des modifications dans les microcircuits neuronaux, provoquant ainsi la maturation du système auditif et l'apparition des différentes capacités de perception et d'analyse des sons. Chez le rat et la souris, l'audition n'apparaît que 11 à 12 jours après la naissance, la cochlée étant auparavant immature (Alford et Ruben 1963; de Villers-Sidani et Merzenich 2011). Les aires primaires de l'AC sont fonctionnelles dès ce moment, mais les sons auxquels les jeunes sont exposés les premiers jours suivant l'apparition de l'audition provoquent des modifications structurelles, parmi lesquelles on trouve des modifications synaptiques (renforcement ou dépression synaptique) ou encore la mise en place de la gaine de myéline (de Villers-Sidani et Merzenich 2011). Ces modifications structurelles conduisent à l'organisation de la tonotopie corticale, sous l'égide de l'organisation de la connectivité cortico-corticale et thalamo-corticale (Barkat et al., 2011), le développement de capacités de résolutions et de discrimination fréquentielle et temporelle, ou encore de détection d'une source sonore (de Villers-Sidani et Merzenich 2011; Sanes et Woolley 2011).

Il existe plusieurs périodes critiques au cours du développement selon le paramètre étudié (**Figure 24**). Ainsi, chez le rat et la souris, plusieurs études (Zhang et al. 2001; de Villers-Sidani et al. 2007; Barka et al. 2011; Nakamura et al. 2020) ont montré que l'organisation tonotopique de A1 est fixée dans les trois jours qui suivent l'apparition de l'audition, soit à la fin de la deuxième semaine de vie, tandis qu'il faut attendre la cinquième semaine de vie pour que certaines propriétés temporelles des neurones de A1 soient matures (Chang et al. 2005; Bhumika et al. 2020). Durant ces périodes, toute exposition à des environnements bruyants modifie la durée des périodes critiques ce qui peut ainsi altérer les propriétés physiologiques des neurones pyramidaux chez l'adulte (Chang et Merzenich 2003; de Villers-Sidani et al. 2008) et donc la capacité de ce dernier à percevoir différentes caractéristiques spectrales ou fréquentielles de son environnement sonore (Han et al. 2007).

Enfin, le rôle de l'inhibition dans ce développement fonctionnel de l'AC est primordial. Ce sont les propriétés inhibitrices des microcircuits corticaux qui sont principalement affectées par les expériences sensorielles et permettent la mise en place progressive des différentes propriétés fréquentielles et temporelles de l'AC (Dorn et al. 2010; Isaacson et Scanziani 2011; Cai et al. 2017). La manipulation expérimentale des populations d'interneurones permet de modifier les différentes périodes critiques du développement de l'AC (Takesian et al. 2018b).

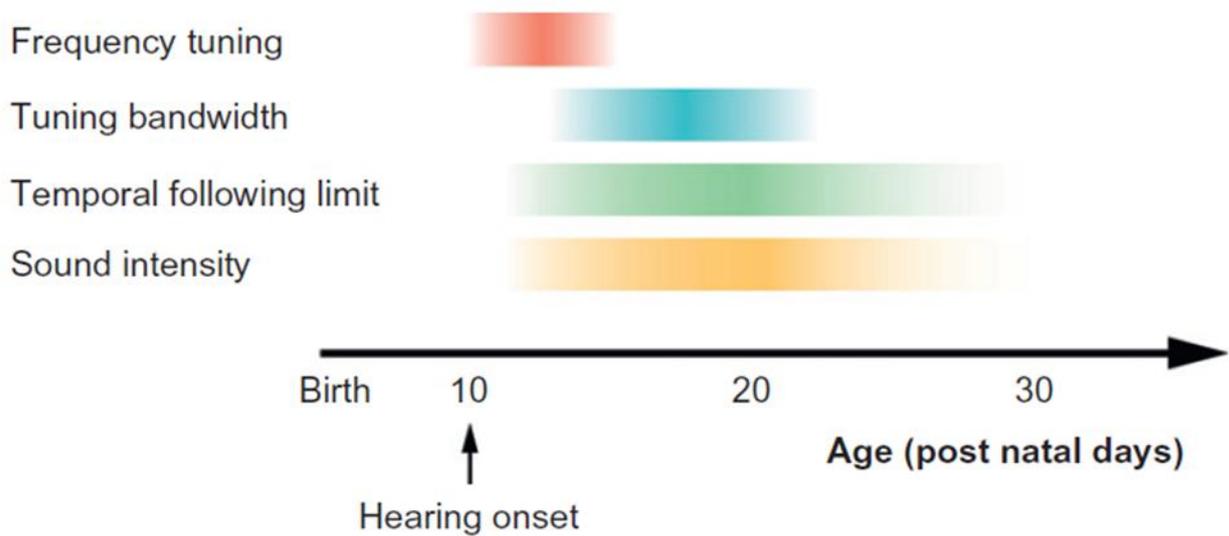


Figure 24 : Succession de certaines périodes critiques du développement de l'aire primaire A1 chez le rat

Succession de certaines périodes critiques chez le rat. *Frequency tuning* : accord en fréquence. *Tuning bandwidth* : accord de la largeur de bande, c'est-à-dire la gamme de fréquence à laquelle le neurone mature va répondre. *Sound intensity* : intensité à laquelle va répondre le neurone mature. *Temporal following limit* : capacité d'adaptation d'un neurone à un stimulus répété. *Hearing onset* : début de l'audition. Age indiqué en jour post-natal.

Adapté de de Villers-Sidani et Merzenich 2011.

III) Les surdités, des déficits auditifs périphériques aux conséquences centrales

« Surdité » est un terme générique qui désigne la diminution de la perception auditive. Elle est principalement liée à un dysfonctionnement de la cochlée et du nerf auditif (origine périphérique) mais peut aussi venir de déficits des noyaux auditifs (origine centrale). Ce handicap est un problème de santé publique majeur à l'échelle mondiale : une personne sur cinq souffre de perte auditive (Haile et al. 2021). Plus particulièrement, un demi-milliard de personnes souffre de pertes auditives invalidantes (perte supérieure à 30 dB chez l'enfant et 40 dB chez l'adulte) et ce chiffre devrait doubler d'ici à 2050. Les conséquences économiques annuelles des déficiences auditives non prises en charge sont évaluées à 750 milliards de dollars US (OMS 2021). Le risque le plus important concerne les jeunes : l'OMS estime qu'un milliard d'entre eux sont trop exposés au bruit dans un cadre récréatif et 60% des déficiences auditives chez l'enfant auraient pu être évitées (OMS 2021). L'absence ou la perte d'une audition normale impacte fortement la vie des patients touchés : difficultés d'acquisition du langage, de scolarisation, d'accès à l'emploi, diminution des interactions sociales jusqu'à l'isolement, etc. De plus, il existe un lien entre déficience auditive périphérique et déficits centraux auditifs. D'une part, et avant tout, de manière indirecte, car le fonctionnement de la cochlée est nécessaire au développement des voies auditives centrales : les informations auditives transmises par la cochlée et le nerf auditif sont absolument nécessaires à la maturation des circuits auditifs centraux. D'autre part, de manière directe : un certain nombre de gènes responsables de surdité périphérique ont aussi un rôle intrinsèque dans le système nerveux central (Michalski et Petit 2019). Cependant, l'exploration du rôle central de ces gènes est difficile, les déficits centraux étant le plus souvent masqués par les déficits périphériques. Enfin, les déficits auditifs, quel que soit leur origine, ont un impact sur l'ensemble du système nerveux central : ralentissement du développement cognitif, du développement du langage, accélération du vieillissement cognitif (Jayakody et al. 2018; Sardone et al. 2019; Lieu et al. 2020; Knipper et al. 2022; De Vis et al. 2022), ou association directe avec des pathologies neurologiques ou psychiatriques (Lin et al. 2011; Li et al. 2014; Domanico et al. 2015; Zenisek et al. 2015; Anomal et al. 2015; Zinnamon et al. 2019; Alvarado et al. 2021). Ainsi, s'il existe des solutions thérapeutiques pour lutter contre les surdités, la réhabilitation auditive ne pourra être complète que si les conséquences des déficits auditifs sur le système nerveux central sont connues, ce qui n'est actuellement pas le cas.

A. Les différents types de surdités

Une première classification, basée sur le degré de perte auditive en décibels (dB), distingue quatre catégories de surdité : légère, modérée, sévère et profonde. La surdité est dite légère pour une perte de 20 à 40 dB, et les conversations en milieu bruyants deviennent difficiles. Les surdités modérées ont une perte comprise entre 41 et 70 dB, rendant les conversations difficiles, même en milieu calme. La surdité sévère concerne une perte auditive de 71 à 90 dB et la surdité profonde rend compte d'une perte de plus de 90 dB.

La deuxième classification est physiopathologique. On distingue ainsi deux catégories :

- Les surdités de transmission, dues à une atteinte de l'oreille externe (otématome du pavillon, bouchon de cérumen dans le conduit auditif, etc.) ou de l'oreille moyenne (otites, lésions des osselets). La perte auditive est généralement légère et peut être réversible.
- Les surdités neurosensorielles, dues à un défaut de fonctionnement des cellules ciliées ou du nerf auditif. Ces surdités, appelées aussi surdités de perception, peuvent être congénitale ou acquises. Elles sont le plus souvent irréversibles.

Il est possible de cumuler sur la même oreille une surdité de transmission et une surdité de perception ; on parle alors de surdité mixte.

D'autres classifications des surdités peuvent aussi être faites : présentes dès la naissance (congénitales) ou progressives, apparaissant avant ou après l'acquisition du langage (appelées respectivement surdité pré- ou post-linguale), environnementales ou héréditaires. De plus, si les surdités sont dans l'immense majorité des cas des déficits auditifs périphériques marqués par des dysfonctionnements de l'oreille ou du nerf auditif, il existe une surdité dite centrale, pour laquelle l'atteinte périphérique n'est pas suffisante pour expliquer l'absence de perception auditive des patients touchés (Musiek et al. 2019). Ce type de surdité est provoqué par des lésions des centres auditifs supérieurs comme l'AC.

La **Figure 25** résume les différents types de surdités et leurs causes principales.

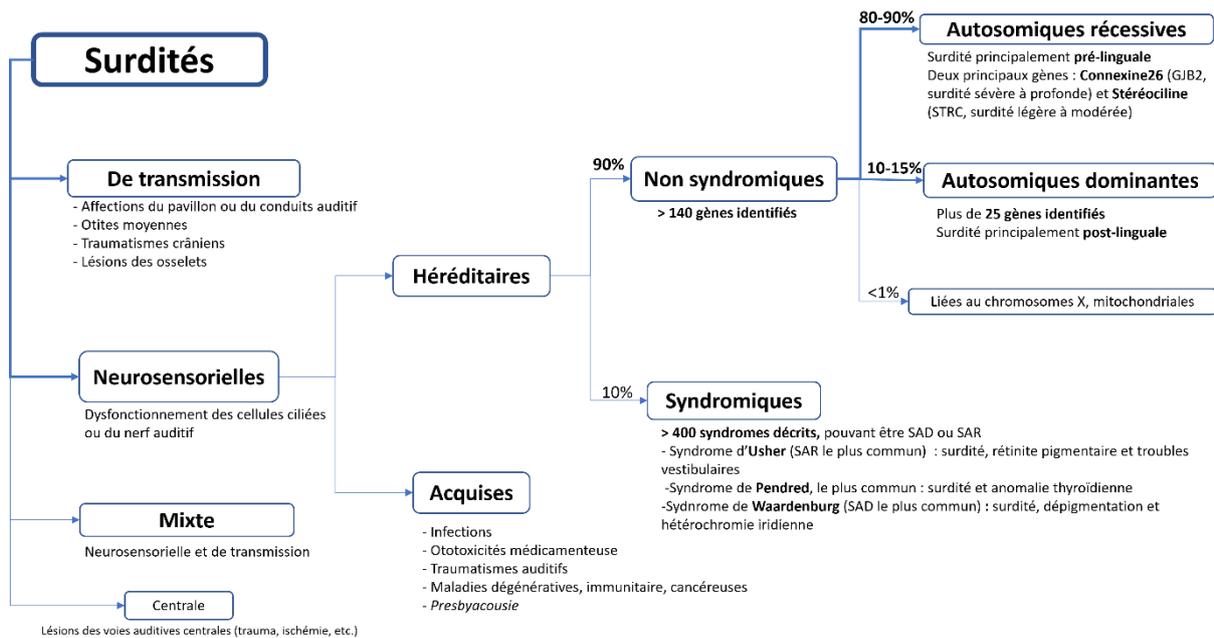


Figure 25 : Classification des surdités
D'après Shearer et al.,1993.

Enfin, parmi les surdités de perceptions acquises se trouve un cas particulier : la presbycusis. Ce terme désigne la surdité progressive liée à l'âge. Au cours du vieillissement « normal », les cellules ciliées et les neurones ganglionnaires dégèrent progressivement. Comme ces types cellulaires ne se régèrent pas, la presbycusis évolue irrémédiablement avec l'âge. La perte auditive affecte préférentiellement les hautes fréquences. Trois mécanismes physiopathologiques ont été identifiés, qui peuvent chacun être plus ou moins présents dans la presbycusis au niveau individuel : une dégénérescence de l'organe de Corti (presbycusis sensorielle), du ganglion spiral (presbycusis neurale), de la strie vasculaire (presbycusis métabolique). Toutefois, la presbycusis reste un phénomène complexe et multifactoriel pour lequel interagissent des facteurs génétiques (certaines mutations responsables de surdités génétiques non syndromiques sont aussi liées à la presbycusis) et environnementaux (notamment l'expositions à des sons très intenses) (Jayakody et al. 2018; Boucher et al. 2020).

B. Les déficits auditifs périphériques ont des conséquences importantes sur le système nerveux central

1. Les déficits centraux associés aux déficits auditifs périphériques

Comme nous venons de le voir, les surdités sont majoritairement liées à des déficits fonctionnels de la cochlée et du nerf auditif. Ces déficits auditifs périphériques ont des conséquences importantes à la fois sur le système auditif central et sur d'autres régions cérébrales, altérant les fonctions auxquelles elles sont associées.

D'une part, les déficits auditifs périphériques ont un impact indirect sur le système auditif central : toute déprivation auditive implique une réorganisation des circuits centraux en réponse à la diminution ou l'absence de transmission de signaux périphériques. En particulier, les surdités congénitales, ou les surdités acquises précocement, altèrent le développement anatomique et fonctionnel des circuits auditifs centraux permis par l'exposition à des sons au cours des périodes critiques du développement cérébral (de Villers-Sidani et Merzenich 2011; Kral et al., 2013, 2019; Schreiner et Polley 2014; Glennon et al., 2020) ou par l'activité spontanée modifiée du nerf auditif (Leao et al. 2006; Clause et al. 2014). De plus, les surdités post-linguales comme la presbyacousie provoquent aussi des troubles de traitement du signal auditif dans les relais centraux, se traduisant notamment par des difficultés à comprendre la parole dans un environnement bruyant (Sardone et al. 2019) ou par des acouphènes (Tan et al. 2013). Certains de ces troubles auditifs centraux ont des conséquences fonctionnelles avant même que la perte auditive périphérique ne soit quantifiable par les tests audiométriques classiques : on parle alors de perte auditive cachée (*hidden hearing loss*). Chez l'humain, cela se traduit par exemple par des difficultés à comprendre la parole dans un environnement bruyant malgré des seuils auditifs normaux. Cette perte auditive cachée semble être provoquée par des modifications progressives de l'activité spontanée ou évoquée des fibres du nerf auditif due à une synaptopathie, une démyélinisation ou encore un dysfonctionnement des cellules ciliées (Kohrman et al. 2020).

D'autre part, les conséquences des déficits auditifs dépassent largement le système auditif. Chez les patients atteints de surdité congénitale, les processus d'attention, la mémoire de travail ou encore la coordination motrice fine sont modifiées (Kral et O'Donoghue 2010). Certaines surdités syndromiques sont associées à des troubles psychiatriques : par exemple, des patients atteints du syndrome d'Usher présentent aussi des symptômes de la schizophrénie et d'autres symptômes psychotiques (Domanico et al. 2015), et des patients atteints du syndrome de Pendred présentent aussi des troubles bipolaires (Chauhan et al. 2014). Chez les patients

atteints d'acouphènes, des altérations structurelles et fonctionnelles de certaines régions non auditives (notamment les cortex pré-frontal, pariétal et cingulé), ainsi que des modifications des connexions entre les zones auditives et les zones impliquées dans l'attention, ont été observées (Shore et al., 2016). Un autre exemple d'altération centrale est l'association d'une perte auditive au milieu de la vie à un risque accru (de 2 à 5 selon la sévérité de la perte auditive) de développer plus tard une démence par rapport aux personnes ne présentant aucune perte auditive (Lin et al. 2011). L'une des hypothèses pouvant expliquer ce lien fait intervenir le système vasculaire cérébral, très dense dans les noyaux auditifs centraux. Il a été notamment montré que cette densité est plus faible chez des animaux atteints de surdité congénitale (Kirst et al. 2020). Or, le système vasculaire est impliqué dans la physiopathologie des processus de dégénération neuronale de nombreuses formes de démences (Wiesmann et al., 2013; Rius-Pérez et al. 2018). Ainsi, la diminution de la densité vasculaire consécutive à une perte auditive favoriserait la dégénération neuronale à l'origine de ces démences. La perte auditive est un facteur de risque d'autres troubles psychiatriques, comme la schizophrénie (Zinnamon et al. 2019) et favorise une dégradation de la santé mentale chez les personnes atteintes (Jiang et al. 2020; Bigelow et al. 2020). Pour finir, les déficits auditifs entraînent une réorganisation des circuits neuronaux d'autres systèmes sensoriels. Cette plasticité intermodale permet au système nerveux central d'utiliser les aires auditives pour d'autres processus sensoriels, contrebalançant ainsi en partie la perte auditive. C'est notamment le cas du système visuel, dont les circuits centraux occupent progressivement les aires dédiées initialement à l'audition en cas de déficits auditifs (Sharma et Mitchell 2013).

Enfin, certains gènes responsables du développement et fonctionnement de la cochlée, dont des mutations entraînent des surdités héréditaires, ont aussi un rôle indépendant dans les voies auditives centrales.

2. Des gènes de surdité nécessaires au développement du système nerveux central

Environ la moitié des surdités moyennes à profondes a pour origine des mutations dans certains gènes, appelés « gènes de surdité ». Si plusieurs centaines de ces gènes ont déjà été identifiés, un rapport du Consortium international de phénotypage de la souris (*International Mouse Phenotyping Consortium*) suggère que 350 à 400 gènes responsables de déficits auditifs restent à identifier (Bowl et al. 2017). Dans le système auditif périphérique, ces gènes ont surtout pour rôle le développement et le fonctionnement de la cochlée et du nerf auditif. Cependant, certains de ces gènes n'ont pas qu'un rôle périphérique : ils sont aussi impliqués

dans le développement et le fonctionnement du système nerveux auditif central. Leur rôle « central » a longtemps été ignoré. En effet, les troubles centraux auditifs sont difficiles à étudier chez l'humain, où ils sont souvent masqués par l'atteinte cochléaire. La compréhension du double rôle périphérique et central de certains gènes est cependant essentielle pour que la réhabilitation auditive soit efficace. En effet, restaurer le fonctionnement normal de la cochlée par thérapie génique ou implant cochléaire ne permettra pas aux patients de retrouver une perception auditive si des déficits auditifs centraux persistent et ne sont pas pris en compte. Ces gènes de surdité au double rôle périphérique et central codent pour une grande variété de protéines : des facteurs de transcription (facteurs homéotiques Hox, Gata3), des molécules de signalisation (Wnt, IGF1, ephrin), des canaux ioniques et protéines effectrices (Kcnq4, vglut3) ou encore des molécules d'adhérence (cdhr23, pcdh15) (Willaredt et al., 2014; Michalski et Petit 2019). Ils peuvent être distingués en deux catégories :

- Les gènes impliqués dans le développement précoce du rhombencéphale et de la cochlée. Ce sont généralement des gènes impliqués dans de très nombreux processus moléculaires et cellulaires. Leur inactivation chez la souris ou des mutations chez l'humain provoquent de sévères déficits dans le système nerveux central (comme les gènes homéotiques *HOX*, indispensables à la segmentation du tube neural en rhombomères) associés ou non à des anomalies dépassant le système nerveux (par exemple *GATA3*, responsable du syndrome de Barakat, caractérisé par un hypoparathyroïdisme une atteinte rénale et une surdité neurosensorielle).
- Les gènes impliqués dans le développement tardif et le fonctionnement de la cochlée, en particulier des gènes clés dans les structures hautement spécialisées de la synapse à ruban et la touffe ciliaire. Parmi eux, on trouve les deux gènes codant pour les protéines des *tip-links*, *cdhr23* et *pcdh15*. Indispensable à la formation de la touffe ciliaire ainsi qu'à la transduction mécano-électrique, notre équipe a montré que ces gènes seraient également exprimés dans des progéniteurs neuraux au cours du développement embryonnaire et leur inactivation chez la souris a pour conséquence une diminution à l'âge adulte de 50% d'un type de neurones inhibiteurs, les interneurons à parvalbumine (Libé-Philippot et al. 2017).

Le **Tableau 1** regroupe les principaux gènes au double rôle central et périphérique.

Protéine/microARN	Fonction dans la cochlée	Fonction dans le système central auditif
Hox-a1, -a2, -b1, -b2	Effets indirects	Segmentation antéroventrale des rhombomères
Wnt1, Wnt3a	Effets indirects	Segmentation dorsoventrale des rhombomères
mafB	Effets indirects et rôles directs dans la formation des densités postsynaptiques dans les SGNs	Formation de r5 et r6
Krox20	Effets indirects, expression dans les cellules de Schwann	Formation de r3 et r5
Gata3	Signalisation des gènes prosensoriels, différenciation et maturation des cellules ciliées et connexion des SGN.	Formation du système olivocochléaire efférent et expression dans le tronc cérébral auditif
chd7	Formation précoce de l'oreille interne	Segmentation précoce des rhombomères et formation de l'IC
IGF1	Développement de la stria vascularis, de la membrane tectoriale et des SGNs.	Rôle dans le tronc cérébral auditif à confirmer
miR-96	Formation et maturation des cellules ciliées et des SGNs	Maturation du CN et du SOC
atoh1	Différenciation, maturation et survie des cellules ciliées	Formation du VCN, du DCN et d'un type de cellule glutamatergique du MSO et du LSO.
neurog1	Différenciation des SGNs	Exprimé dans le CN, le LL, le IC, le cortex et une grande partie du thalamus.
neurod1	Différenciation des SGNs	Formation du DCN
bhlhb5	Exprimé dans les SGN	Exprimé dans l'AC
Eph-A7, -B1, -B2, -B3, ephrin-A4, -A5, -B1	Connexion des SGN	Connexion et tonotopie de tous les noyaux auditifs
piccolino and piccolo	Ancrage des rubans à la membrane plasmique	Renouvellement des vésicules synaptiques
bassoon	Ancrage des rubans à la membrane plasmique	Renouvellement des vésicules synaptiques
vglut3	Transporteur vésiculaire du glutamate des synapses à ruban	Maturation de la synapse entre MNTB et LSO
Cav1.3	Canal calcique présynaptique de la synapse à ruban	Maturation des noyaux du tronc cérébral auditif
pcdh15	<i>Tip-links</i> de la touffe ciliaire	Précurseurs d'interneurones de l'AC ?*
cdhr23	<i>Tip-links</i> de la touffe ciliaire	Précurseurs d'interneurones de l'AC ?*
Adgrv1	<i>Ankle links</i> de la touffe ciliaire	Exprimé dans la glie radiale de l'AC et dans les oligodendrocytes de l'IC
Kcnq4	Rectificateur entrant K+ (cellules ciliées et SGNs)	Canal rectificateur ascendant K+ exprimé du CN à l'IC
KCC2	Exprimé dans les SGNs	Excitabilité des neurones inhibiteurs du LSO
NKCC1	Exprimé dans la stria vascularis	Excitabilité des neurones inhibiteurs du LSO
parvalbumin	Tampon calcique (cellules ciliées et SGNs)	Tampon calcique (du CN vers le MGB et les interneurones de la parvalbumine dans l'AC)

*Le rôle des protéines cdhr23 et pcdh15 dans le développement et le fonctionnement du système auditif central sera discuté en détail

AC : cortex auditif ; CN : noyaux cochléaires ; DCN : noyau cochléaire dorsal ; IC : colliculus inférieur ; LL : lemnisque latéral ; LSO : noyau olivaire latéral ; MGB : corps genouillé median ; MNTB : noyau median du corps trapézoïde ; MSO : noyau olivaire median ; SGN : neurone du ganglion spiral ; SOC : complexe olivaire supérieur ; VCN : noyau cochléaire ventral

Tableau 1 : Liste des microARN et des protéines communs au système auditif périphérique et central

Reproduit d'après Michalski et Petit 2019.

3. Des déficits auditifs sans atteinte périphérique : les troubles de l'audition centrale

Dans certains cas, des troubles de la perception auditives touchent des patients sans qu'aucun défaut au niveau de l'oreille ne puisse être diagnostiqué, et sans qu'il y ait d'antécédents de traumatiques crâniens ou de lésions évidentes des voies auditives centrales. Ces déficits auditifs centraux, appelés aussi troubles de l'audition central (*central auditory processing disorders* ou *auditory processing disorders* en anglais) sont méconnus et il n'y a pas encore de consensus sur l'évaluation, le diagnostic ou le traitement de ces troubles (Heine et O'Halloran 2015). Chez les enfants, ils sont associés à la dysphasie (les troubles de l'acquisition

du langage) et se manifestent par des difficultés à différencier des sons semblables, affectant leur capacité à comprendre le langage, ainsi qu'à identifier un objet auditif dans un environnement bruyant et à localiser une source sonore (Lussier 2022). Ils sont aussi retrouvés dans de nombreuses pathologies neuropsychiatriques comme l'autisme, la schizophrénie, ou les troubles bipolaires (Zenisek et al. 2015; Ocak et al. 2018; Moschopoulos et al. 2020), des pathologies déjà associées aux surdités périphériques héréditaires (Domanico et al. 2015; Chauhan et al. 2014, voir aussi ci-dessous **III**B.1). L'étude du rôle central des gènes de surdité pourrait donc apporter une précieuse aide à la compréhension des mécanismes à l'origine de ces troubles auditifs centraux et de leur rôle dans la physiopathologie de certaines maladies neuropsychiatriques.

C. Les traitements des déficits auditifs nécessitent la prise en compte des déficits centraux

Les principaux outils thérapeutiques actuellement utilisés pour restaurer l'audition ne visent qu'à compenser ou rectifier les dysfonctionnements de la cochlée. Or, nous venons de voir que quel que soit le type de surdité, le problème n'est pas uniquement lié à la cochlée puisque les voies auditives centrales sont aussi atteintes. La réorganisation des circuits sensoriels centraux en réponse à l'absence de stimuli périphériques, la concomitance de déficits intrinsèques du système auditif central dans les formes de surdités héréditaires et leur réversibilité constituent un défi thérapeutique majeur. Certaines études chez l'animal montrent que l'absence, même transitoire, de stimulation auditive modifie des propriétés des cellules corticales chez l'adulte comme le taux de décharge ou certaines propriétés membranaires (Mowery et al., 2015). Cependant, chez l'humain, la pose précoce d'aides auditives, avant la fermeture des périodes critiques de développement chez l'enfant, ou dès les premiers signes de pertes auditives liées à l'âge, permet de minimiser l'impact indirect de la privation sensorielle sur le système auditif central, malgré des résultats encore très variables sans que l'on comprenne exactement pourquoi (Peterson et al., 2010).

L'une des hypothèses pouvant expliquer la faible efficacité de la restauration de l'audition périphérique sur les capacités auditives des patients souffrant de surdités héréditaires tient au double rôle de certains gènes, indispensables à la fois au développement et fonctionnement de la cochlée mais aussi du système auditif central. Si le rôle de ces gènes dans la cochlée est bien décrit dans la littérature, les connaissances actuelles sur leur rôle central ainsi que les conséquences des mutations sur le traitement de l'information auditive sont éparpillées. Prenons l'exemple de l'un des gènes codant les protéines de *tip-links* de la touffe ciliaire :

PCDH15. Chez la souris, en plus de la cochlée, *Pcdh15* serait exprimé dans des progéniteurs neuraux au cours du développement embryonnaire et son inactivation entraînerait une réduction de 50% du nombre de neurones inhibiteurs exprimant la parvalbumine dans l'AC (Libé-Philippot et al. 2017). L'impact fonctionnel de l'absence d'une partie de ces neurones est inconnu, mais il pourrait expliquer les troubles de perception de la parole chez des patients ayant des implants cochléaires pour lesquels des mutations pathologiques de *PCDH15* ont été rapportées (Wu et al. 2015).

D. L'identification des déficits auditifs centraux chez les rongeurs

Le diagnostic des troubles centraux auditifs repose chez l'humain sur des techniques de diagnostic non invasives, et l'une de ces techniques consiste à mesurer les potentiels évoqués auditifs corticaux (CAEPs). Ceux-ci sont mesurés par électroencéphalographie, qui consiste à enregistrer l'activité cérébrale à travers le scalp et offre la possibilité de se focaliser sur les zones auditives supérieures. En particulier, la stimulation par des « clics » induit une réponse sous formes de deux ondes dont les générateurs les plus probables sont le thalamus auditif et l'AC primaire (Musiek et al., 2018; Picton et al. 1974). Ces ondes dites « de latence plus longue » N1/P2/N2 sont visibles à environ 100/180/300 ms après la stimulation sonore respectivement, et reflètent un traitement de l'information d'ordre supérieur impliquant les ACs primaire, secondaire et associatif (Godey et al. 2001; Tremblay et Burkard 2012). Ces CAEPs ont déjà été largement utilisés dans les études humaines pour évaluer la pharmacodynamique, les lésions corticales, le traitement sensoriel et les déficits et résultats cliniques sur la fonction corticale auditive (Davies, Chang, et Gavin 2010; Ibañez, Deiber, et Fischer 1989; J. M. Johnson 2009; Litscher 1995; Supp et al. 2018; Winkler, Denham, et Escera 2013).

En revanche, chez les rongeurs, et en particulier les modèles murins, l'identification de déficits centraux reposent sur la combinaison d'études anatomiques, fonctionnelles, et comportementales. Cela permet d'explorer finement l'origine et les conséquences des déficits centraux, à l'échelle d'une synapse, d'un neurone, ou d'un ensemble de neurones (ce qui est quasiment impossible chez l'humain pour des raisons éthiques et pratiques), mais aussi de faire le lien entre les déficits neurologiques et leurs conséquences comportementales. En effet, les études anatomiques et fonctionnelles nécessitent souvent l'utilisation de techniques invasives (par exemple, l'implantation d'électrodes intracrâniennes) pouvant aller jusqu'à la mise à mort de l'animal. De plus, si elles permettent d'identifier avec précision des déficits centraux, leur mise en place et leur maîtrise reste difficile car elles nécessitent une excellente technique

chirurgicale, du matériel de mesure coûteux et complexe à utiliser, et dans la plus grande majorité des cas, celle-ci conduit à la mise à mort de l'animal.

Etonnamment, chez les souris, l'utilisation des CAEPs est limitée, et ces derniers sont souvent mesurés à la surface du cortex (CAEPs épiduraux) et donc nécessitent une chirurgie (Farley et al. 2019; Metzger et al. 2007; O'Reilly et Conway 2021; Siegel et al. 2003). La mesure sous-cutanée est peu utilisée alors même que c'est une technique peu invasive, et proche de ce qui se fait chez l'humain. L'utilisation d'une telle technique permettrait par exemple d'étudier les conséquences de la restauration des fonctions auditives périphériques sur le système auditif central chez des modèles murins de surdité, comme cela est déjà pratiqué après la mise en place d'implants cochléaires chez des enfants (Sharma et al.,2015).

Ainsi, le développement de méthodes non invasives ou encore l'amélioration de notre compréhension des sons chez le modèle murin constituent une étape importante afin d'étudier avec rigueur et précision les troubles auditifs centraux chez la souris et pouvoir facilement les comparer avec les résultats obtenus chez l'humain. Au cours de ma thèse, j'ai cherché à apporter ma contribution à cette importante étape : mon travail sera présenté dans la partie Résultat **(Publication n°1)**.

IV) Les troubles auditifs centraux, point d'entrée pour l'étude de l'hyperexcitabilité du système nerveux central

A. Hyperexcitabilité, troubles neurologiques et audition

L'hyperexcitabilité est caractérisée par une excitation excessive d'un circuit neuronal, soit spontanée, soit en réponse à un stimulus externe. C'est une conséquence de la perturbation de l'équilibre excitation-inhibition à la base du fonctionnement des circuits neuronaux. Chez l'humain, de nombreuses pathologies neurologiques, neuromusculaires ou encore cardiaques sont associées à un état d'hyperexcitabilité.

1. L'hyperexcitabilité des voies auditives centrales

Les déficits auditifs périphériques et centraux sont souvent marqués par une augmentation de l'excitabilité des voies auditives centrales (Herrmann et Butler 2021; Knipper et al. 2022). Cette hyperexcitabilité peut se traduire par une augmentation de l'activité spontanée des neurones d'un ou plusieurs noyaux auditifs, ou par une augmentation des réponses des neurones à un son, et survient aussi bien dans les cas de pertes auditives traumatiques, congénitales, ou progressives au cours du vieillissement (Kral et al., 2013; Herrmann et Butler 2021). L'hyperexcitabilité serait ainsi une réponse à la diminution de l'activité synaptique du nerf auditif qui permettrait d'augmenter le gain central, compensant ainsi la perte d'audition périphérique. Elle peut aussi être liée à un défaut de maturation des circuits auditifs dans le cas de surdité congénitale en raison de l'absence d'exposition sonore, critique pour le développement et la maturation des connexions synaptiques inhibitrices (Knipper et al. 2022). L'hyperexcitabilité est également présente dans les troubles de la perception auditive que sont les acouphènes et l'hyperacousie (A. Sheppard et al. 2020). Ces deux troubles souvent présents ensemble chez l'humain, avec ou sans surdité, suggèrent d'une part une origine commune et d'autre part la possibilité d'une origine centrale sans lien avec la présence de défaut d'audition (Hébert et al. 2013). Enfin, l'hyperactivité des voies auditives affecterait les processus d'analyse fréquentielle, spatiale et temporelle, et aurait donc des conséquences sur la compréhension de sons complexes comme la parole chez l'humain ou l'identification d'une information pertinente dans un environnement bruyant (Herrmann et Butler 2021).

2. L'hyperexcitabilité neuronale est présente dans de nombreux troubles neurologiques

Ce défaut dans l'équilibre excitation-inhibition des voies auditives expliquerait aussi les troubles de la perception (hyperacousie, acouphènes, hallucinations auditives, difficulté de compréhension de la parole) retrouvés dans de nombreuses pathologies psychiatriques comme l'autisme, la schizophrénie ou les troubles bipolaires dans lesquels on postule justement un déséquilibre excitation-inhibition (Anomal et al. 2015; Nakao et Nakazawa 2014; Smiley et al. 2016; Zenisek et al. 2015). L'un des principaux troubles neurologiques associés à une hyperexcitation neuronale est l'épilepsie. C'est un trouble clinique défini par la répétition de crises épileptiques. Une crise épileptique est caractérisée par une hyperactivité paroxystique et synchrone d'un groupe de neurones pouvant se propager à l'ensemble du cerveau (« Sémiologie des crises épileptiques » 2016). L'épilepsie est une pathologie complexe marquée par différentes présentations cliniques : la crise convulsive, associant des spasmes musculaires à une perte de conscience pouvant durer de quelques secondes à plusieurs minutes, en est l'une des plus connues. Si dans la plupart des syndromes épileptiques, les crises surviennent spontanément, elles peuvent parfois être provoquées : on parle de crises réflexes. Ces dernières sont déclenchées par différents types de stimulations que l'on peut diviser en 2 catégories. La première catégorie regroupe les stimuli dits « simples », déclenchant une crise en quelques secondes voire minutes, qui comprennent des stimuli visuels, principaux déclencheurs des crises réflexes chez l'humain, des stimuli tactiles, thermiques ou encore auditifs chez l'animal. La deuxième catégorie regroupe des stimuli dits « complexes », pouvant déclencher une crise en quelques minutes à quelques heures, notamment par des processus cognitifs (lecture, écriture, arithmétiques) et émotionnels intenses. Ceux-ci sont bien présents chez l'humain mais difficiles à mettre en évidence chez l'animal (Wolf et Koepp 2012; Italiano et al. 2016). La complexité de l'épilepsie rend l'utilisation de modèles animaux importante pour en comprendre les mécanismes, identifier les facteurs de prédisposition ou encore tester des molécules antiépileptiques (Scharfman 2007; Italiano et al. 2016; De Sarro et al. 2017). De plus, l'épilepsie est associée à de nombreuses pathologies neuropsychiatriques : maladie d'Alzheimer, autisme, schizophrénie, ou encore troubles psychotiques. Ces pathologies sont des facteurs de risque de l'épilepsie, mais le lien est parfois réciproque puisque l'épilepsie peut également favoriser certains troubles psychiatriques (Friedman et al., 2011; Kanner et al. 2017; Scharfman et al. 2018). Il n'est donc pas surprenant que certaines de ces pathologies présentent aussi une hyperexcitabilité dans certaines régions corticales ou sous-corticales, comme la maladie

d'Alzheimer, (Hector et Brouillette 2021), les troubles du spectre autistique (Knipper et al. 2022) ou encore les schizophrénies (Webler et al. 2020).

Enfin, il est frappant de constater que la plupart des troubles mentaux cités sont aussi associés à des altérations du traitement des sons par le système auditif central. Les modèles animaux présentant des déficits auditifs, et en particulier les rongeurs, sont donc particulièrement utiles non seulement pour comprendre les mécanismes centraux propres à l'audition, mais aussi pour comprendre certains processus pathologiques complexes à l'origine des troubles neurologiques évoqués ci-dessus, et très difficiles à identifier chez l'humain.

3. Les neurones inhibiteurs, acteurs majeurs de l'hyperexcitabilité

Une hyperexcitabilité peut survenir de deux manières : une diminution de l'inhibition ou une augmentation de l'excitation neuronale. Les neurones GABAergiques, principaux neurones inhibiteurs dans le cortex, semblent jouer un rôle prépondérant dans de très nombreux déficits centraux présentant une hyperexcitabilité. En effet, une altération des dendrites et synapses des neurones GABAergiques a été retrouvée dans la maladie d'Alzheimer (Bi et al. 2020). Des troubles dépressifs ont été associés à une diminution de la densité des neurones inhibiteurs exprimant la parvalbumine dans les zones sensorielles et l'AC en particulier (Smiley et al. 2016). De plus, chez la souris, l'inactivation du gène codant la parvalbumine a été décrite comme altérant les transmissions synaptiques inhibitrices et excitatrices (Wöhr et al. 2015), reproduisant les anomalies comportementales caractéristiques des troubles du spectre autistique (défauts d'interaction sociale, difficultés à communiquer, ou encore comportements stéréotypés et répétés). En outre, si l'épilepsie peut être associée à un dysfonctionnement des neurones excitateurs (par exemple, une surexpression des synapses glutamatergiques (Scharfman 2007; Dulac et al. 2013), la diminution du nombre de neurones GABAergiques ainsi que des altérations fonctionnelles (déficits de connectivité, déficits des canaux ioniques voltages dépendants, etc) sont retrouvés dans de nombreux syndromes épileptiques humains, et dans la plupart des modèles d'épilepsie acquise ou génétique (Houser 2014). Notamment, la manipulation optogénétique de l'activité des différentes populations de neurones inhibiteurs indiquent que les neurones inhibiteurs jouent un rôle central dans les mécanismes épileptiques en réduisant la probabilité d'apparition et la propagation des crises, mais que certaines sous-populations peuvent aussi être à l'origine d'une hyperactivité des microcircuits neuronaux car elles inhibent d'autres neurones inhibiteurs ; leur activation entraîne donc une désinhibition des circuits excitateurs, favorisant l'apparition de crises (Ye et Kaszuba 2017). Enfin, au cours du développement, les neurones GABAergiques auraient d'abord une action excitatrice due à la

forte concentration intracellulaire d'ions chlorure Cl^- : la fixation post-synaptique du GABA sur le récepteur $GABA_A$ entraîne ainsi une dépolarisation du neurone post-synaptique (Ben-Ari 2002). Les troubles épileptiques juvéniles seraient directement liés à un retard dans la transition d'une action de dépolarisation à une action d'hyperpolarisation des neurones GABAergiques (Dulac et al., 2013). L'hypothèse d'un effet excitateur du GABA est cependant contestée (Bregestovski et Bernard 2012; Zilberter 2016). En résumé, de nombreux troubles psychiatriques semblent liés à un dysfonctionnement du développement, des connexions ou de la physiologie des neurones inhibiteurs GABAergiques, chez l'humain comme pour les modèles animaux, et notamment des interneurones à parvalbumine (interneurones à PV ; Selten et al., 2018). Mais les mécanismes physiopathologiques sont multiples, leur description est rarement exhaustive et leur compréhension ainsi que la mise en place de solutions thérapeutiques chez les patients atteints ne peuvent se faire sans explorer finement le rôle de chaque population et sous-population d'interneurones.

Dans le système auditif en particulier, l'hyperexcitabilité consécutive à des déficits auditifs est aussi souvent associée à une diminution de l'inhibition des voies auditives centrales, même si là encore, les circuits excitateurs peuvent aussi être modifiés. Herrmann et Butler (2021) présentent dans leur revue différents arguments en faveur d'un rôle majeur des interneurones inhibiteurs dans l'hyperactivité auditive, notamment dans l'AC. En effet, d'une part, l'exposition sonore ou la perte d'audition liée à l'âge, deux causes d'hyperexcitabilité des voies auditives, sont associées à une diminution du nombre d'interneurones à PV et à somatostatine dans cette région (Zhou et Merzenich 2012; Ouellet et de Villers-Sidani 2014). Et d'autre part, leur inactivation entraîne une augmentation de l'activité spontanée et évoquée (Aizenberg et al. 2015; Natan et al. 2015; 2017), tandis que l'effet inverse est obtenu en augmentant l'inhibition (Manunta et Edeline 1997; Kaur et al. 2004). Enfin, une récente hypothèse suggère que la baisse du métabolisme liée à l'âge pourrait être à l'origine de cette baisse d'inhibition sans même que des déficits cochléaires ne soient présents (Rogalla et Hildebrandt 2020). Les interneurones inhibiteurs ayant d'importants besoins énergétiques, la progressive dégradation du métabolisme cellulaire associée au vieillissement serait donc l'une des causes de la diminution des interneurones à PV dans l'AC murin (Rogalla et Hildebrandt 2020).

B. Crises audiogènes, voie d'entrée pour l'étude de déficits centraux

1. Qu'est-ce qu'une crise audiogène ?

Si chez l'humain les crises épileptiques réflexes sont principalement déclenchées par un stimulus visuel, elles sont davantage déclenchées par une stimulation sonore de forte intensité chez les animaux, notamment chez les rongeurs. Ces crises convulsives induites par un son s'appellent des crises audiogènes. L'observation de crises convulsives chez le rat, la souris ou encore le mulot, en réponse à un son de forte intensité remontent à la première moitié du XX^{ème} siècle (Donaldson 1924; Dice 1935; Frings et Frings 1952).

La description des crises audiogènes peut varier selon les espèces, les lignées, mais aussi les auteurs des études les décrivant (Schreiber et al. 1980; Ross et Coleman 2000). Néanmoins, une crise audiogène se déroule généralement en 3 phases : pré-convulsive, convulsive et post-convulsive (ou post-ictale). La 1^{ère} phase est caractérisée par un « *startle* », un sursaut réflexe de l'animal déclenché immédiatement après le début du son, qui peut être suivi d'une phase d'immobilité ou d'agitation modérée de quelques secondes, puis d'un mouvement rapide et intense de course, appelée « course folle » (« *wild-running* », en anglais), qui est considérée comme le début de la crise. Cette course folle peut s'arrêter spontanément, reprendre si la stimulation sonore est encore présente (on parle alors de course biphasique ; Reid et Collins 1989) ou être interrompue par l'arrêt du son. Si la stimulation sonore persiste, l'animal rentre ensuite dans la 2^{ème} phase, dite de convulsion, similaire aux crises convulsives réflexes observées chez l'humain : l'animal tombe en décubitus latéral ou dorsal, perd connaissance, et est pris de spasmes musculaires. Les convulsions peuvent être soit toniques (contraction forte et soutenue des muscles squelettiques), soit cloniques (marquées par des mouvements saccadés des membres antérieurs et postérieurs), ou associer les deux (une phase tonique suivie d'une phase clonique). La crise convulsive peut se terminer de deux manières. La première survient lors des crises toniques-cloniques sévères : l'animal peut décéder brutalement d'un arrêt respiratoire. Pour éviter la mort, la stimulation auditive doit être arrêtée si possible pendant la course folle ou au début de la phase convulsive. La deuxième est caractérisée par un redressement soudain de l'animal et par une phase post-ictale où l'animal est généralement immobile et peut vocaliser (Ross et Coleman 2000).

2. Les facteurs favorisant les crises audiogènes

L'apparition des crises audiogènes dépend principalement de quatre facteurs souvent imbriqués : l'âge, l'exposition sonore, la génétique et la perte auditive.

La plupart des lignées de rats ou de souris sont susceptibles aux crises audiogènes dans les premiers jours suivant le début de l'audition. Chez la souris, l'audition commence autour de P11, et la susceptibilité aux crises audiogènes est maximale au cours des 2^{ème} et 3^{ème} semaine de vie. Au cours de cette période, il est possible d'induire une susceptibilité aux crises audiogènes chez des lignées initialement résistantes en exposant les jeunes (souvent avant P20 chez la souris) à un son de forte intensité pendant au moins 30 secondes. Une deuxième exposition quelques jours plus tard déclencherà, chez la plupart des animaux, une crise audiogène. Cette induction est appelée *priming*, ou effet d'amorçage (Ross et Coleman 2000). De plus, le fond génétique joue un rôle important. Plusieurs lignées de souris ont été identifiées comme susceptibles aux crises audiogènes : les lignées Frings (Frings et Frings 1952), DBA (Calvin 1947) ou *Black Swiss* (Misawa et al. 2002; Charizopoulou et al. 2011), mais également des lignées de rats telles que GEPRs (*Genetically Epilepsy Prone Rat*) dont les deux sous-lignées GEPR-9 et GEPR-3 ont été dérivées (Reigel et al., 1986; Naritoku et al. 1992; Faingold 1999; De Sarro et al. 2017) ou encore la lignée WAR (*Wistar Audiogenic Rat*, dérivé de la lignée Wistar) (Marescaux et al. 1987). Ces lignées sont très utilisées comme modèles d'études de l'épilepsie (Italiano et al. 2016).

Enfin, la perte auditive est également un facteur prédisposant aux crises audiogènes. Une perte auditive induite par rupture tympanique ou déprivation sensorielle augmente aussi la susceptibilité aux crises chez les animaux sauvages (Pierson et Liebmann 1992; Sun et al. 2011). Certains fonds génétiques décrits ci-avant, comme les souris DBA/2 ou les rats GEPRs (Penny et al. 1983), présentent des déficits auditifs périphériques, marqués par des seuils auditifs élevés. De même, certains gènes de surdité sont associés à une susceptibilité accrue aux crises audiogènes, comme le gène *Adgrv1* responsable du syndrome d'Usher de type II (Weston et al. 2004) et qui sous-tend la susceptibilité aux crises des souris Frings (Skradski et al. 2001), ou les gènes *Cdhr23* et *Pcdh15* (Libé-Philippot et al. 2017) associés au syndrome d'Usher de type I. Ces trois gènes sont essentiels à la cohésion et au fonctionnement de la touffe ciliaire (voir Introduction **IB.4.a** et **IB.4.c**), mais aussi impliqués directement dans le développement du système nerveux central auditif (Shin et al. 2013; Libé-Philippot et al. 2017).

3. Les supports neurophysiologiques des crises audiogènes

Divers mécanismes biologiques sont à l'origine des crises audiogènes, comme le suggèrent les différents facteurs de prédispositions que nous venons de parcourir. Cependant, les connaissances à leur sujet sont encore incomplètes. En effet, des déficits auditifs périphériques pourraient en être l'origine, et les crises ne seraient alors qu'une conséquence de

ces défauts. La réduction des entrées auditives chez les animaux entraîne probablement une compensation des noyaux centraux, qui augmente leur activité en conséquence et facilite la survenue des crises audiogènes. Des défauts dans les voies centrales pourraient aussi en être la cause, comme en témoigne la susceptibilité de certaines lignées sans déficit auditif périphérique (*Black Swiss*). Néanmoins, les nombreuses études de ces différentes lignées de rats et de souris ont permis d'identifier certaines structures cérébrales et cellulaires jouant un rôle majeur dans la genèse des crises. Ce sont les structures du tronc cérébral qui seraient principalement impliquées, ainsi que, là encore, les populations de neurones GABAergiques. Le rat GEPR présente un déficit en nombre de neurones GABAergiques dans le colliculus inférieur (Roberts et al., 1985) et une lésion bilatérale de cette même structure bloque la survenue de crises audiogènes (Browning 1986). Des marquages précoces de l'activité neuronale (marquages cFos) chez les souris DBA/2 ou les rats Wistar ont montré l'importance des noyaux auditifs du tronc cérébral, comme les noyaux cochléaires, le SOC, le lémnisque latéral et le colliculus inférieur dans la genèse des crises audiogènes (Le Gal La Salle et Naquet 1990; Simler et al. 1994). Enfin, des injections d'agonistes du GABA ou d'inhibiteurs de la GABA-transaminase, une enzyme responsable du catabolisme du GABA dans le colliculus inférieur ou la substantia nigra (noyau composé de neurones GABAergiques impliqué dans le contrôle de la motricité) réduit ou inhibe totalement la survenue des crises convulsives dans des modèles de crises réflexes, audiogènes ou autres, chez la souris (Frye, McCown, et Breese 1983) ou le rat (Gale 1989). En définitive, les crises audiogènes, qu'elles soient congénitales ou induites, sont localisées principalement dans des zones sous-corticales auditives et motrices. Le colliculus inférieur joue un rôle central dans la genèse des crises, avec le colliculus supérieur, la substantia nigra, ou encore la formation réticulée (Deransart et al. 2001; Faingold 2012; Fedotova et al. 2021). D'autres zones sont aussi impliquées, notamment la substance grise périaqueducale, qui participe au comportement de défense en réponse à un danger comme un prédateur. Cette proximité spatiale des circuits à l'origine de ces deux phénotypes (audiogénique et de défense) a conduit certains chercheurs à faire un parallèle entre les crises audiogènes (notamment la phase de course folle) et le comportement des rongeurs en réaction à un danger (Fedotova et al. 2021). La sensibilité accrue des rongeurs aux sons, indispensable pour éviter le danger, rend le système auditif très vulnérable au cours du développement et faciliterait l'apparition de défauts d'équilibre entre les voies excitatrices et inhibitrices, dont les crises audiogènes sont une manifestation, notamment des « canalopathies ». En effet, les dysfonctionnements des canaux ioniques sont fréquemment observés dans les cas de crises audiogènes, comme dans les syndromes épileptiques ou les pathologies neuromusculaires (Fedotova et al. 2021).

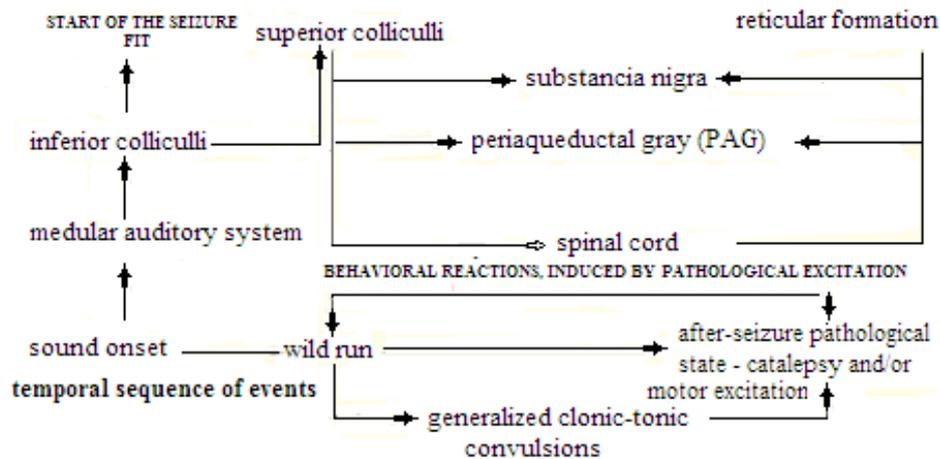


Figure 26 : Structures cérébrales impliquées dans le développement des crises audiogènes

Représentation schématique des structures impliquées dans la propagation de la crises audiogènes et de la réaction de l'animal. Adapté de (Fedotova et al. 2021)

Enfin, si les structures sous-corticales sont essentielles dans la formation et la propagation des crises audiogènes, l'implication du télencéphale dans la propagation des crises semble rare. L'induction de crises audiogènes par expositions répétées à un son fort (le *kindling*) provoque progressivement la propagation d'une activité paroxystique synchrone aux neurones du système limbique, puis à ceux de l'hippocampe et du néocortex (Simler et al. 1994), mais le télencéphale n'est pas impliqué dans les premières crises et n'est pas nécessaire à leur apparition. Deux études ont pointé un rôle du cortex dans la propagation des crises audiogènes chez les rats WAG/Rij (Vinogradova et al., 2005) et dans des modèles génétiques murins susceptibles aux crises audiogènes (Libé-Philippot et al. 2017). Chez ces souris, présentant des mutations dans les gènes *Cdhr23*, *Pcdh15* et *Adgrv1*, notre équipe a identifié des défauts intrinsèques de l'AC : une baisse du nombre de neurones GABAergiques à parvalbumine, la principale classe de neurones inhibiteurs dans le néocortex (voir Introduction V).

V) *Cdhr23* et *Pcdh15*, deux modèles murins atypiques d'hyperexcitabilité des voies auditives

La compréhension des mécanismes sous-jacents aux crises audiogènes peut permettre d'apporter de précieuses informations sur le développement et le maintien de l'équilibre excitation-inhibition dans l'ensemble du système nerveux central, bien au-delà du système auditif. Comme nous venons de le voir, les crises audiogènes chez les rongeurs peuvent être la conséquence de défauts auditifs périphériques ou centraux, et une association entre les deux est probablement fréquente. En effet, les déficits périphériques entraînent des modifications fonctionnelles des circuits auditifs centraux. Certains déficits centraux sont cependant indépendants du système auditif périphérique, notamment ceux d'origine génétique (voir Introduction **III**B). Leur étude est essentielle pour différencier les mécanismes physiopathologiques intrinsèques au système nerveux central de ceux résultant uniquement de déficits périphériques. Pour cela, le point d'entrée utilisé par notre équipe repose sur l'observation de plusieurs lignées de souris mutantes pour des gènes de surdité présentant jusqu'à un âge d'environ 30 jours postnatal (P30) une prédisposition aux crises audiogènes. Plusieurs de ces gènes de surdité ont été identifiés par notre équipe : *Strc*, *Otog*, *Otogl*, *Cdhr23*, *Pcdh15* (Libé-Philippot et al. 2017) tandis que certains comme *Adgrv1* (Skradski et al. 2001) le sont depuis plus longtemps. Au cours de ma thèse, je me suis intéressé à deux de ces gènes chez la souris : *Cdhr23*, *Pcdh15*.

Nous l'avons vu plus tôt (Introduction **I**B.4.a), les protéines apparentées aux cadhérines *cdhr23* et *pcdh15* sont indispensables au fonctionnement de la transduction mécano-électrique. En effet, elles forment respectivement les parties supérieures et inférieures du *tip-link* des cellules sensorielles auditives (Kazmierczak et al. 2007). L'intégrité du *tip-link* est indispensable au bon fonctionnement de la transduction mécano-électrique, c'est pourquoi des mutations invalidantes bialléliques de *CDHR23* ou *PCDH15* entraînent chez les patients une surdité profonde congénitale, phénotype retrouvé aussi chez la souris. Mon équipe a récemment montré que *Cdhr23* et *Pcdh15* ont également un rôle majeur dans le cerveau qui est indépendant de celui qu'ils ont dans l'oreille. A l'aide d'immunomarquages contre les parties extracellulaires de ces deux protéines, Libé-Philippot et al. (2017) ont en effet montré que *Cdhr23* et *Pcdh15* sont exprimés dans l'AC présomptif juste avant la naissance (**Figure 27A**). Plus précisément, *cdhr23* et *pcdh15* sont colocalisés au cours du développement embryonnaire dans une même population cellulaire. Cette colocalisation est visible d'abord dans le manteau de l'éminence ganglionnaire médiale (MGE, *Medial Ganglionic Eminence*) à E13,5 puis le long

des voies de migration cellulaire typiques des progéniteurs neuraux naissant dans la MGE et migrant vers le néocortex (Kelsom et Lu 2013). Ensuite, *cdhr23* et *pcdh15* sont retrouvés dans l'AC uniquement (**Figure 27A et B**) et ce jusqu'à P7. L'inactivation de *Cdhr23* ou *Pcdh15* empêche cette population de progéniteurs neuraux d'entrer dans le néocortex lors de leur migration (**Figure 27B**) et cela aboutit en un nombre anormalement faible de neurones inhibiteurs à PV dans l'AC seulement, quatre semaines après la naissance (**Figure 27 C et D**). Cette baisse serait restreinte à l'AC, et ne concernerait que les interneurons à PV.

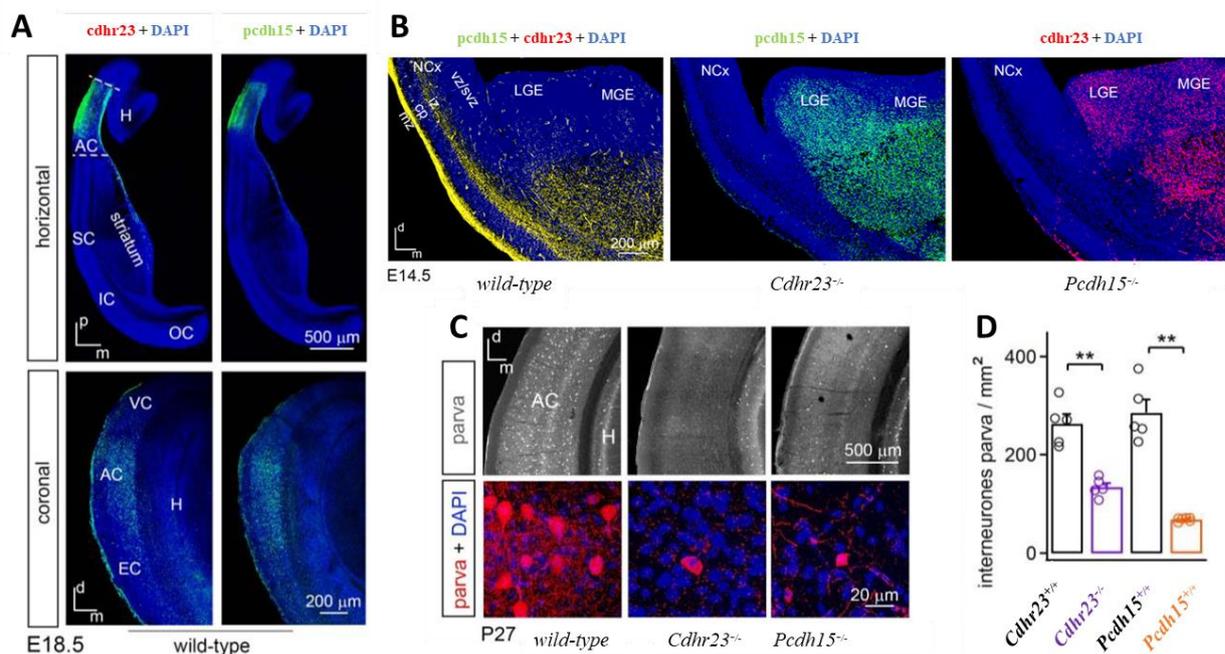


Figure 27 : *Cdhr23* et *Pcdh15* ont un rôle critique pour la migration d'une population de précurseurs

(A) Tranches horizontales et coronales à travers le cortex auditif d'embryons sauvages (*wild-type*) à E18,5 marqués pour *cdhr23* et *pcdh15*. (B) Sections coronales d'embryons *wild-type*, *Cdhr23*^{-/-} et *Pcdh15*^{-/-} marquées à l'aide d'anticorps dirigés contre *pcdh15* et *cdhr23*. (C) Densité des interneurons à parvalbumine dans le cortex auditif à P27 de souris *wild-type*, *Cdhr23*^{-/-} et *Pcdh15*^{-/-}. (D) Quantification des interneurons à parvalbumine chez des souris *Cdhr23*^{+/+}, *Cdhr23*^{-/-}, *Pcdh15*^{+/+}, *Pcdh15*^{-/-}.

Adapté de Libé-Philippot et al. 2017.

Abréviations : néocortex (NCx) ; hippocampe (H) ; postérieur (p) ; médial (m) ; dorsal (d) ; éminence ganglionnaire latérale (LGE) et médiale (MGE) ; zone marginale (mz) ; plaque corticale (cp) ; zone intermédiaire (iz) ; zone ventriculaire et sous-ventriculaire (vz et svz) ; cortex orbital/insulaire/somatosensoriel/auditif/visuel/entorhinal (O/I/S/A/V/EC).

Si les souris mutantes *Cdhr23*^{-/-} et *Pcdh15*^{-/-} sont profondément sourdes, les souris mutantes hétérozygotes *Cdhr23*^{+/-} et *Pcdh15*^{+/-} ont en revanche une audition périphérique normale (ABRs et otoémissions acoustiques) mais elles présentent, elles aussi, une réduction significative du nombre de neurones inhibiteurs à PV dans l'AC (avec cependant une grande variabilité entre individus). Ce phénotype se traduit par une susceptibilité accrue aux crises audiogènes pour les animaux dont la baisse est la plus forte (51% des souris *Cdhr23*^{+/-} et 38% des souris *Cdh15*^{+/-}). De plus, l'inactivation conditionnelle de *Cdhr23* ou *Pcdh15* uniquement dans le télencéphale reproduit la baisse du nombre d'interneurones à PV dans l'AC (**Figure 28**) et la susceptibilité aux crises audiogènes. Notons qu'afin d'invalider l'expression de *Cdhr23* ou *Pcdh15* dès le stade progéniteur dans la MGE, des souris *Cdhr23*^{lox/lox} et *Pcdh15*^{lox/lox} ont été croisées avec des souris *Nkx2.1cre:Rosa-tdTomato* ou *Nkx2.1-cre* (animaux que je nommerai *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO ; voir aussi **Méthodes I**). En outre, la délétion *in situ* de *Pcdh15* dans le cortex temporal à P1 par injection stéréotaxique d'une cre-recombinase entraîne aussi une baisse du nombre d'interneurones à PV dans l'AC et reproduit la susceptibilité aux crises audiogènes induites après P20, ce qui suggère un rôle intrinsèque supplémentaire de *Pdh15* dans l'AC en développement avant l'apparition de l'audition. Les souris *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO seraient donc deux modèles susceptibles aux crises audiogènes dont l'origine principale de cette hyperexcitabilité serait l'AC.

Enfin, chez le macaque, *CDHR23* et *PCDH15* sont également exprimés dans les interneurones corticaux, et ce résultat suggère que *CDHR23* et *PCDH15* pourraient également être impliqués dans le développement de neurones inhibiteurs corticaux chez l'humain.

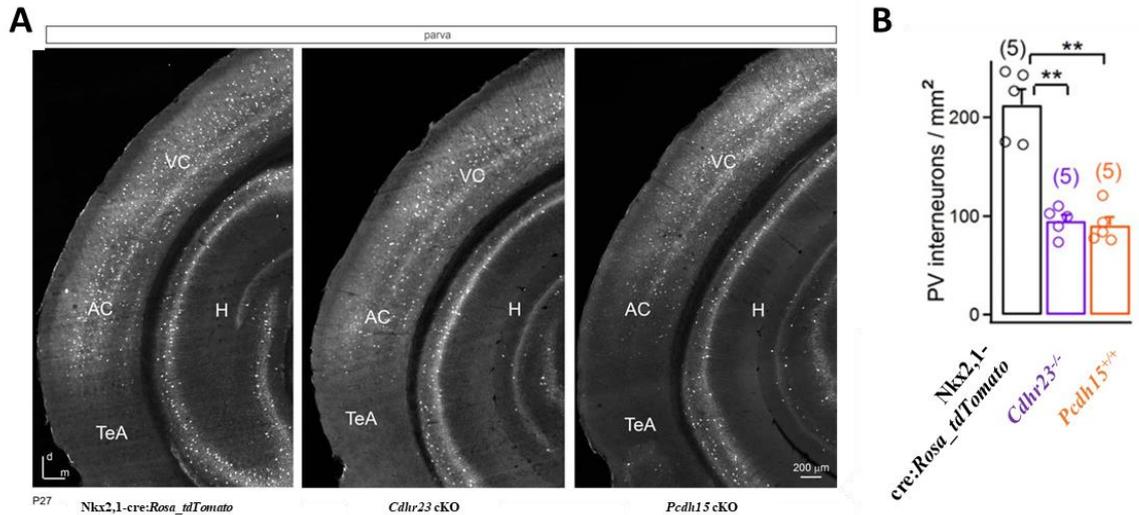


Figure 28 : L'inactivation conditionnelle de *Cdhr23* et *Pcdh15* entraîne une réduction du nombre d'interneurones à parvalbumine dans le cortex auditif

(A) Sections coronales du cortex auditif de souris Contrôles, *Cdhr23* cKO, *Pcdh15* cKO au stade P27 marquées par un anticorps dirigé contre la parvalbumine (parva). (B) Quantification du nombre d'interneurones à parvalbumine chez les souris Contrôles, *Cdhr23* cKO, *Pcdh15* cKO au stade P27. Adapté de Libé-Philippot et al. 2017.

Abréviation : cortex visuel et auditif (V/AC) ; hippocampe (H) ; cortex temporel associatif (TeA).

Libé-Philippot et ses collègues (2017) ont conclu que les gènes *Cdhr23* et *Pcdh15* sont exprimés dans des progéniteurs d'interneurones à PV destinés à l'AC, et que les protéines *cdhr23* et *pcdh15* pourraient former un « code d'adhérence cellulaire », permettant d'adresser les neuroblastes GABAergiques à une aire néocorticale donnée. Si cette hypothèse se confirmait, ce serait la première fois que serait mise en évidence l'existence d'un mécanisme moléculaire qui déterminerait dès leur naissance la destination corticale finale d'une population d'interneurones, dans le cas présent l'AC.

Je n'ai volontairement pas utilisé les termes de progéniteurs neuronaux, progéniteurs d'interneurones ou de neuroblastes GABAergiques utilisés par Libé-Philippot et al. (2017) pour décrire ces cellules coexprimant *cdhr23* et *pcdh15* en raison de récentes avancées faites par notre équipe dans l'exploration du rôle de ces deux protéines dans le système nerveux central au cours du développement embryonnaire et post-natal. J'ai préféré le terme de progéniteurs neuronaux, qui désignent des cellules capables de se différencier plus tard en interneurones ou en cellules gliales, servant de support aux neurones. En effet, notre équipe ne possédait pas à l'époque les outils nécessaires au suivi continu de cette population de cellules qui expriment *cdhr23* et *pcdh15* entre E13.5 et P7. La parvalbumine ne commence à être visible par immunomarquage dans le cortex murin qu'à la fin de la 1^{ère} semaine de vie, mais ce marquage

ne devient évident qu'à partir de P15, avant d'être similaire à celui chez l'adulte à P23 (Dávila et al. 2005). L'expression spatiale et temporelle de *Cdhr23*, *Pcdh15* et de la parvalbumine ne permettent pas de mettre en évidence un lien direct entre les cellules coexprimant ces deux gènes pendant le développement embryonnaire et les interneurons à PV. C'est l'hypothèse la plus simple qui a été préférée pour expliquer les phénotypes embryonnaire et post-natal des modèles murins utilisés.

Objectifs de thèse

Mon projet de thèse avait pour objectif d'améliorer la compréhension du fonctionnement des microcircuits neuronaux auditifs, en particulier corticaux, chez différents modèles murins présentant une hyperexcitabilité des voies auditives centrales. Comme nous l'avons abordé précédemment, ces lignées présentent des mutations dans certains gènes de surdité qui se traduisent par une prédisposition aux crises audiogènes, des crises convulsives réflexes en réponse à un son fort, qui sont une manifestation d'un défaut de maturation des circuits excitateurs et inhibiteurs dans le système auditif central à l'origine de cette hyperactivité neuronale. Ce type de défaut de maturation de l'équilibre excitation/inhibition est retrouvé dans de nombreuses pathologies neurologiques chez l'humain et l'animal, comme certaines formes d'épilepsie, l'autisme, ou des troubles auditifs centraux tels que l'hyperacousie.

Mon laboratoire a montré que deux gènes de surdité, *Cdhr23* et *Pcdh15*, sont nécessaires au développement post-natal d'une partie des neurones inhibiteurs exprimant la parvalbumine dans le cortex auditif (AC) murin : l'inactivation monoallélique ou biallélique d'un de ces gènes entraîne une forte diminution du nombre de ces neurones associée à une forte susceptibilité aux crises audiogènes au cours de la troisième semaine de vie (Libé-Philippot et al. 2017). J'ai donc utilisé au cours de ma thèse ces modèles murins porteurs de mutations dans les gènes de surdité *Cdhr23* et *Pcdh15* parce qu'ils présentaient une hyperexcitabilité auditive se manifestant par la survenue de crises audiogènes. L'objectif était de caractériser finement le rôle de ces gènes de surdité dans le développement et le fonctionnement des voies auditives centrales.

Mes travaux de thèse se sont concentrés autour de deux axes :

1) Le développement et l'amélioration des techniques d'études des déficits centraux chez la souris.

Afin d'améliorer l'identification des déficits auditifs centraux chez des modèles murins de maladies humaines et afin de pouvoir extrapoler à l'humain les données issues de l'animal, il est nécessaire d'optimiser les techniques utilisées actuellement. En particulier, l'identification de biomarqueurs du fonctionnement du complexe thalamo-cortical permettrait d'optimiser la détection de ces déficits, tandis qu'étudier la manière dont les souris perçoivent certains sons permettrait d'améliorer notre compréhension des conséquences comportementales de ces déficits. Ce premier axe comporte donc **le développement de techniques électrophysiologiques et comportementales au sein de l'équipe qui m'a accueillie en thèse.**

Deux publications issues de ces travaux, seront présentées ici :

- **“Characterizing Cortical Auditory Evoked Potentials in Mice “**,
O. Postal*, W.Bakay*, T. Dupont, C. Petit, N. Michalski, B. Gourevitch.

Article sous presse au journal *Hearing Research*.

- **“Spontaneous Mouse Behavior in Presence of Dissonance and Acoustic Roughness”**
O. Postal*, T. Dupont*, W. Bakay*, N. Dominique, C. Petit, N.Michalski, B. Gourévitch.

Article publié en 2020 dans le journal *Frontiers in Behavioral Neuroscience* (14:588834.
doi: 10.3389/fnbeh.2020.588834)

2) L'étude fonctionnelle du rôle de deux gènes, *Cdhr23* et *Pcdh15* chez la souris.

Ces deux gènes, indispensables au développement et fonctionnement de la cochlée, sont impliqués dans le développement de neurones inhibiteurs à parvalbumine (PV) dans l'AC. L'inactivation conditionnelle dans le cerveau murin de *Cdhr23* ou *Pcdh15* entraîne à P20 une très forte susceptibilité aux crises audiogènes, et à l'âge adulte une diminution de 50% du nombre d'interneurones à PV dans l'AC (Libé-Philippot et al. 2017). Ce deuxième axe est consacré à la caractérisation de la fonction de ces neurones inhibiteurs, qui requièrent l'expression de *Cdhr23* et *Pcdh15* au cours de leur développement. Nous essaierons notamment de déterminer leur contribution au codage spectral et temporel des sons, leur implication dans la perception de sons complexes et dans le développement de l'hyperactivité neuronale.

Matériel et Méthodes

I) Animaux

L'expérimentation animale a été effectuée selon la réglementation française et européenne concernant le bien-être animal (directive européenne 2010/63 et décret français 118 du 1er février 2013), avec l'accord du comité d'éthique de l'Institut Pasteur (Institut Pasteur-DAP170051). Les lignées murines mutantes utilisées dans cette étude ont été élevées dans les animaleries de l'Institut Pasteur et de l'animalerie de l'Institut de l'Audition. Les souris C57BL/6J, FVB et CBA/2J utilisées ont été élevées à Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France) et importées dans les animaleries de l'Institut Pasteur et de l'Institut de l'Audition quelques jours avant leur utilisation. La lignée *Rosa-tdTomato* sur le fonds génétique C57BL/6J a été obtenue des laboratoires Jackson (Bar Harbor, États-Unis).

Les lignées mutantes *Nkx2.1-cre :Cdhr23^{lox/lox}* et *Nkx2.1-cre :Pcdh15^{lox/lox}* ont été obtenues par croisement de deux lignées distinctes, les lignées *Nkx2.1-cre* et *Cdhr23^{lox/lox}* pour la première, et les lignées *Nkx2.1-cre* et *Pcdh15^{lox/lox}* pour la seconde. La lignée *knock-in Nkx2.1-cre*, obtenue grâce à Nicoletta Kessarlis (University College London, Royaume-Uni) (Kessarlis et al. 2006), exprime la cre-recombinase sous le contrôle du promoteur du gène *Nkx2.1*, un facteur de transcription spécifique des progéniteurs neuraux naissant dans l'éminence ganglionnaire médiale (Kessarlis et al. 2006). Chez la lignée *Cdhr23^{lox/lox}*, les sites lox sont placés dans les introns situés de part et d'autre des exons 62 à 68 du gène *Cdhr23* (Caberlotto, et al. 2011). La lignée *Pcdh15^{lox/lox}* a été générée par l'Institut Clinique de la Souris (iCS, Illkirch, France) et son élaboration est décrite ici (Libé-Philippot et al. 2017).

Les lignées *Cdhr23cre (Cdhr23-IRES-cre knock-in)* et *Pcdh15cre (BAC-Ppcdh15-Cre)* ont été obtenues en collaboration avec l'Institut Clinique de la Souris (iCS, Illkirch, France), en utilisant le système de recombinaison de l'ADN Cre-lox. L'inactivation monoallélique de *Cdhr23* ou *Pcdh15* étant suffisante pour induire une susceptibilité aux crises audiogènes, une insertion classique de la cre-recombinase juste après le promoteur des gènes cibles n'a pas pu être utilisée ici. Afin de maintenir l'expression biallélique de ces deux gènes, et prévenir ainsi les altérations phénotypiques résultants de l'inactivation d'un des allèles, nous avons développé des lignées murines transgéniques à chromosome bactérien artificiel (BAC) et des lignées IRES *knock-in* exprimant une cre-recombinase ou une cre-recombinase inducible par injection de tamoxifène (creERT2) sous le contrôle des promoteurs des gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*. La stratégie de *knock-in* a été utilisée pour les lignées *Cdhr23cre*, mais n'a pas pu être utilisée pour les lignées *Pcdh15cre*. En effet, le gène *Pcdh15* possède plusieurs isoformes qui présentent des exons terminaux différents. Il nous était donc impossible de trouver un site d'insertion idéal

pour la construction IRES-cre (Pepermans et al. 2014). La stratégie BAC a donc été utilisée pour *Pcdh15*. Les lignées *Cdhr23cre* et *Pcdh15cre* ont été croisées avec la lignée rapportrice *Rosa-tdTomato* pour identifier les cellules exprimant ces gènes et suivre leur devenir au cours du développement embryonnaire et post-natal.

II) Anesthésie et chirurgie

A. ABR et CAEP

Lors des enregistrements des potentiels auditifs du tronc cérébrales (ABR, pour *auditory brainstem responses*) et des potentiels auditifs corticaux (CAEP, pour *cortical auditory-evoked potentials*), les souris ont été anesthésiées par l'injection intra-péritonéale d'un mélange de kétamine (150 mg/kg, Imalgene®) et de xylazine (6mg/kg, Rompun®), permettant une anesthésie d'environ 40 minutes. En cas de prolongation de l'expérimentation, une demi-dose est injectée toutes les demi-heures environ, selon la profondeur de l'anesthésie évaluée grâce à la réaction de retrait de la patte en réponse au pincement. L'insertion d'aiguilles sous-cutanée étant considéré comme faiblement douloureuse, l'utilisation d'analgésie n'est pas nécessaire pour ces expérimentations.

Les enregistrements des potentiels auditifs corticaux peuvent aussi se faire sous anesthésie par inhalation d'isoflurane (2 à 3% d'isoflurane pour un débit de 0,2 l/min d'O₂ à 95%) lorsqu'une chirurgie est préalablement effectuée (voir protocole ci-dessous).

B. Chirurgie préparatoire aux enregistrements électrophysiologiques sous anesthésie

Chaque souris est anesthésiée par l'injection intra-péritonéale d'un mélange de kétamine (Imalgene, 190 mg/kg) et xylazine (Rompun 4,5 mg/kg) ou un mélange de kétamine (Imalgene, 100mg/kg) et médétomidine (Domitor, 1 mg/kg). La médétomidine est un agoniste des récepteurs adrénergiques alpha-2 plus spécifique et plus efficace que la xylazine (Flecknell 2016), permettant de réduire les doses injectées et limiter les effets secondaires (dépression cardio-vasculaire et respiratoire). Elle est utilisée pour les lignées *Nkx2.1-cre :Cdhr23^{lox/lox}* et *Nkx2.1-cre :Pcdh15^{lox/lox}* qui ont montré une sensibilité importante aux effets secondaires de l'anesthésie lors d'expérimentations préliminaires. Une injection sous-cutanée de buprénorphine (0,1 mg/kg, Vertegesic) est effectuée une fois la souris sédaturée. La buprénorphine est un analgésique de la famille des morphiniques permettant de réduire la douleur associée à la chirurgie et de potentialiser les effets des anesthésiques utilisés.

Une fois la souris anesthésiée, son crâne est rasé et les yeux sont protégés à l'aide d'un gel ophtalmique hydratant (Ocrygel). Elle est alors placée pour la suite de la chirurgie sur un tapis chauffant permettant de maintenir sa température corporelle entre 36 et 38 degrés Celsius. Une sonde rectale permet à chaque instant de contrôler sa température. Son audiogramme est évalué par une mesure des potentiels évoqués du tronc cérébral afin de s'assurer que ses seuils auditifs sont normaux. Toute souris présentant des seuils supérieurs à 20 dB aux seuils de référence évalués précédemment dans le laboratoire est exclue de l'expérimentation.

Après avoir mesuré l'audiogramme, la souris est placée sur une barre de gueule associée à un masque à isoflurane dans un cadre stéréotaxique et l'anesthésie est maintenue pour toute la suite de la chirurgie par inhalation gazeuse d'isoflurane (1% à 2% d'isoflurane pour un débit de 0,2 l/min d'O₂ à 95%). Un suivi est mis en place pour contrôler les principaux paramètres physiologiques de l'animal (fréquence cardiaque, saturation O₂, etc). Une injection sous-cutanée de lidocaïne (Laocaïne®, 10mg/kg) est effectuée au niveau du crâne. La peau du crâne est incisée sur le plan sagittal sur environ 1.5 cm depuis la partie antérieure du crâne jusqu'à l'os occipital, et repliée pour exposer le crâne recouvrant l'hémisphère cérébral gauche. En utilisant des coordonnées déterminées par un atlas stéréotaxique (The Allen Brain Atlas, Kasabov 2014), une craniotomie est effectuée à l'aide d'une mini-perceuse au niveau de l'AC (ouverture sur 5x5mm maximum, centrée sur un point à 2500µm latéral et 4500µm caudal au bregma) et d'une zone sous-corticale : soit le colliculus inférieur (ouverture de 3x3mm, centrée sur un point à 1000µm latéral et 1000µm caudal au lambda), soit le corps genouillé médian du thalamus (ouverture de 3x3mm, centrée sur un point à 1700µm latéral et 3000µm caudal au bregma). L'os puis la dure-mère sont délicatement retirés à l'aide de forceps fins (Dumont #5). Le retrait de la dure-mère, qui adhère de manière importante aux tissus sous-jacents, peut entraîner des lésions hémorragiques à la surface du cortex rendant difficile l'implantation des électrodes de mesure et la mort des neurones présents dans la zone ischémique. Pour éviter cela, une solution de chlorure de sodium (NaCl 0,9%) chauffé à 37°C est déposée goutte à goutte pendant le processus de retrait ce qui permet, par une légère action mécanique, de séparer la dure-mère du cortex sans provoquer la rupture des vaisseaux sanguins présents à sa surface ou l'arrachement des premières couches de cellules de l'AC.

La souris est alors prête à être implantée avec les électrodes de mesure.

A la fin de l'expérimentation au bout de 5 à 8h, le pourcentage d'isoflurane est augmenté transitoirement afin de provoquer une euthanasie par surdose d'anesthésique. L'animal est ensuite rapidement retiré de la barre de gueule puis une dislocation cervicale et/ou décapitation sont pratiquées pour s'assurer du décès de l'animal.

C. Chirurgie préparatoire aux enregistrements électrophysiologiques éveillés

L'activité neuronale et la perception sensorielle pouvant être profondément modifiées par l'anesthésie, des enregistrements électrophysiologiques sont effectués sur des souris vigiles. Ces enregistrements nécessitent au préalable une chirurgie permettant de poser une pièce de maintien directement sur le crâne de la souris qui permettra d'immobiliser sa tête lors des enregistrements.

Avant chaque chirurgie, une prémédication est effectuée afin de faciliter l'induction de l'anesthésie et d'optimiser l'analgésie. Pour cela, environ 30 minutes avant l'induction, une injection intrapéritonéale d'un mélange de médétomidine (Domitor, 0,1 mg/kg) et de buprénorphine (Vetergesic, 0,1 mg/kg) est effectuée. Les outils de chirurgie sont stérilisés dans un stérilisateur à billes, et l'ensemble du cadre stéréotaxique et du matériel utilisé pendant la chirurgie est désinfecté à l'alcool à 70°. Ces précautions permettent d'obtenir un environnement semi-stérile suffisant pour éviter les infections post-opératoires et l'utilisation systématique d'antibiotiques.

La souris est ensuite anesthésiée par inhalation d'isoflurane (3%) dans une boîte à induction. Le crâne de la souris est rasé, puis celle-ci est placée sur une barre de gueule associée à un masque à isoflurane dans un cadre stéréotaxique et l'anesthésie est maintenue pour toute la suite de la chirurgie par inhalation gazeuse d'isoflurane (2 à 3% d'isoflurane pour un débit de 0,2 l/min d'O₂ à 95%). Un tapis chauffant permet de maintenir la température corporelle de la souris entre 36 et 38 degrés Celsius, contrôlée par une sonde rectale. Une injection sous-cutanée de lidocaïne (Laocaïne, 10 mg/kg) est effectuée au niveau du crâne et les yeux sont protégés par un gel ophtalmique hydratant (Ocrygel). La peau est désinfectée par 3 lavages avec une solution iodée (Vétédine) et par des rinçages à l'alcool à 70°, la solution iodée étant appliquée une 4^{ème} fois et laissée *in situ* pour le début de la chirurgie.

La peau est incisée selon l'axe sagittal depuis l'os frontal jusqu'à l'os occipital et retirée afin de découvrir l'ensemble de la surface dorsale du crâne. Le crâne est gratté et asséché afin d'éliminer tous les tissus et liquides pouvant réduire l'adhérence des pièces de maintien au crâne. Les insertions des muscles situés du côté de la craniotomie sont délicatement coupées au scalpel et les muscles sont repoussés vers le bas ou l'arrière, permettant de découvrir l'ensemble de la zone de craniotomie, puis fixés à l'os avec une colle biologique (Vetbond). La zone de craniotomie est estimée grâce aux coordonnées stéréotaxiques : pour l'AC une zone de 1x1mm est délimitée, centrée sur un point à 2500µm latéral et 4500µm caudal au bregma.

La peau est ensuite collée grâce à la colle biologique tout autour du crâne, au plus près des insertions musculaires afin de maximiser la place disponible pour la pièce de maintien et la craniotomie. Un premier trou de la taille de la mini-fraise utilisée (fraise en carbure de tungstène d'un diamètre de 0,5mm ; Edenta) est effectué du côté controlatéral à la zone de craniotomie et une fine tige métallique de 2,5 mm est introduite et maintenue par de la colle biologique. Elle permettra de fixer à son extrémité les fils préalablement courbés de référence et de masse des électrodes de mesure. Enfin, du ciment dentaire (Superbond) est appliqué tout autour de l'ouverture et au sommet du crâne, en évitant la zone de craniotomie, avant d'y déposer une pièce de maintien en aluminium (voir **Annexes n°2** pour le plan). Après quelques minutes qui permettent au ciment de sécher, la craniotomie est effectuée à l'aide d'une mini-perceuse, et le crâne et la dure-mère sont retirés en appliquant la même technique que celle décrite précédemment. Un élastomère de silicone (Kwick-cast) est ensuite déposé sur le cortex pour en assurer la protection en attendant le jour d'enregistrement. Pour terminer, une deuxième couche de ciment est appliquée si nécessaire en évitant la zone de craniotomie afin de s'assurer du bon maintien de l'ensemble. Une injection sous-cutanée de méloxicam (Metacam, 5 mg/kg) pour réduire la douleur et l'inflammation post-opératoire et d'une solution isotonique de glucose 5% (0,2 à 0,5 ml selon la taille de la souris et la durée de l'anesthésie) pour réhydrater l'animal sont effectuées avant de réveiller la souris. La **Figure 29** montre une souris juste après la chirurgie.

Un suivi post-opératoire est systématiquement assuré les 5 jours suivant la chirurgie : une injection de méloxicam est effectuée durant les trois jours post-opératoire, l'animal est pesé et son état général est évalué. Une grille de score (*Mouse Grimace Scale*, Langford et al. 2010) est utilisée pour évaluer la douleur de l'animal et une injection de buprénorphine est effectuée en cas de douleur importante (score $\geq 0,8$).

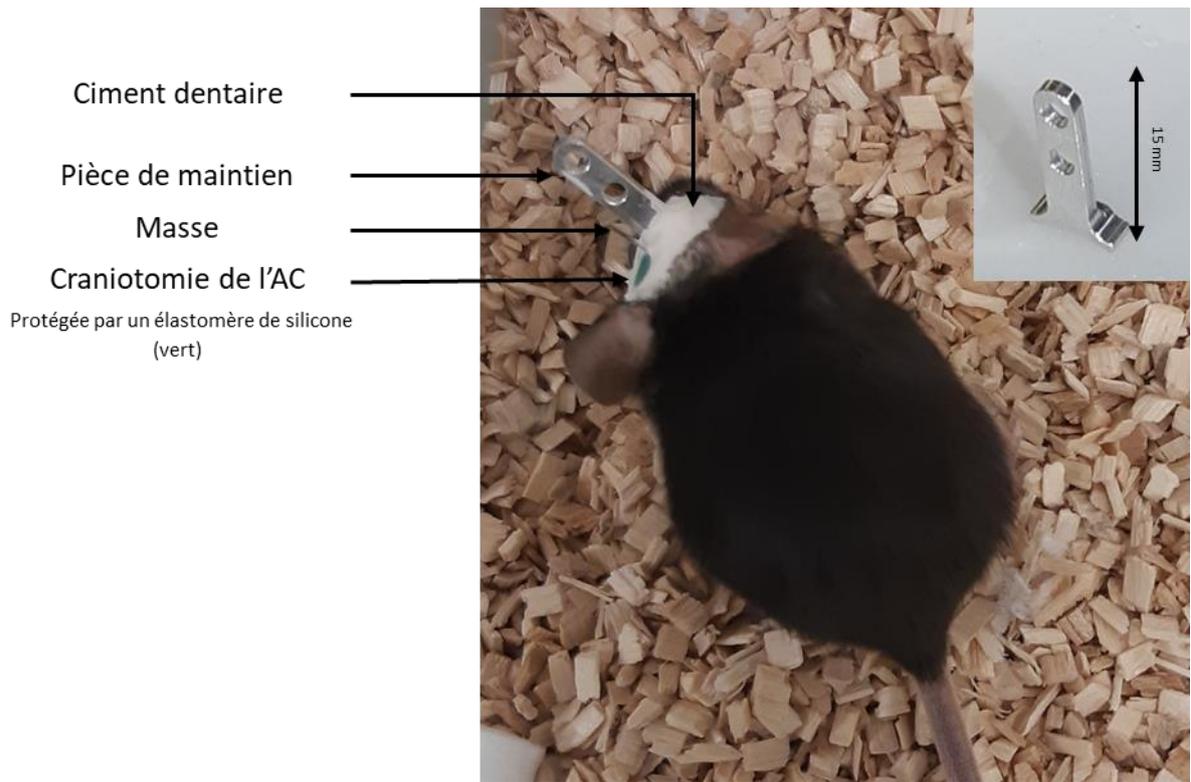


Figure 29 : Souris dans sa cage après la chirurgie préparatoire aux enregistrements vigiles

III) Enregistrements électrophysiologiques

Tous les enregistrements électrophysiologiques sont réalisés dans une chambre isolée d'un point de vue électromagnétique et acoustique pour minimiser les interférences.

A. Seuils auditifs

Les seuils auditifs de la souris ont été testés grâce à la mesure des potentiels évoqués auditifs du tronc cérébral (en anglais *Auditory Brainstem Responses*, ABRs). Les ABRs ont été enregistrés sous anesthésie en réponse à des stimulations d'intensité décroissante (de 90 dB à 10 dB par saut de 10 dB) avec un taux d'échantillonnage de 24 kHz (TDT RA4). Deux stimuli sonores ont été utilisés : d'abord un bruit blanc très court (dit « click », un créneau de 0,1 ms) et des sons purs de 5 ms et de fréquences balayant l'ensemble de la gamme auditive des souris (2, 4, 8, 16, 24, 32, 48, et 64 kHz). L'enregistrement nécessite trois électrodes à aiguille placées en sous-cutané au niveau du crâne : l'électrode de masse est placée dans le dos de l'animal, l'électrode de référence sur son front et l'électrode de mesure au niveau de la mastoïde ipsilatérale, sous le pavillon auriculaire (**Figure 30A**). Les signaux ont été filtrés à l'aide d'un filtre passe-bande de Butterworth entre 300 Hz et 3 kHz et du logiciel TDT BiosigRZ.

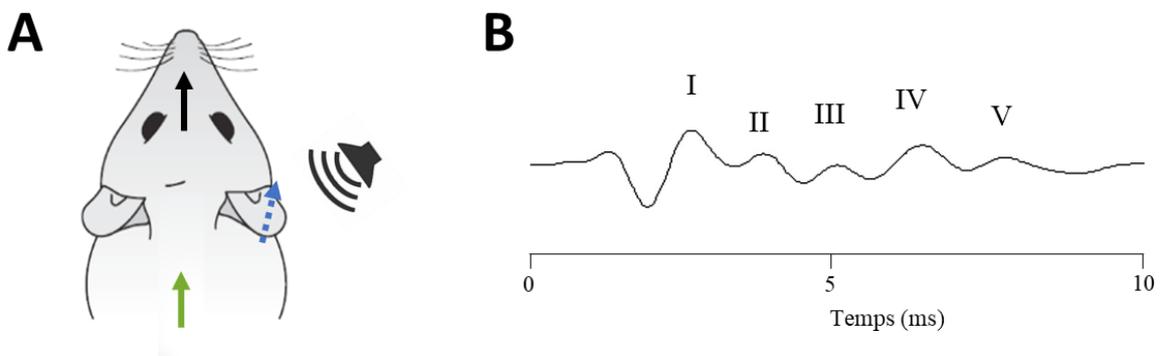


Figure 30 : Représentation schématique de la méthode de mesure des ABRs

(A) Placement sous-cutané des électrodes pour des enregistrements d'ABRs : l'électrode de mesure (bleue) au niveau de la mastoïde ipsilatérale, sous le pavillon auriculaire, l'électrode de référence (noire) est placée sur le front et la masse (verte) dans le dos. (B) Exemple d'une courbe ABR obtenu en réponse à un click à 90 dB.

Les courbes ABRs se présentent sous la forme de 5 ondes ou pics (**Figure 30B**), chaque pic correspondant à un relais auditif central : l'onde I correspond à l'activité électrique mesurée dans les synapses à rubans des cellules ciliées internes avec les neurones auditifs afférents ; l'onde II correspond aux noyaux cochléaires ; l'onde III au complexe olivaire supérieur ; l'onde IV au colliculus inférieur et l'onde V au thalamus (Zhou et al. 2006). Pour une intensité donnée, une courbe ABR est moyennée sur 300 stimulations. Pour chaque stimulus testé, l'intensité sonore est atténuée jusqu'au moment où aucune onde n'est détectable. La plus basse intensité où l'onde est encore visible est le seuil auditif de l'animal. Les sons sont présentés soit à l'aide d'un haut-parleur TDT ES1 (bande passante 2-100kHz) placé à 1 cm de l'oreille droite de la souris lorsque la mesure précède l'implantation intracorticale d'électrodes soit via un écouteur inséré dans le conduit auriculaire droit (TDT EC1) lorsqu'elle précède des enregistrements CAEPs.

B. Potentiels évoqués du cortex auditif

Les potentiels évoqués auditifs corticaux (en anglais *Cortical Auditory Evoked Potentials*, CAEP) sont enregistrés sous anesthésie en réponse à une stimulation sonore (un bruit blanc) d'intensité constante (typiquement 80 dB SPL) à l'aide d'électrodes sous-cutané. Le même dispositif que pour les ABRs est utilisé. Seule la position des électrodes change (**Figure 31A**). L'électrode de masse est placée dans le dos de l'animal, l'électrode de référence et l'électrode de mesure au niveau du cortex temporal situé de l'autre côté par rapport au haut-parleur, au-dessus de l'oreille, les voies auditives décussant au niveau du bulbe rachidien. Les courbes CAEP ainsi obtenues correspondent à la moyenne des enregistrements de 100 à 800 stimulations sonores (généralement 400) selon la qualité du rapport signal/bruits. Chaque enregistrement dure 95 ms. Les courbes CAEP se présentent sous forme de plusieurs ondes dépendant de la localisation de l'électrode de mesure. Les ABRs sont visibles au début de la courbe (ondes de faible amplitude) lorsque les stimuli sont présentés via un hautparleur (**Figure 31 ; Publication n°1**) pour les CAEPs de la publication (voir page 103) et ceux effectués sur les souris *Pcdh15* cKO j'ai utilisé un écouteur inséré dans le conduit auriculaire droit (TDT EC1).

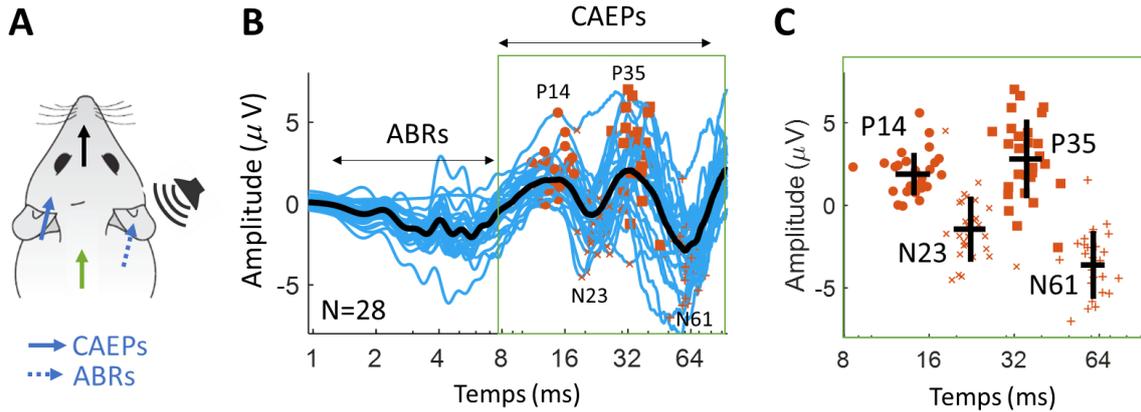


Figure 31 : Potentiels évoqués auditifs corticaux (CAEPs)

(A) Placement sous-cutané des électrodes pour des enregistrements des CAEPs : l'électrode de mesure (bleue) est placée au-dessus du cortex contralatéral, l'électrode de référence (noire) est placée sur le front et la masse (verte) dans le dos. (B) CAEP moyen (en noir), tracé sur une échelle de temps logarithmique jusqu'à 100 ms. En bleu : courbes individuelles. Repères orange : identification des pics positifs et négatifs de chaque courbe individuelle. (C) Repères orange issus de B. La moyenne de chaque pic successif définit un pic positif de latence 14 ms (P14), un pic négatif de latence 23 ms (N23), un pic positif de latence 35 ms (P35) et un pic négatif de latence 61 ms (N61). Les croix noires représentent la moyenne et l'écart-type pour les latences (axe horizontal) et l'amplitude (axe vertical). Adapté de Postal et al. 2022.

C. Enregistrements extracellulaires

Toutes les électrodes utilisées ont une impédance comprise entre 2 et 3 M Ω , une gamme permettant d'enregistrer typiquement 1 à 5 neurones localisés autour du site d'enregistrement.

1. Double implantation sous anesthésie

Afin de récolter simultanément les réponses neuronales aux stimuli sonores de plusieurs sites cérébraux, deux électrodes multisites sont implantées, l'une dans l'AC, et l'autre en sous-cortical (IC), après l'ouverture des zones d'intérêt décrite ci-dessus. L'implantation se fait à l'aide de deux micro-manipulateurs, électronique pour l'implantation sous-corticale (Scientifica), et manuel pour l'implantation corticale (Kopf). En sous-cortical, une électrode laminaire contenant 16 sites d'enregistrement (Microprobes, NeuroNexus) est positionnée suivant les repères stéréotaxiques existant dans la littérature (The Allen Brain Atlas, Kasabov 2014). Cette électrode permet de couvrir une profondeur de tissu de 1000 μm : entre 2900 μm et 3900 μm à partir de la surface pour le MGB et entre 900 μm et 1900 μm pour l'IC. Enfin, une matrice de 4 électrodes contenant 4 sites d'enregistrement chacune (NeuroNexus) est implantée dans les aires primaires de l'AC (A1 et AAF, *Anterior Auditory Field*) à une profondeur variant de 500 μm à 700 μm . La position des implantations corticales est guidée par

une expérience préalable précédant le retrait de la dure-mère pendant laquelle une large grille de 32 électrodes de surface de 1.5 mm x 1.5 mm (FlexMEA36-OM, Multi Channel Systems) est posée sur l'AC présumé. Seul le champ de potentiel local (LFP), équivalent à l'électroencéphalogramme de surface ou signal électrocorticographique (EcoG chez l'humain), est enregistré par ces électrodes basse-impédance. Cette grille d'électrodes permet de déterminer la tonotopie de l'AC et donc les zones primaires (qui seront implantées) et secondaires. La **Figure 32** illustre l'utilisation de la grille pour identifier les aires tonotopiques ainsi que la double implantation.

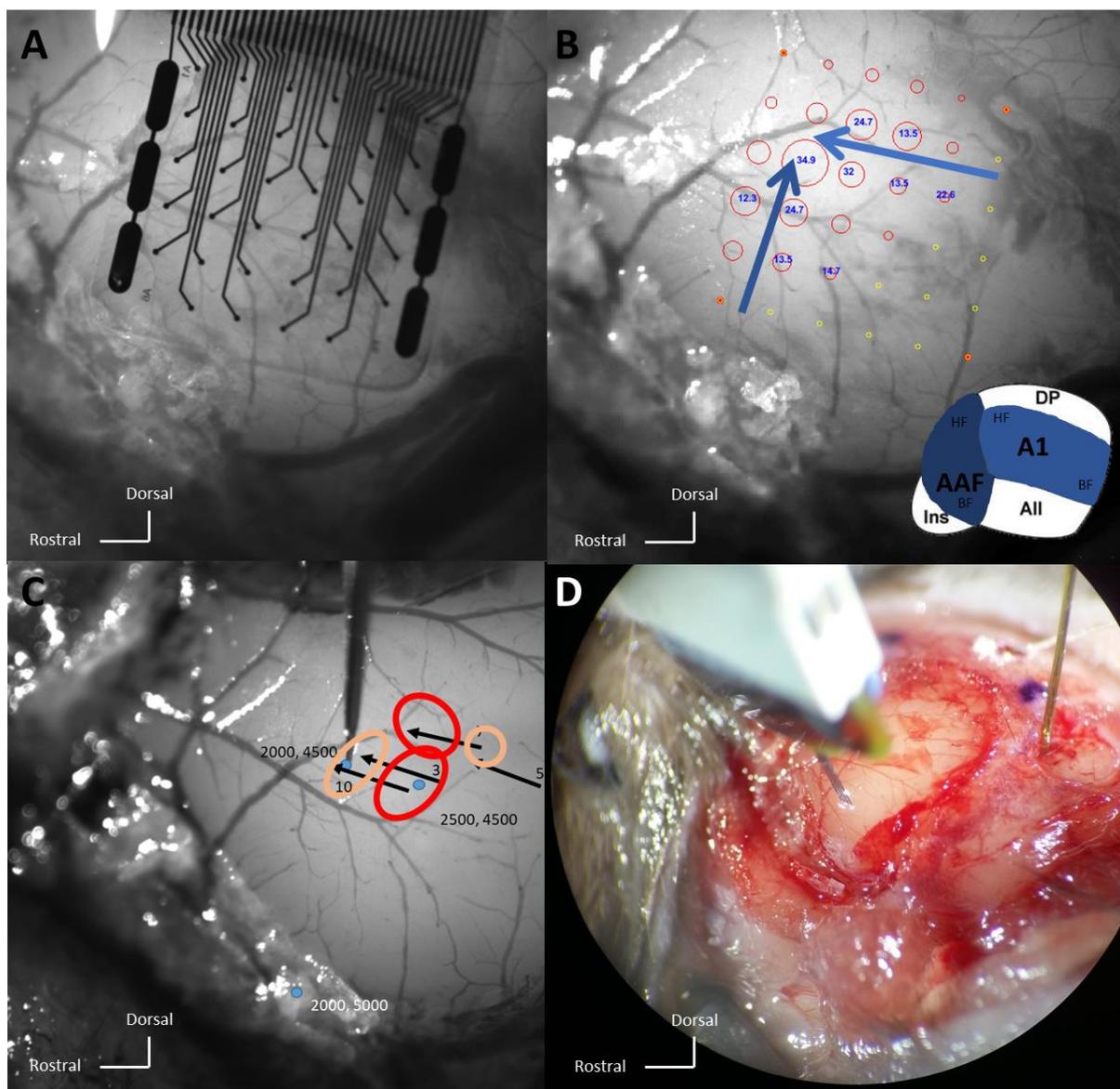


Figure 32 : Identification des aires tonotopiques du cortex auditif permettant l'implantation des électrodes corticales dans les aires primaires

Sur une même souris *Cdhr23* cKO (A) Prise de vue de la grille d'électrodes de surface couvrant le cortex auditif présomptif. (B) Fréquence de meilleure réponse (en bleu) et amplitude de la réponse à cette fréquence (largeur du rond) obtenues à partir des potentiels évoqués de surface enregistrés par la grille en réponse à l'envoi de sons purs. Les deux flèches indiquent les gradients tonotopiques des basses fréquences vers les hautes fréquences des aires primaires AFF (à gauche) et A1 (à droite). Un schéma simplifié des zones du cortex auditif est inséré en bas à droite (adapté de Hackett 2015) Prise de vue guidant systématiquement l'implantation corticale après retrait de la dure-mère : sont indiqués le lieu d'implantation des électrodes (flèches), les points de référence par rapport au bregma (en bleu), et la fréquence préférée (BF) de la zone déterminée après analyse des enregistrements (orange : $8 \text{ kHz} < \text{BF} < 20 \text{ kHz}$; rouge : $\text{BF} > 20 \text{ kHz}$). On notera la correspondance des fréquences entre B et C (D) Photo de la double implantation cortex auditif-colliculus inférieur.

Les électrodes implantées sont reliées à un système d'acquisition de données électrophysiologiques (OmniPlex, Plexon Inc), lui-même relié à un ordinateur affichant en temps réel les signaux récoltés. Le signal brut ainsi transmis est ensuite séparé en deux composantes (Figure 33) :

- La réponse LFP (*Local Field Potential*, le champ de potentiel local) contenue dans les basses fréquences du signal brut ($< 0.3 \text{ kHz}$) qui représente le potentiel électrique sommé sur une zone du tissu cérébral de plusieurs centaines de micromètres de diamètre (Destexhe et Bedard 2013);

- Les potentiels d'action extracellulaires des neurones proches de l'électrode et contenus dans les hautes fréquences du signal ($[0.6 - 10] \text{ kHz}$).

Les signaux enregistrés ont ensuite été analysés par le logiciel MATLAB (Mathworks, Inc).



Figure 33 : Exemple de signaux recueillis sur deux électrodes voisines

Signal brut (gauche), signal filtré passe-bas correspondant à la réponse LFP (centre), et signal brut filtré passe haut correspondant aux potentiels d'action (droite).

Différents stimuli sonores (décrits ci-dessous) sont présentés à l'aide d'un haut-parleur TDT ES1 (bande passante 2-100kHz) placé à 1 cm de l'oreille droite de la souris, les enregistrements ayant lieu dans les zones auditives gauche. Une fois tous les stimuli passés (ce qui prend environ 45 minutes), les électrodes sont délicatement retirées puis de nouveau implantées quelques micromètres à côté et les stimuli sont de nouveau présentés. Ce protocole

est répété 2 à 5 fois par animal, puisque la souris est euthanasiée sans réveil par dislocation cervicale et/ou décapitation.

Tout au long des enregistrements, une solution aqueuse (NaCl 0,9%) chauffée à 37°C est régulièrement appliquée sur les zones implantées pour les préserver de la déshydratation.

2. Enregistrements sur animaux vigiles

Dans les 7 jours suivant la chirurgie préparatoire, chaque souris est progressivement habituée à rester dans un tube en plastique (diamètre 30 mm) dans lequel ses membres peuvent bouger librement sans être comprimés, avec la tête immobile, par session de durée croissante (2 min à 2 h) tous les jours ou tous les 2 jours. A la suite de cette phase d'habituation au dispositif d'immobilisation, l'animal est placé dans le dispositif d'enregistrement, et sa tête est fixée au support dédié via la pièce de maintien posée sur le crâne lors de la chirurgie. Le silicone protégeant la zone d'enregistrement est retiré, une solution aqueuse (NaCl 0,9 %) chauffée à 37 degrés est déposée sur la zone à maintenir hydratée et une électrode à 32 canaux (Laminaire 32, A1x32-Poly2-5mm-50s-177, Neuronexus) est lentement insérée à l'aide d'un micromanipulateur manuel à une profondeur de 800 à 1200 µm. La zone de craniotomie étant plus petite sur un animal vigile par rapport à un animal anesthésié, l'identification de la tonotopie du cortex n'est pas possible via la grille d'électrodes comme décrit précédemment. L'aire d'implantation de l'AC n'est connue qu'après analyse des signaux enregistrés.

Différents stimuli sonores (décrits ci-après) sont présentés à l'aide d'un haut-parleur TDT ES1 (bande passante 2-100 kHz) placé à 1 cm de l'oreille droite de la souris, les enregistrements ayant lieu dans les zones auditives gauches. Un fois tous les stimuli passés (ce qui prend environ 30 minutes), l'électrode est délicatement retirée puis de nouveau implantée quelques micromètres à côté et les stimuli sont de nouveau présentés. Ce protocole est répété 1 à 3 fois par animal, selon l'état d'inconfort et de stress de ce dernier. En cas de signes importants de stress (notamment une agitation permanente, et des vocalisations importantes) l'animal est immédiatement libéré du système de fixation. En l'absence de problème, la durée de l'expérience est d'une à deux heures.

Les mouvements de l'animal, même imperceptibles à l'œil nu, peuvent grandement perturber la qualité du signal enregistré. Une injection sous-cutanée à faible dose de médétomidine (Domitor, 0,05 à 0,1 mg/kg) peut être effectuée 5 à 10 minutes avant l'immobilisation de l'animal. La souris est alors légèrement sédaturée mais toujours vigile, et les artéfacts dûs à l'activité musculaire sont fortement réduits.

A la fin de la session d'enregistrement, les zones d'intérêt sont recouvertes de l'élastomère de silicone assurant leur protection puis l'animal est libéré et remis dans sa cage. L'expérimentation est répétée plusieurs jours. L'immobilisation longue et répétée étant un facteur important de stress (Juczewski et al. 2020), l'état de l'animal est systématiquement vérifié ainsi que son poids avant chaque enregistrement. Une perte de poids excessive (soit plusieurs jours d'affilé, soit plus de 15 % en 24 heures), des signes de douleurs ou la dégradation de l'élastomère ou du ciment, et donc des zones qu'ils recouvrent, entraînent l'euthanasie de l'animal.

3. Stimulations auditives

Les stimuli utilisés peuvent être décrits selon les caractéristiques de leur largeur de bande spectrale. Certains sons, dits « à bande étroite », ont leur énergie distribuée sur une petite section de la gamme des fréquences audibles par l'animal, en opposition aux sons « large bande » dont l'énergie est distribuée sur une large section de cette gamme, voire sur la gamme entière

Son Pur : c'est un son à bande étroite long de 50 ms, de fréquence variant entre 2 kHz et 90kHz, présenté à une intensité de 77 dB et 8 fois pour chaque fréquence. Il permet d'obtenir le champ récepteur spectro-temporel (SpectroTemporal Receptive Field, STRF), qui informe sur la fréquence préférentielle du neurone enregistré et les résolutions fréquentielle et temporelle de sa réponse (Linden et al. 2003a) ;

Click : c'est une impulsion sonore de très courte durée (100 μ s) envoyée à plusieurs cadences de répétitions (2/s, 4/s, 8/s et jusqu'à 64/s). Ce son large bande (il contient en théorie toutes les fréquences) nous renseigne sur la capacité du neurone étudié à suivre des impulsions sonores répétées ;

2Tones : succession de deux sons purs long de 30 ms et séparés de 100 ms. La fréquence et l'intensité du 1^{er} son pur varie à chaque présentation (4 au total), tandis que la fréquence du 2^{ème} son est fixée par l'expérimentateur en fonction du STRF des neurones enregistrés (entre 8 et 34 kHz) et l'intensité fixée à 77 dB SPL.

GAP : bruit blanc (son large bande) présenté à plusieurs reprises à une intensité de 77 dB SPL pendant 1 seconde toutes les 2 secondes. Le bruit blanc est interrompu après 0,5 seconde par un bref silence (le *gap*) dont la durée varie (0, 2 ms, 4 ms, 8 ms, 16 ms, 32 ms et 64 ms).

Silence : aucun son n'est envoyé pendant 120 secondes. Cela permet l'enregistrement de l'activité spontanée des neurones étudiés.

Vocalisations : 9 vocalisations basses fréquences (entre 4 et 30 kHz) obtenues auprès de Grimsley et al. (2016).

Lorsque les stimuli sont présentés à des souris vigiles, l'intensité est diminuée de 10 dB SPL.

IV) Etudes comportementales

A. Dispositif expérimental : les Audiobox.

Comme système de suivi comportemental, j'ai utilisé l'Audiobox (TSE systems, États-Unis), qui a été décrit en détail par de Hoz et Nelken (2014) et dont le fonctionnement est résumé dans la **Figure 34**. Chaque animal était identifiable individuellement par l'Audiobox à l'aide d'un transpondeur (T-IS 8010 FDX-B, DATAMARS, Suisse) implanté avant les tests comportementaux dans le haut du dos après une rapide anesthésie (Isoflurane 3 %). Cela permet de réduire la manipulation des animaux par l'expérimentateur au nettoyage hebdomadaire des cages et des appareils. Plusieurs paradigmes expérimentaux ont été utilisés, principalement de deux types. Le premier protocole est un conditionnement de type « *Go/No-Go* » et permet l'évaluation des capacités auditives de discrimination fréquentielle ou temporelle. L'animal apprend à associer un stimulus (ici un son) à la possibilité de pouvoir boire (*Go*) et lorsqu'un autre stimulus est présenté, il ne doit pas essayer de boire (*No-Go*) sous peine de recevoir une punition (ici, un puff d'air). Le second type de protocole repose sur une simple écoute passive. Les sons sont présentés à une intensité de 77 (± 2) dB SPL via un haut-parleur (tweeter à dôme, 22TAF/G, Seas prestige) et ont été générés à l'aide du logiciel MATLAB (Mathworks, États-Unis) à une fréquence d'échantillonnage de 48 kHz.

Chaque paradigme *Go/No-Go* est constitué des étapes suivantes :

- *Une phase d'habituation au dispositif*, qui dure environ sept jours. Les souris sont mises dans le dispositif expérimental avec un accès à l'eau à volonté, afin qu'elles apprennent où sont les biberons.
- *Une phase d'habituation aux sons*, où seul un son est joué pour 100 % des visites. Ce son est appelé « *safe* ». C'est celui pour lequel les souris auront accès à l'eau pendant les phases de test. Les caractéristiques acoustiques de ce son sont invariables tout au long de l'expérience. Cette phase dure 3 à 6 jours.

Lors de ces deux phases, l'état et le poids des animaux sont contrôlés tous les un à deux jours. Une perte de poids de plus de 20 % entraîne l'exclusion de l'animal.

Des phases de test. Un deuxième son est introduit, appelé son « *target* », d'abord parfaitement différenciable pour un animal sans déficits pathologiques du son « *safe* ». Le son *target* est joué pour 20 % des visites, tandis que c'est le son *safe* qui est joué pour les 80 % restant. Lorsque le son *target* est joué, les souris ne doivent pas tenter d'accéder aux biberons (*i.e* faire un *nosepoke*) et reçoivent une punition, un puff d'air aversif, si elles tentent de boire. A chaque

phase de test, d'une durée de 3 à 5 jours selon la rapidité avec laquelle les souris apprennent le paradigme, le son *target* est de plus en plus similaire du son *safe*, ce qui permet de tester les capacités des souris à différencier les deux sons.

Les paradigmes d'écoute passive sont plus simples et se décomposent ainsi :

- Une phase d'habituation au dispositif, identique à celle décrite ci-dessus.
- Des phases de test, où un ou plusieurs stimuli sont joués à chaque visite. La première phase de tests comporte forcément un silence parmi les stimuli joués, afin de laisser la possibilité aux souris d'aller boire certaines fois sans qu'il n'y ait de sons. Ceci permet de prévenir les cas où les autres stimuli joués seraient aversifs et stresseraient les souris au point qu'elles refuseraient d'aller dans le dispositif de test.

Les protocoles pour les principaux paradigmes utilisés sont décrits ci-dessus.



Figure 34 : Dispositif expérimental Audiobox

L'Audiobox est un système de deux cages. L'une est à l'extérieur d'une boîte insonorisée et sert d'hébergement aux souris, qui y ont accès à la nourriture *ad libitum*. L'autre cage est située à l'intérieur de la chambre insonorisée, et contient le dispositif de test, appelé « *corner* ». Dans le *corner*, chaque souris est identifiée individuellement et a accès à deux biberons via deux ouvertures circulaires. Le système enregistre trois principaux paramètres : les visites, les *nosespokes*, lorsque la souris tente d'accéder aux biberons par l'une des ouvertures, et les *licks*, lorsque la souris boit aux biberons.

B. Les protocoles expérimentaux

1. Protocole de discrimination temporelle

Bruits modulés en amplitude. Adapté de Zhou et Merzenich (2012), ce paradigme de type *Go/No-Go* teste la capacité des souris à différencier différentes modulations d'amplitude (AM, *amplitude modulation*) d'un bruit blanc. Les souris apprennent à aller boire alors que le son *Safe*, ici un bruit blanc avec 20 AM par secondes, est joué à chaque visite. Une fois les souris habituées, le son *Target* est introduit toutes les 5 visites (soit 20 % des visites). Il est d'abord fixé à une cadence de 6 AM par seconde, puis la cadence est progressivement augmentée tous les 3 à 5 jours selon les performances des souris et ce jusqu'à 18 AM par seconde. Chaque session dure entre 3 et 6 jours.

Détection d'un GAP. Le protocole de détection des GAP est de type *Go/No-Go*. Il teste la capacité des souris à percevoir une brève interruption (le silence, appelé *gap*) dans un signal continu (un bruit blanc) présent pendant une seconde au début de chaque visite. Le son *safe* est un bruit blanc sans GAP, le son *target* un bruit blanc avec d'abord un *gap* de 32 millisecondes au milieu, puis le *gap* est réduit à 16, 8 et enfin 4 millisecondes.

2. Protocole de perception de la rugosité acoustique

Ce protocole est décrit en détail dans la **Publication n°2** page 114. Brièvement, pendant que les animaux entrent dans le *corner* et vont boire, ils écoutent

- Un son modulé en amplitude (un bruit blanc ou un son harmonique composé de la somme de sons purs à 4, 8, 12, 16, 20 kHz) à des cadences de 2, 5, 15, 25, 35, 70, 140 Hz ;
- Le même son non modulé en amplitude ;
- Un silence.

Chaque stimulus est présenté de manière aléatoire et s'arrête lorsque les animaux sortent du *corner*.

C. L'inhibition du réflexe de sursaut par un *gap*

Le réflexe de sursaut est une réaction de défense en réponse à un stimulus auditif soudain et de forte intensité (> 80 dB SPL), le *pulse*. Chez les rongeurs, il est évalué par les mouvements de la totalité du corps en réponse au *pulse* : l'animal sursaute. L'amplitude des mouvements est mesurée grâce à un accéléromètre piézoélectrique, qui détecte les vibrations et mesure leur intensité. Plus l'amplitude des mouvements de l'animal est grande, plus il va provoquer des vibrations. C'est un mécanisme réflexe faisant un simple circuit neuronal entre les noyaux

cochléaires et la formation réticulée dans le tronc cérébral et les motoneurones dans la moelle épinière (Gómez-Nieto et al. 2020). Ce réflexe peut être atténué par la présentation quelques dizaines de milliseconde avant le *pulse*, d'un autre son, moins fort, le *pre-pulse*. Dans un environnement bruyant, par exemple, un bruit blanc continu, le *pre-pulse* est un *gap*, un bref silence. Plus la perception du *gap* par l'animal est importante, moins il va sursauter en réponse au *pulse* : on appelle ce phénomène « inhibition du réflexe de sursaut » par le stimulus *pre-pulse*, et les mécanismes sous-jacents impliquent de nombreuses régions du système nerveux central, dont l'AC.

Pour mesurer l'atténuation du réflexe de sursaut, j'ai utilisé un système testant la réponse de chaque animal (SR-LAB systems, San Diego Instruments Inc.). Dans ce système, les souris sont placées individuellement dans un tube en plastique dont la base est plate et repose sur un accéléromètre piézoélectrique qui mesure les mouvements des souris. Un haut-parleur est placé au-dessus et l'ensemble est inclus dans une chambre sourde (**Figure 35A**). Le protocole d'inhibition du réflexe de sursaut que j'ai utilisé a été adapté de Weible et al. (2014). J'ai utilisé un bruit blanc à la fois pour le bruit de fond (à 80 dB SPL) et pour le *pulse* (50 ms à 100 dB SPL) (**Figure 35B-C**). Chaque *pulse* est séparé par un intervalle aléatoire entre 10 et 20 secondes. Les *gaps* du bruit de fond précèdent le *pulse* de 50 ms. J'ai utilisé des durées de *gaps* de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 25, 50 et 100 ms, chaque *gap* étant présenté 12 fois par session de manière aléatoire. L'amplitude des mouvements de l'animal est mesurée dans les 250 ms suivant le début du *pulse*. Si cette amplitude, mesurée en mV, est inférieure ou égale à 5 (absence de mouvement), ou si l'amplitude maximale survient plus de 70 ms après le début du *pulse* (latence trop longue pour être considéré comme un réflexe de sursaut), la valeur est ignorée. Pour chaque session, l'inhibition du réflexe de sursaut est calculée en comparant l'amplitude moyenne pour chaque *gap* de 2 à 100 ms avec l'amplitude moyenne lorsqu'il n'y a pas de *gap* (durée 0 ms).

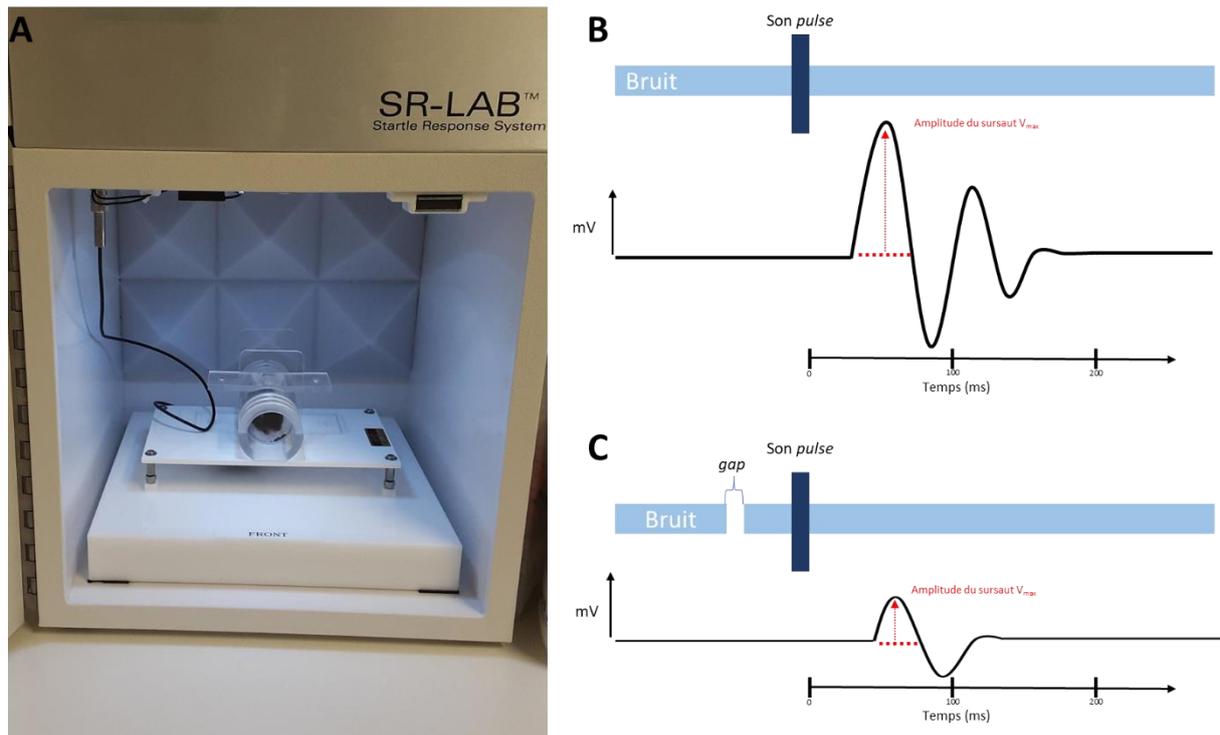


Figure 35 : L'inhibition du réflexe de sursaut par un *gap*

(A) Photo du système de mesure du réflexe de sursaut dans lequel une souris *Pcdh15* cKO est placée. (B) Représentation schématique du réflexe de sursaut en réponse à un son *pulse* dans un bruit. (C) Représentation schématique de l'atténuation du sursaut lorsqu'un silence (le *gap*) est présent 50 ms avant le son *pulse*. Le pourcentage d'atténuation est calculé en faisant le rapport entre l'amplitude du sursaut (V_{max}) avec un *gap* sur l'amplitude du sursaut en l'absence de *gap*.

V) Analyses statistiques

Les données électrophysiologiques des souris *Cdhr23* cKO ont été analysées statistiquement grâce à un test de variance ANOVA à deux facteurs (*groupe* pour les souris contrôles et *Cdhr23* cKO et *aire cérébrale* pour l'AC et l'IC) avec interaction. Si un effet a été détecté par le test ANOVA, les différences individuelles (contrôles vs *Cdhr23* cKO ou aire cérébrale AC vs IC) ont été analysées grâce à un test post-hoc de Tukey-Kramer (McDonald 2015). Il s'agit d'un test de type Student adapté au cas de comparaisons multiples. Les données électrophysiologiques des souris *Pcdh15* cKO ont été analysées statistiquement grâce à des tests de Student. Enfin, des tests non-paramétriques (Mann-Whitney) ont été utilisés lors de l'analyse des données comportementales.

Résultats

I) **Partie I : Développement et optimisation de systèmes
d'étude des déficits centraux chez la souris**

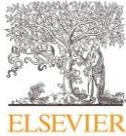
A. Publication n°1 : Caractérisation des Potentiels Evoqués Auditifs Sous-Cutanée chez la Souris

Travail accepté pour publication dans la revue *Hearing Research* en 2022.

Résumé

Chez la souris, l'exploration des déficits fonctionnels centraux repose souvent sur des méthodes invasives, comme des enregistrements intracrâniens de l'activité neuronale. Ceci rend techniquement difficile le diagnostic rapide de troubles centraux, et le suivi dans le temps de leur évolution notamment au cours du développement. Il est donc nécessaire de mettre au point des biomarqueurs facilement mesurables et de façon non invasive, chez l'animal et chez l'humain. Un biomarqueur est une caractéristique biologique mesurable, liée ou non à un processus pathologique. Par exemple, les ABRs sont des biomarqueurs facilement mesurables du fonctionnement de la cochlée et des premiers noyaux du système auditif central. Leur enregistrement est non-invasif chez l'animal (sous-cutané) comme chez l'humain (cutané). Cependant, ils se limitent aux premiers niveaux du système auditif, et ne sont par conséquent pas adaptés à l'étude des modifications du traitement auditif dans les régions cortico-thalamiques. Chez l'humain, ce problème est résolu par la mesure des potentiels évoqués auditifs corticaux (CAEPs) grâce à des électrodes de surface cutanées. En revanche chez la souris, les CAEPs sont peu utilisés, et ils sont mesurés la plupart du temps en utilisant des électrodes épidurales, c'est-à-dire implantées à la surface du cerveau. Étonnamment, l'utilisation d'électrodes placées en sous-cutanée, technique pourtant moins invasive, est peu fréquente.

Afin d'évaluer l'utilité des enregistrements sous-cutanés de CAEPs chez la souris et de déterminer les paramètres de stimulation et d'enregistrement qui produisent les résultats les plus robustes, nous avons enregistré les CAEPs en utilisant plusieurs types de stimulus, cadences de présentation et placements d'électrodes. Nous avons également étudié leurs générateurs en désactivant l'AC. Nos résultats suggèrent que les CAEPs dans la plage de latence de 14 à 80 ms fournissent des mesures robustes, fiables et peu invasives de la réponse thalamo-corticale controlatérale, permettant d'évaluer la fonction auditive corticale chez les souris dans différentes conditions.



Short communication

Characterizing subcutaneous cortical auditory evoked potentials in mice



Olivier Postal^{a,c,#}, Warren Bakay^{a,#}, Typhaine Dupont^a, Alexa Buck^a, Élodie Daoud^a,
Christine Petit^a, Nicolas Michalski^{a,#}, Boris Gourévitch^{a,b,#,*}

^a Institut de l'Audition, Institut Pasteur, INSERM, Université Paris Cité, F-75012 Paris, France

^b CNRS, France

^c Sorbonne Université, Collège Doctoral, F-75005 Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 March 2022

Revised 17 June 2022

Accepted 30 June 2022

Available online 3 July 2022

Keywords:

Auditory brainstem response
Cortical auditory evoked potential

ABSTRACT

Auditory Brainstem Responses (ABRs) are a reliably robust measure of auditory thresholds in the mammalian hearing system and can be used to determine deficits in the auditory periphery. However, because these measures are limited to the lower stages of the auditory pathway, they are insensitive to changes or deficits that occur in the thalamic and cortical regions. Cortical Auditory Evoked Potentials (CAEPs), as longer latency responses, capture information from these regions. However they are less frequently used as a diagnostic tool, particularly in rodent models, due to their inherent variability and subsequent difficult interpretation.

The purpose of this study was to develop a consistent measure of subcutaneous CAEPs to auditory stimuli in mice and to determine their origin. To this end, we investigated the effect on the CAEPs recorded in response to different stimuli (noise, click, and tone (16 kHz) bursts), stimulus presentation rates (2/s, 6/s, 10/s) and electrode placements. Recordings were examined for robust CAEP components to determine the optimal experimental paradigm. We argue that CAEPs can measure robust and replicable cortical responses. Furthermore, by deactivating the auditory cortex with lidocaine we demonstrated that the contralateral cortex is the main contributor to the CAEP. Thus CAEP measurements could prove to be of value diagnostically in future for deficits in higher auditory areas.

© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

Introduction

Auditory Brainstem Responses (ABRs) recorded near the ears are frequently used to measure auditory thresholds in mammals and can be used to identify peripheral hearing deficits. ABRs occur within the first 10 ms after sound presentation and are thought to emanate from successive activation of the ascending auditory pathway (Felix et al., 2018; Winkler et al., 2013). However, ABRs do not capture cortical activity. To circumvent this limitation, human studies have long made use of scalp electroencephalography (EEG) to focus on higher order auditory areas. In particular, click stimulation induces two main middle-latency waves in the EEG, Na/Pa (~15–35 ms) and Nb/Pb (35–60 ms) the origins of which remain controversial with most likely generators being the auditory thalamus and primary auditory cortex, while the midbrain or secondary auditory cortex are less likely (Musiek and Nagle, 2018;

Picton et al., 1974). So called longer latency waves N1/P2/N2 occur at around 100/180/300 ms, respectively, and are thought to reflect higher order processing involving primary, secondary and associative auditory cortices (Godey et al., 2001; Tremblay and Burkard, 2012). These Cortical Auditory Evoked Potentials (CAEPs) have already been widely used in human studies to assess pharmacodynamics, cortical lesions, sensory processing and deficits and clinical outcomes on auditory cortical function (Davies et al., 2010; Ibañez et al., 1989; Johnson, 2009; Litscher, 1995; Supp et al., 2018; Winkler et al., 2013).

In mice, an important genetic animal model, there have been only a few studies using middle or long latency CAEPs and the majority of these were obtained epidurally (Farley et al., 2019; Metzger et al., 2007; O'Reilly and Conway, 2021; Siegel et al., 2003). Subcutaneous CAEPs are surprisingly infrequently used diagnostically despite being less invasive and still providing relatively good spatial information.

To assess the usability of subcutaneous CAEP recordings in mice, and to determine which stimulation and recording parameters produce the most robust results, we recorded CAEPs using

* Corresponding author at: 63 rue de Charenton, 75012 Paris

E-mail address: boris@pi314.net (B. Gourévitch).

The authors contributed equally.

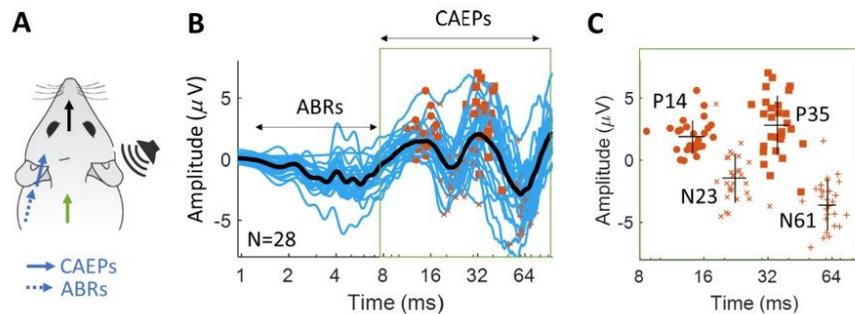


Fig. 1. Cortical Auditory Evoked Potentials (CAEPs) in response to 5 ms noise bursts A) Electrode placements for CAEP recordings using the terminology of ABRs (IMPreSS, 2022): reference electrode (plain blue) above contralateral cortex, recording electrode (black) in rostral midline, ground (green) on the dorsum. B) Average (black) and individual (blue) CAEP traces plotted on a log timescale up to 100 ms. Orange dots indicate positive and negative maxima identified in individual curves. C) Positive and negative maxima from B (orange markers) shown without curves. The average latency for each subsequent maxima are labeled P14, N23, P35 and N61 respectively. Black crosses indicate mean and standard deviation bars in both the latency (horizontal) and amplitude (vertical) directions.

multiple stimulus types, presentation rates and electrode placements. We also investigated their generators using auditory cortical deactivation. Our findings suggest that CAEPs in the latency range of 14–80 ms provide robust, reliable and minimally invasive measures of the contralateral thalamo-cortical response, allowing for assessment of the cortical auditory function in mice under different conditions.

Methodology

In an acoustically and electromagnetically isolated chamber, sounds were presented by Tucker-Davis Technologies (TDT) RZ6 to either closed field in-ear (TDT EC1) or free-field (TDT ES1) transducers. Electrophysiological responses were recorded from subcutaneous electrodes (SC25, NeuroService) at a 24 kHz sampling rate (TDT RA4), subjected to a Butterworth filter between 3 Hz and 3 kHz and displayed by TDT Biosigz software.

We used 90 mice (age P28–81) from strains C57BL6/JRj (56 males, 11 females), CBA/JRj (4 males, 4 females) and FVB/NRj (15 females; $n = 5$ at 112–115 days old). For all mice, ABRs/CAEPs were performed under Ketamine (150 mg/kg, Imalgene®) and Xylazine (6 mg/kg, Rompun®) anesthesia or isoflurane inhalation (between 0.6% and 1.5% isoflurane in a 95% oxygen mixture with a flow rate of 0.2 to 0.4 L/min). Hearing thresholds were measured using standard ABRs with 5 ms tone pip stimuli (2,4,8,16,24,32,48,64 kHz). Mice with thresholds more than 10 dB above normal responses (Zhang et al., 2013) were excluded and strains had comparable thresholds (Supp. Fig. 1). After ABR recordings, the post-auricular reference electrode was moved above the contralateral auditory cortex to record CAEPs (Fig. 1A).

For cortical surface evoked potential recordings, an induction cocktail (Buprenorphine 0.1 mg/kg, Ketamine 190 mg/kg, Xylazine 4.5 mg/kg) was used and mice were maintained under isoflurane inhalation. A circular craniotomy with a maximum diameter of 2 mm was performed above the auditory cortex using a tungsten carbide bur of 0.5 mm (Edenta). The craniotomy was performed contralateral to the sound presentation and centered at 2.5 mm posterior to and 4.5 mm lateral to bregma. The bone above the craniotomy window was gently detached from the dura using saline at 37 °C and removed using Dumont#5 forceps. The reference electrode was then placed next to the craniotomy subcutaneously or epidurally within the craniotomy window.

CAEP stimuli were white noise bursts or 16 kHz pure tone pips (5 ms long, 1 ms of rising and falling ramps) or 100 μ s clicks, pre-

sented 100 times at a stimulus rate of 2 Hz. Statistical analyses included repeated ANOVA (RANOVA) and Wilcoxon (W) or Mann-Whitney (MW) non-parametric tests. Alpha risk is 5%.

Results

Subcutaneous recordings of CAEPs

In response to 5-ms long noise bursts, the signals recorded from electrodes over the contralateral cortex (Fig. 1A) show early subcortical peaks, typically seen in ABRs, before 8 ms and two subsequent sequences of large positive (P) and negative (N) maxima (P14, N23, P35, N61, Fig. 1BC). The reproducibility of these waves at specific latencies ensures that peaks and troughs can be identified unambiguously in each animal (Fig. 1C).

Best parameters for subcutaneous CAEP recordings

To optimize reliable and repeatable CAEP waves, we first examined the choice of stimulus (Fig. 2A). Tone stimuli produced smaller P35–N23 (peak-to-trough amplitude difference) than 5 ms noise bursts and smaller N61–P35 than both noise bursts and clicks (N23–P14 :RANOVA, $F(2,18) = 2.72$, $p = 0.093$; P35–N23: RANOVA, $F(2,18) = 4.5$, $p = 0.026$, noise vs tone, $WX = 48$, $p = 0.037$; N61–P35: RANOVA, $F(2,18) = 4.83$, $p = 0.02$, noise vs tone, $WX = 50$, $p = 0.02$, click vs tone, $WX = 51$, $p = 0.014$). Both clicks and 5 ms noise stimuli produced similar peak-to-trough amplitudes. We thus continued our investigation using only 5 ms noise bursts.

We found similar shapes for CAEPs in males and females (Fig. 2B) but the first deflection N23–P14 had a significantly higher amplitude in males (N23–P14: MW = 639, $p = 0.014$; P35–N23: MW = 582, $p = 0.5$; N61–P35: MW = 616, $p = 0.08$). Although isoflurane led to a decrease in CAEP amplitude in some animals, compared to Ketamine/Xylazine, this effect was, on average, not significant (Fig. 2C&i, N23–P14: $WX = 46$, $p = 0.28$; P35–N23: $WX = 42$, $p = 0.46$; N61–P35: $WX = 29$, $p = 0.76$). In addition, the type of anesthesia had no effect on latencies (N23–P14: $WX = 32$, $p = 0.97$; P35–N23: $WX = 26$, $p = 0.58$; N61–P35: $WX = 33$, $p = 0.92$).

We then examined the sensitivity of CAEPs to the reference electrode position (Fig. 2D). Placing the electrode at the vertex or ipsilateral cortex led to a smaller CAEP amplitude than seen with electrode above contralateral cortex especially for early waves (N23–P14, RANOVA, $F(3,27) = 3.5$, $p = 0.03$, contra vs vertex,

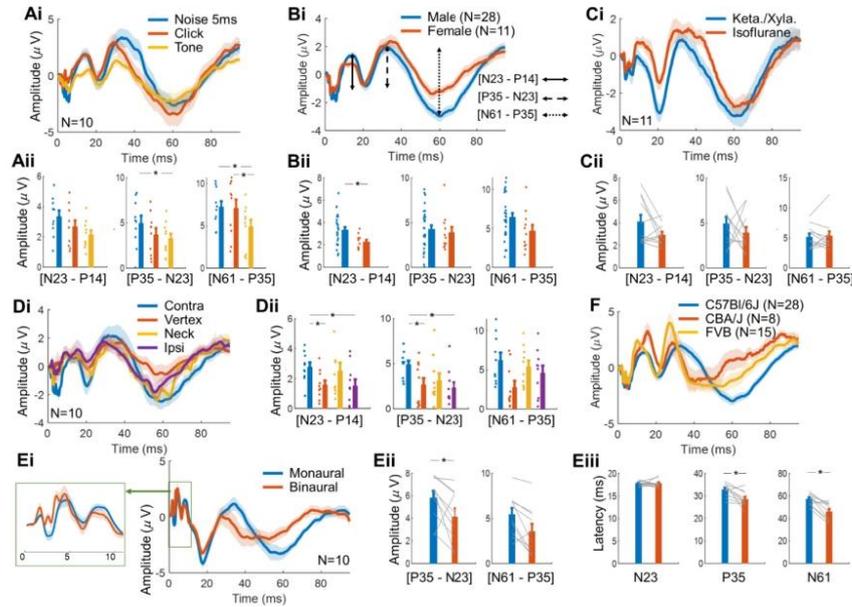


Fig. 2. Best Parameters for CAEP recordings. A) Influence of the stimulus: average CAEPs (Ai) and peak-to-trough amplitude quantification (Aii) when using a short noise burst of 5 ms (blue), a click (red) or a 16 kHz tone (yellow) as a stimulus. In Ai, pale colors around the average are standard errors. B) Same as A with the influence of sex on CAEPs. Black arrows illustrate peak-to-trough quantification in A, B, C. C) Same as A) with the influence of the anesthetic used on CAEPs. D) Same as A) with the influence of the reference electrode placement: above the contralateral auditory cortex (blue), at the vertex (red), at the neck (yellow) or above the ipsilateral auditory cortex (purple). E) Average CAEPs when using an insert speaker (blue, monaural, closed field) or a free field speaker at 2 cm from the ear (red). Eii) peak-to-trough amplitude quantification. Eiii) peak latency. F) Average CAEPs for three mouse strains.

$W = 53, p = 6e-3$; contra vs ipsi, $W = 49, p = 0.03$; $P35-N23$, RANOVA, $F(3,27) = 5.29, p = 5e-3$, contra vs vertex, $W = 48, p = 0.04$; contra vs ipsi, $W = 51, p = 0.01$; $N61-P35$, RANOVA, $F(3,27) = 2.4, p = 0.09$. Despite neck and contralateral cortical placements not being statistically distinguishable ($P35-N23$, WX test, $W = 44, p = 0.1, N23-P14$, WX test, $W = 36, p = 0.43$), less noisy CAEPs were obtained when the reference electrode was placed above the contralateral auditory cortex.

We then compared the effect of binaural and monaural stimulation, using a free field (bilateral) and close-field (unilateral) speaker, respectively. In the [0 10]ms time interval (Fig. 2E, green rectangle), peaks corresponding to classical ABRs appeared more clearly for the binaural stimulation, as the contralateral CAEP electrode acts as an ABR-like electrode for the contralateral ear stimulated by the free-field speaker. Long-latency CAEPs were modified by the binaural condition (Fig. 2E): amplitude was reduced for $N61-P35$ deflection ($P35-N23$: WX = 46, $p = 0.06$; $N61-P35$: WX = 50, $p = 0.02$) and latencies were shorter for $P35$ and $N61$ maxima ($N23$: WX = 37, $p = 0.36$; $P35$: WX = 52, $p = 0.01$; $N61$: WX = 54, $p = 4e-3$).

Finally, we tested the robustness of CAEP shapes in two additional mouse strains (Fig. 2F) with comparable thresholds (supp. Fig. 1). We observed consistent sequences of two waves between 14 and 80 ms in all strains although peak-to-trough amplitudes and late peak latencies differed slightly from our reference C57BL6 strain.

Isolating the CAEP generators

In the following, the standard recording configuration in male C57BL6 mice was monaural stimulation with 5 ms noise bursts and recording electrode placed above contralateral auditory cortex.

To investigate the contribution of the contralateral auditory cortex to CAEPs, we adopted two strategies. First, we increased the stimulation rate because this mostly affects cortical responses. Indeed, average phase-locking abilities of neural populations decrease as one ascends the auditory system, possibly due to progressive changes in cellular and network properties (Joris et al., 2004; Rosburg and Mager, 2021). Consistently, the epidural CAEPs, which primarily reflect the auditory cortical response, showed a smaller negative peak around 25 ms with increased stimulation rate, while subsequent peaks disappeared altogether (Fig. 3A). We obtained a similar result with subcutaneous CAEPs where the amplitude and latency of peak P14 were maintained, consistent with thalamocortical activity, while the latency of N23 increased, consistent with responses of the primary auditory cortex to 10 Hz. Later peaks, with contributions from associative areas, were heavily degraded or absent (Fig. 3B).

Second, we inactivated the contralateral auditory cortex during CAEP recording using lidocaine dropped directly onto the exposed cortical surface using a pipette (Fig. 3C). After verifying that lidocaine ($2-5\mu\text{L}$, 16 mg/mL, 37°C) reliably inactivated the contralateral auditory cortex during epidural recordings (Supp. Fig.

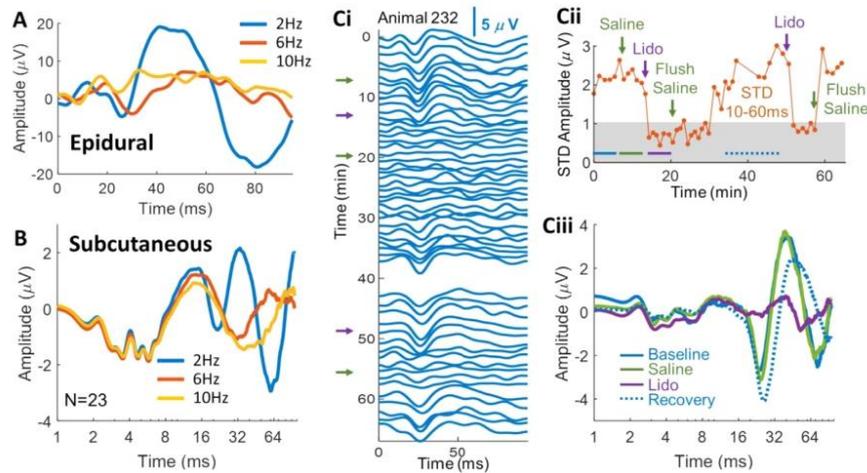


Fig. 3. Isolating the CAEP generators. A) Epidural recordings of CAEPs in one animal in response to noise bursts presented at rates of 2, 6 and 10 Hz. B) Averaged subcutaneous CAEPs for the same stimulation rates as in A. Ci) CAEPs recorded over one hour during successive application of saline (green arrows) and lidocaine (purple arrows). Instantaneous CAEPs are plotted for each time point along the y axis from stimulus onset at 0 min. Cii) Standard deviations (STD) for each trace in Ci calculated over the [8–100]ms time interval post-stimulus onset. Applications of saline and lidocaine (lido) are indicated. Gray area shows 95th percentile of STDs across CAEPs of the one-hour session, estimated on time interval [80–100]ms of each CAEP. Ciii) Averaged CAEPs before (plain blue) and after (plain green) saline application, after lidocaine (plain purple) and after saline flush (dotted blue). Corresponding times considered for averaging CAEPs are shown in Cii as horizontal plain and dotted colored bars.

2Ai,Bi), we applied the same protocol while recording subcutaneous CAEPs. Under lidocaine application, CAEPs remained unchanged until 20 ms after the stimulus onset and then flattened dramatically (Fig. 3Ciii). In addition, *contralateral* auditory cortical deactivation was sufficient to abolish most of the CAEP signal (Fig. 3Ci, replications in Supp. Fig. 3). These observations for monaural stimulation were reversible upon flushing the cortex with saline (37 °C, 300 μ L, 0.9%), reproducible with successive deactivation and flushing, and were similar in the case of binaural stimulation (Supp. Fig. 2 Ci). Note that prolonged CAEP latencies could be observed after recovery (Fig. 3Ciii), likely due to residual lidocaine. This effect on CAEPs has already been observed following intravenous lidocaine injections (Murofushi et al., 1994).

Discussion

Reliability of CAEP recordings

We found that CAEPs in response to noise bursts were robust. This reproducibility in amplitude and latency allows unambiguous identification of peaks and troughs across animals within [10–80]ms, latencies relevant to higher order processing (Fig. 1C). The pattern of four peaks P14, N23, P35 and N61 is maintained across all tested mouse strains (Fig. 2F) though latency and amplitude can vary between strains, corroborating previous observations in mouse epidural recordings (Siegel et al., 2003). To our knowledge, only one preprint recorded click-evoked subcutaneous CAEPs in mutant mouse models and found similar peak patterns to ours (Zinnamon et al., 2019).

Clicks are well suited to peripheral activation, such as those recorded by ABRs, insofar as they induce larger wave amplitudes than tones (Scimemi et al., 2014). In fact, both clicks and 5 ms noise bursts were able to induce larger peak-to-trough amplitudes than tones in CAEPs (Fig. 2Ai). We subsequently chose 5 ms noise bursts as they were easier to calibrate acoustically and produced a more sustained peak at the \approx 35 ms latency than clicks.

As with ABRs, CAEPs in animal models are typically obtained under anesthesia, which can impact auditory processing e.g. by disrupting top-down pathways (Raz et al., 2014) and neural oscillations (Madler et al., 1991), increasing latencies (Manninen et al., 1985) and depressing cortical responses (Gaese and Ostwald, 2001; Huetz et al., 2009; Noda and Takahashi, 2015). Anesthesia typically impacts central processes more than peripheral ones (Heinke and Koelsch, 2005), and consequently CAEPs more than ABRs. Thus, it would be of interest to perform these recordings in awake animals, which has various hurdles: subcutaneous needles may cause discomfort or stress to the animal and therefore have ethical implications and induce movement artifacts in recordings. A possibility would be to wake the animal after electrode implantation under brief gas anesthesia, that latter having few persistent effects on the brain (Hambrecht-Wiedbusch et al., 2019). In our study, despite their different pharmacodynamics, we found that isoflurane and Ketamine/Xylazine elicited similar CAEP peak latencies and amplitudes. However, under isoflurane N23-P14 amplitudes were reduced, although not significantly, in many animals and signal-to-noise ratios were worse than under Ketamine/Xylazine, consistent with previous reports on ABRs (Cederholm et al., 2012; Ruebhausen et al., 2012).

Monaural and binaural stimulations provided slightly different CAEP patterns. In ABRs, a binaural component occurs as early as 3 ms in mice, possibly triggered by the activation of the superior olivary complex (Laumen et al., 2016). However, the binaural component is proportionally smaller in ABRs than in higher order auditory evoked potentials (10–300 ms), at least in humans (McPherson and Starr, 1993). Consistently, we found the biggest difference between monaural and binaural CAEPs occurred after 25–30 ms with a lower amplitude for binaural stimulation. This latter result is consistent with studies in rats and guinea-pigs (Di and Barth, 1993; Özdamar et al., 1986), which are at odds with those in cats and humans pointing towards species specific inhibitory effects following ipsilateral stimulation.

While epidural recordings used in most previous work on middle- and long-latency waves in rodents indeed show a better signal-to-noise ratio (McGee et al., 1983; Metzger et al., 2007; Siegel et al., 2003; Simpson and Knight, 1993) than CAEPs (compare the voltage levels between Fig. 3A and B), CAEPs have the clear advantage of being non-invasive. Overall, our results demonstrate CAEPs to be a robust measure of cortical activity recordable in large cohorts of animals as an adjunct to ABRs.

Generators of CAEPs

Peaks of auditory evoked potentials from short to long latencies in humans are thought to stem from spatially distinct neural generators and thus in theory can be disambiguated (Godey et al., 2001; Woods et al., 1987). Nevertheless, subcutaneous CAEP generators in mice are currently unknown.

We can attempt to identify analogous waveforms in human studies of auditory evoked potentials (Godey et al., 2001; Musiek and Nagle, 2018; Picton et al., 1974; Tremblay and Burkard, 2012). Owing to their small head size, waves in rodents should occur at shorter latencies than in humans, possibly divided by a factor of two for long latency waves (Knight et al., 1985; Siegel et al., 2003; Simpson and Knight, 1993). Thus, the complex P14/N23 in mice could correspond to the human middle latency evoked potentials and N61 would correspond to a long-latency wave as defined for humans. It remains controversial as to whether the mouse P35 is analogous to the human P50 (Simosky et al., 2003) or N100 (Siegel et al., 2003). Following in this vein, the CAEP generators would likely be in the thalamo-cortical complex, with possible contributions from non-primary auditory areas for P35 and N61.

Consistently, latencies around 14 ms are compatible with thalamus-related evoked activities (Land et al., 2016) while deep (Metzger et al., 2007; Siegel et al., 2003) and epidural (Fig. 3A) recordings show peaks at around 20 ms in the primary auditory cortex of mice. Additionally, it is known that the auditory thalamus is able to reliably respond to each noise burst at a stimulation rate around 10 Hz while the primary auditory cortical responses at this rate are reduced and even more so for higher cortical areas (Joris et al., 2004). In our study, the presentation rates above 6 Hz, and possibly above 2 Hz, preserved the early ABR and P14 peaks, but caused a delay in N23 and a collapse of the later P35 and N61 peaks suggesting these waves correspond to cortical activity.

Finally, to determine its contribution to CAEPs the auditory cortex (both primary and non-primary areas, these areas being inseparable anatomically) was inhibited using lidocaine which resulted in loss of N23, P35 and N61 peaks. Lidocaine applied to the cortical surface has been shown to not extend to the thalamus (Yang et al., 2013), the auditory region of which is particularly deep at ~3 mm below the brain surface. Therefore, it is likely that the remaining P14 arises subcortically and most likely from the auditory thalamus.

Together, this evidence would suggest a thalamic origin for P14, and an auditory cortical origin, most likely primary, for N23 and P35, compatible with middle-latency evoked potentials and consistent with previous findings on epidural recordings in mice (Siegel et al., 2003). The generators for N61 are less clear but are thought to reside in primary and non-primary auditory areas, based on its higher sensitivity to stimulus presentation rate and its latency compatible with human N1 and P2 (Siegel et al., 2003).

CRedit author statement

Olivier Postal: Investigation, Data Curation, Formal analysis, Writing; **Warren Bakay**: Investigation, Data Curation, Formal analysis, Writing, Methodology; **Typhaine Dupont**: Investigation, Data

Curation; **Alexa Buck**: Investigation, Writing; **Élodie Daoud**: Investigation, Data Curation, Formal analysis, Methodology; **Christine Petit**: Resources, Funding acquisition; **Nicolas Michalski**: Resources, Funding acquisition, Writing – Review & Editing, Supervision; **Boris Gourévitch**: Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Writing, Visualization, Supervision.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Animalerie Centrale of the Institut Pasteur for assistance with the project.

Data Availability

The datasets generated for this study are available on request to the corresponding author.

Ethics Statement

Animal experiments were performed in accordance with French and European regulations for the care and protection of laboratory animals (EC Directive 2010/63, French Law 2013–118), with authorization from the Institut Pasteur Ethics Committee for animal experimentation.

Funding

BG was supported by grants from the ANR (French National Research Agency, ANR-15-CE37-0007-01; ANR-21-CE34-0012). OP was supported by the **Fondation pour la Recherche Médicale** (FDM201806005994). AB was supported by a FET Open European Grant (Hearlight, 964568). NM was supported by grants from the ANR as part of the second Investissements d'Avenir program LIGHT4DEAF (ANR-15-RHUS-0001) and LabEx LIFESENSES (ANR-10-LABX-65), LHW-376 Stiftung, and by the Fondation pour l'Audition (FPA-IDA03).

Supplementary materials

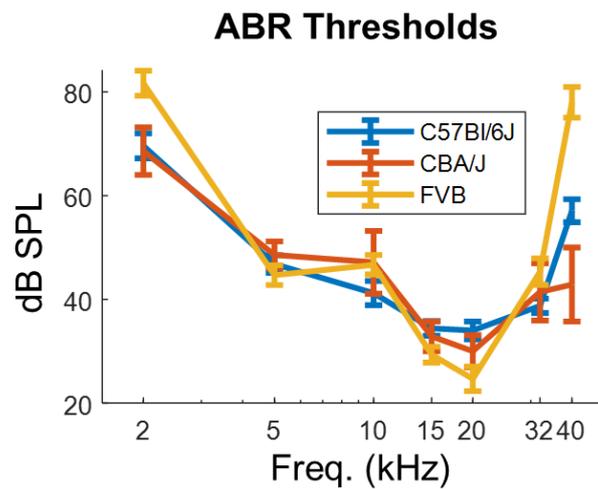
Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.heares.2022.108566.

References

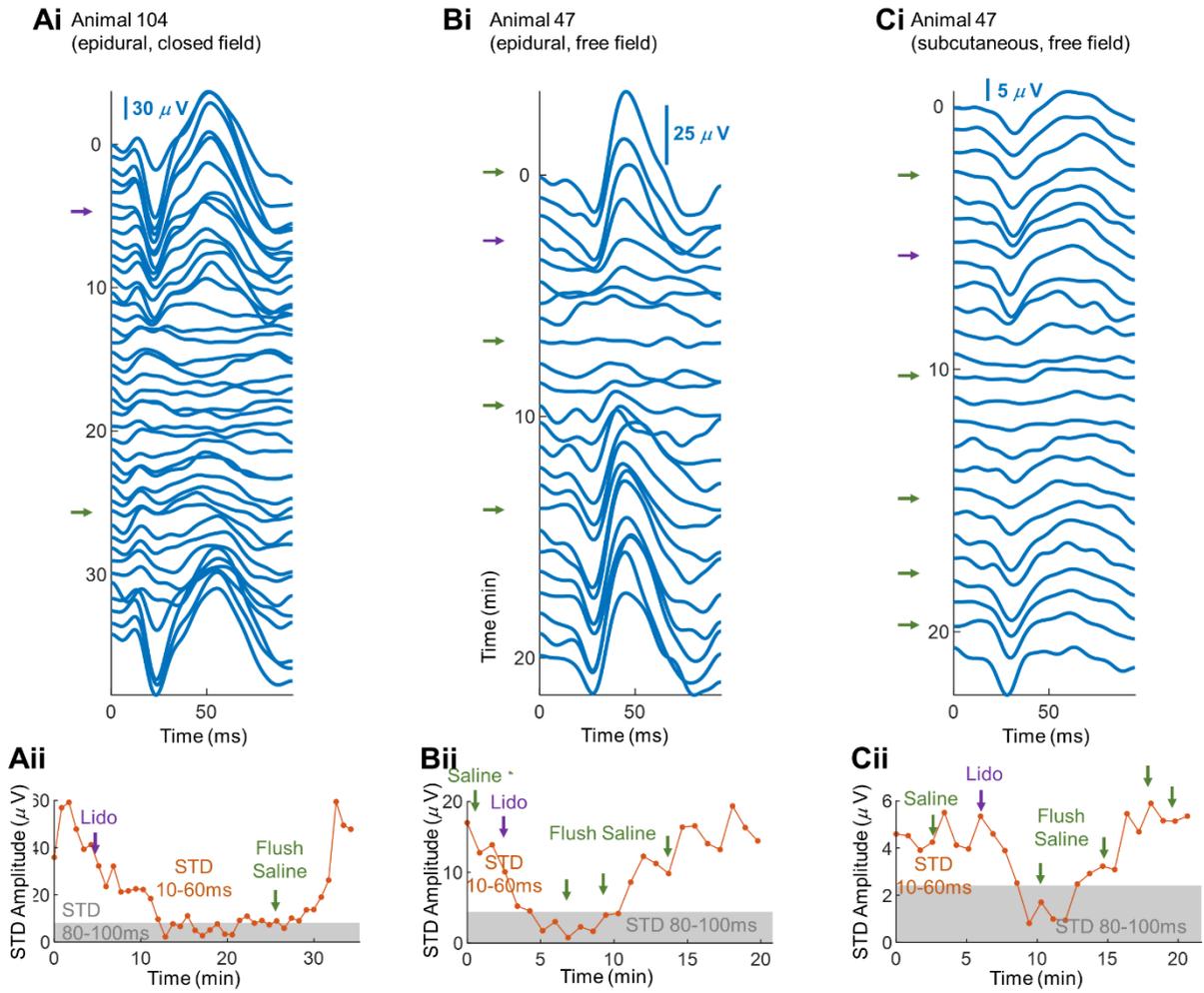
- Cederholm, J.M.E., Froud, K.E., Wong, A.C.Y., Ko, M., Ryan, A.F., Housley, G.D., 2012. Differential actions of isoflurane and ketamine-based anaesthetics on cochlear function in the mouse. *Hear. Res.* 292, 71–79. doi:10.1016/j.heares.2012.08.010.
- Davies, P., Chang, W.-P., Gavin, W., 2010. Middle and late latency ERP components discriminate between adults, typical children, and children with sensory processing disorders. *Front. Integr. Neurosci.* 4.
- Di, S., Barth, D.S., 1993. Binaural vs. monaural auditory evoked potentials in rat neocortex. *Brain Res.* 630, 303–314. doi:10.1016/0006-8993(93)90670-1.
- Farley, B.J., Morozova, E., Dion, J., Wang, B., Harvey, B.D., Gianni, D., Wipke, B., Cadavid, D., Wittmann, M., Hajos, M., 2019. Evoked potentials as a translatable biomarker to track functional remyelination. *Molecular and Cellular Neurosci.* 99, 103393. doi:10.1016/j.mcn.2019.103393.
- Felix, R.A., Gourévitch, B., Portfors, C.V., 2018. Subcortical pathways: towards a better understanding of auditory disorders. *Hear. Res.* doi:10.1016/j.heares.2018.01.008.
- Gaese, B.H., Ostwald, J., 2001. Anesthesia changes frequency tuning of neurons in the rat primary auditory cortex. *J. Neurophysiol.* 86, 1062–1066.
- Godey, B., Schwartz, D., de Graaf, J.B., Chauvel, P., Liegeois-Chauvel, C., 2001. Neuro-magnetic source localization of auditory evoked fields and intracerebral evoked potentials: a comparison of data in the same patients. *Clin. Neurophysiol.* 112, 1850–1859.
- Hambrecht-Wiedbusch, V.S., LaTendresse, K.A., Avidan, M.S., Nelson, A.G., Phyle, M., Ajluni, R.E., Mashour, G.A., 2019. General anesthesia does not have persistent effects on attention in rodents. *Front. Behav. Neurosci.* 13, 76. doi:10.3389/fnbeh.2019.00076.
- Heinke, W., Koelsch, S., 2005. The effects of anesthetics on brain activity and cognitive function. *Curr. Opin. Anesthesiol.* 18, 625–631. doi:10.1097/01.Lac.0000189879.67092.12.

- Huetz, C., Philibert, B., Edeline, J.M., 2009. A spike-timing code for discriminating conspecific vocalizations in the thalamocortical system of anesthetized and awake guinea pigs. *J. Neurosci.* 29, 334–350.
- Ibañez, V., Deiber, M.P., Fischer, C., 1989. Middle latency auditory evoked potentials in cortical lesions. *Critical of interhemispheric asymmetry. Arch. Neurol.* 46, 1325–1332.
- IMPreSS, 2022. ABR Protocol. International Mouse Phenotyping Resource of Standardised Screens.
- Johnson, J.M., 2009. Late auditory event-related potentials in children with cochlear implants: a review. *Dev. Neuropsychol.* 34, 701–720. doi:10.1080/87565640903265152.
- Joris, P.X., Schreiner, C.E., Rees, A., 2004. Neural processing of amplitude-modulated sounds. *Physiol. Rev.* 84, 541–577. doi:10.1152/physrev.00029.2003.
- Knight, R.T., Brailowsky, S., Scabini, D., Simpson, G.V., 1985. Surface auditory evoked potentials in the unrestrained rat: component definition. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 61, 430–439. doi:10.1016/0013-4694(85)91035-1.
- Land, R., Burghard, A., Kral, A., 2016. The contribution of inferior colliculus activity to the auditory brainstem response (ABR) in mice. *Hear. Res.* 341, 109–118. doi:10.1016/j.heares.2016.08.008.
- Laumen, G., Ferber, A.T., Klump, G.M., Tollin, D.J., 2016. The physiological basis and clinical use of the binaural interaction component of the auditory brainstem response. *Ear Hear.* 37, e276–e290. doi:10.1097/AUD.0000000000000301.
- Litscher, G., 1995. Middle latency auditory evoked potentials in intensive care patients and normal controls. *Int. J. Neurosci.* 83, 253–267. doi:10.3109/00207459508986342.
- Madler, C., Keller, I., Schwender, D., Pöppel, E., 1991. Sensory information processing during general anaesthesia: effect of isoflurane on auditory evoked neuronal oscillations. *Br. J. Anaesth.* 66, 81–87. doi:10.1093/bja/66.1.81.
- Manninen, P.H., Lam, A.M., Nicholas, J.F., 1985. The effects of isoflurane and isoflurane-nitrous oxide anesthesia on brainstem auditory evoked potentials in humans. *Anesth. Analg.* 64, 43–47.
- McGee, T.J., Özdamar, Ö., Kraus, N., 1983. Auditory middle latency responses in the guinea pig. *Am. J. Otolaryngol.* 4, 116–122. doi:10.1016/S0196-0709(83)80013-1.
- McPherson, D.L., Starr, A., 1993. Binaural interaction in auditory evoked potentials: brainstem, middle- and long-latency components. *Hear. Res.* 66, 91–98. doi:10.1016/0378-5955(93)90263-Z.
- Metzger, K.L., Maxwell, C.R., Liang, Y., Siegel, S.J., 2007. Effects of nicotine vary across two auditory evoked potentials in the mouse. *Biol. Psychiatry* 61, 23–30. doi:10.1016/j.biopsych.2005.12.011.
- Murofushi, T., Kaga, K., Asakage, T., 1994. Temporary latency shifts in auditory evoked potentials by injection of lidocaine in the rat. *Hear. Res.* 76, 53–59. doi:10.1016/0378-5955(94)90086-8.
- Musiek, F., Nagle, S., 2018. The middle latency response: a review of findings in various central nervous system lesions. *J. Am. Acad. Audiol.* 29, 855–867. doi:10.3766/jaaa.16141.
- Noda, T., Takahashi, H., 2015. Anesthetic effects of isoflurane on the tonotopic map and neuronal population activity in the rat auditory cortex. *Eur. J. Neurosci.* 42, 2298–2311. doi:10.1111/ejn.13007.
- O'Reilly, J.A., Conway, B.A., 2021. Classical and controlled auditory mismatch responses to multiple physical deviances in anaesthetised and conscious mice. *Europ. J. Neurosci.* 53, 1839–1854. doi:10.1111/ejn.15072.
- Özdamar, Ö., Kraus, N., Grossman, J., 1986. Binaural interaction in the auditory middle latency response of the guinea pig. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 63, 476–483. doi:10.1016/0013-4694(86)90129-X.
- Picton, T.W., Hillyard, S.A., Krausz, H.I., Galambos, R., 1974. Human auditory evoked potentials. I: evaluation of components. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 36, 179–190. doi:10.1016/0013-4694(74)90155-2.
- Raz, A., Grady, S.M., Krause, B.M., Uhlrich, D.J., Manning, K.A., Banks, M.I., 2014. Preferential effect of isoflurane on top-down vs. bottom-up pathways in sensory cortex. *Front. Syst. Neurosci.* 8, 191. doi:10.3389/fnsys.2014.00191.
- Rosburg, T., Mager, R., 2021. The reduced auditory evoked potential component N1 after repeated stimulation: refractoriness hypothesis vs. habituation account. *Hear. Res.* 400, 108140. doi:10.1016/j.heares.2020.108140.
- Ruebhausen, M.R., Brozski, T.J., Bauer, C.A., 2012. A comparison of the effects of isoflurane and ketamine anesthesia on auditory brainstem response (ABR) thresholds in rats. *Hear. Res.* 287, 25–29. doi:10.1016/j.heares.2012.04.005.
- Scimemi, P., Santarelli, R., Selmo, A., Mammano, F., 2014. Auditory brainstem responses to clicks and tone bursts in C57 BL/6 J mice. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* 34, 264–271.
- Siegel, S.J., Connolly, P., Liang, Y., Lenox, R.H., Gur, R.E., Bilker, W.B., Kanes, S.J., Turetsky, B.I., 2003. Effects of Strain, Novelty, and NMDA blockade on auditory-evoked potentials in mice. *Neuropsychopharmacology* 28, 675–682. doi:10.1038/sj.npp.1300087.
- Simosky, J.K., Stevens, K.E., Adler, L.E., Freedman, R., 2003. Clozapine improves deficient inhibitory auditory processing in DBA/2 mice, via a nicotinic cholinergic mechanism. *Psychopharmacology (Berl)* 165, 386–396. doi:10.1007/s00213-002-1285-x.
- Simpson, G.V., Knight, R.T., 1993. Multiple brain systems generating the rat auditory evoked potential. II. Dissociation of auditory cortex and non-lemniscal generator systems. *Brain Res.* 602, 251–263. doi:10.1016/0006-8993(93)90690-0.
- Supp, G.G., Higgen, F.L., Hipp, J.F., Engel, A.K., Siegel, M., 2018. Mid-latency auditory evoked potentials differentially predict sedation and drug level under opioid and hypnotic agents. *Front. Pharmacol.* 9.
- Tremblay, K.L., Burkard, R.F., 2012. Translational Perspectives in Auditory Neuroscience: Hearing Across the Life Span – Assessment and Disorders. Plural Publishing.
- Winkler, I., Denham, S., Escera, C., 2013. Auditory Event-related Potentials. In: Jaeger, D., Jung, R. (Eds.), *Encyclopedia of Computational Neuroscience*. Springer, New York, New York, NY, pp. 1–29. doi:10.1007/978-1-4614-7320-6_99-1.
- Woods, D.L., Clayworth, C.C., Knight, R.T., Simpson, G.V., Naeser, M.A., 1987. Generators of middle- and long-latency auditory evoked potentials: implications from studies of patients with bipartite lesions. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol./Evoked Potentials Section* 68, 132–148. doi:10.1016/0168-5597(87)90040-2.
- Yang, J.-W., An, S., Sun, J.-J., Reyes-Puerta, V., Kindler, J., Berger, T., Kilb, W., Luhmann, H.J., 2013. Thalamic network oscillations synchronize ontogenetic columns in the newborn rat barrel cortex. *Cerebral Cortex* 23, 1299–1316. doi:10.1093/cercor/bhs103.
- Zhang, Q., Liu, H., McGee, J., Walsh, E.J., Soukup, G.A., He, D.Z.Z., 2013. Identifying MicroRNAs involved in degeneration of the organ of corti during age-related hearing loss. *PLoS ONE* 8, e62786. doi:10.1371/journal.pone.0062786.
- Zinnamon, F.A., Harrison, F.G., Wenas, S.S., Meyer, A.F., Liu, Q., Wang, K.H., Linden, J.F., 2019. Hearing loss promotes schizophrenia-relevant brain and behavioral abnormalities in a mouse model of human 22q11.2 deletion syndrome. *bioRxiv* 539650. doi:10.1101/539650.

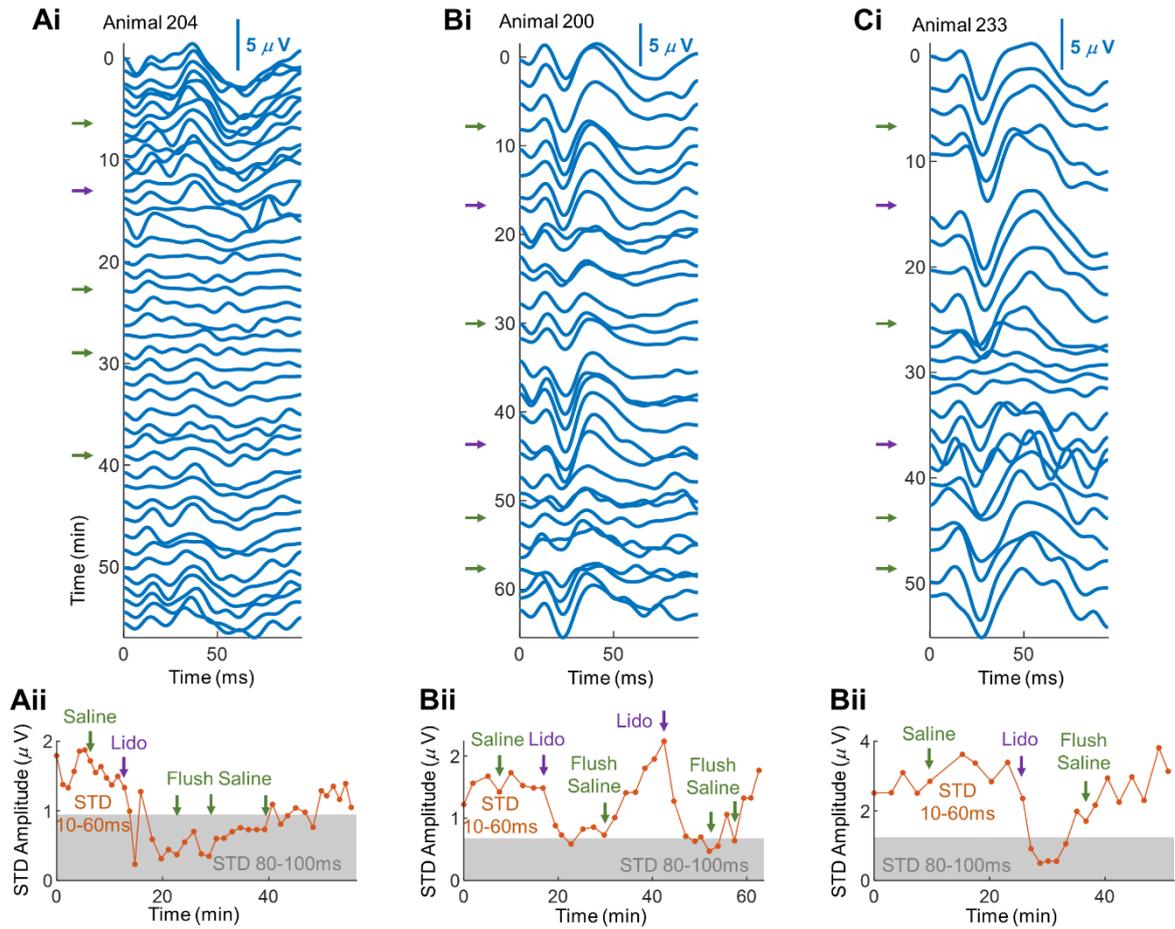
Supplementary Figures



Supplementary Figure 1: Average ABR thresholds for the three strains of mice used in this study. Error bars are standard error of the mean. FVB showed a higher threshold only at 40 kHz, possibly because of the older age of some FVB mice (ANOVA 2 factors Strain and Frequency; Interaction Strain & Frequency $F(12,303)=7.66$, $p<1e-10$; Freq. 40kHz: post-hoc t-test with Tukey Cramer correction: FVB vs CBA or C57, $p<1.1e-6$; all other frequencies, FVB vs CBA vs C57, $p>0.05$).



Supplementary Figure 2: Cortical deactivation. Ai, Bi and Ci) As for Fig 3 Ci but recorded using epidural closed field, epidural free field and subcutaneous free field paradigms recorded from different animals. Aii, Bii and Cii) as for Fig 3 Cii for the corresponding animals shown in Ai, Bi and Ci respectively.



Supplementary Figure 3: Cortical deactivation. Ai, Bi and Ci) As for Fig 3 Ci but recorded from different animals. Aii, Bii and Cii) as for Fig 3 Cii for the corresponding animals shown in Ai, Bi and Ci respectively.

B. Publication n°2 : Comportement spontané de la souris en présence de sons dissonants et rugueux

Travail publié dans la revue *Frontiers in Behavioral Neuroscience* en 2020.

Résumé

Comprendre comment les modèles animaux perçoivent les sons qu'ils entendent est primordial pour relier le fonctionnement moléculaire et cellulaire des circuits auditifs au comportement de l'animal en réaction aux sons, ainsi qu'évaluer l'impact comportemental des déficits auditifs centraux. Si de nombreuses études ont montré que les souris sont capables de différencier des sons selon certaines de leurs caractéristiques fréquentielles ou temporelles, nous pouvons nous demander si certains stimuli auditifs ont une valence/charge émotionnelle particulière pour les souris, s'ils sont perçus de manière agréable ou désagréable, et si les souris partagent des caractéristiques avec d'autres espèces. Chez l'humain, une récente hypothèse (Arnal et al. 2015) a mis en évidence que la rugosité acoustique, des modulations temporelles de l'enveloppe des sons entre 30 et 150 Hz, est une caractéristique majeure des signaux d'alarmes naturels (comme les cris) et artificiels permettant d'améliorer leur détection. De plus, d'autres types de sons sont rugueux, comme les sons dissonants, et cette rugosité contribuerait à la sensation désagréable qu'ils provoquent à notre oreille. Dans la nature, des espèces peuvent réagir spontanément aux cris d'alarme d'une autre espèce, en particulier chez les Mammifères, ce qui pourrait impliquer des réponses neuronales analogues. Cependant, la question de savoir si la rugosité auditive peut entraîner des perceptions ou même des réactions désagréables chez les Mammifères non-humains reste largement inexplorée.

Grâce à un système autonome d'études comportementales, nous avons testé si des sons consonants et dissonants, et plus spécifiquement la rugosité acoustique, provoquaient une aversion semblable à la sensation désagréable provoquée chez l'humain. Si nous n'avons observé aucune préférence pour les sons consonants ou dissonants, certaines modulations temporelles de l'enveloppe des sons semblent aversives pour les souris. En revanche, celles-ci semblent préférer les sons rugueux, contrairement à l'humain. Ceci suggère que l'enveloppe temporelle acoustique porte bien des caractéristiques émotionnelles même chez la souris, mais que celles-ci sont susceptibles d'être spécifiques à chaque espèce étant donné les fréquences de modulation différentes. L'étude des zones cérébrales impliquées dans la perception désagréable de certains stimuli pourrait permettre de mieux comprendre comment certains troubles auditifs comme l'hyperacousie affectent d'autres circuits cérébraux, comme ceux liés à l'attention ou au plaisir.



Spontaneous Mouse Behavior in Presence of Dissonance and Acoustic Roughness

Olivier Postal^{1,2†}, Typhaine Dupont^{1†}, Warren Bakay^{1†}, Noémi Dominique¹, Christine Petit^{1,3,4}, Nicolas Michalski^{1†} and Boris Gourévitch^{1,5*†}

¹ Institut de l'Audition, Institut Pasteur, INSERM, Paris, France, ² Sorbonne Université, Collège Doctoral, Paris, France, ³ Syndrome de Usher et Autres Atteintes Rétino-Cochléaires, Institut de la Vision, Paris, France, ⁴ Collège de France, Paris, France, ⁵ CNRS, Paris, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Rainer Schwarting,
University of Marburg, Germany

Reviewed by:

Gen-ichi Tasaka,
Hebrew University of Jerusalem, Israel
Konstantin Radyushkin,
Johannes Gutenberg University
Mainz, Germany

*Correspondence:

Boris Gourévitch
boris@ip314.net

[†] These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Individual and Social Behaviors,
a section of the journal
Frontiers in Behavioral Neuroscience

Received: 30 July 2020

Accepted: 08 September 2020

Published: 08 October 2020

Citation:

Postal O, Dupont T, Bakay W,
Dominique N, Petit C, Michalski N and
Gourévitch B (2020) Spontaneous
Mouse Behavior in Presence
of Dissonance and Acoustic
Roughness.
Front. Behav. Neurosci. 14:588834.
doi: 10.3389/fnbeh.2020.588834

According to a novel hypothesis (Arnal et al., 2015, *Current Biology* 25:2051–2056), auditory roughness, or temporal envelope modulations between 30 and 150 Hz, are present in both natural and artificial human alarm signals, which boosts the detection of these alarms in various tasks. These results also shed new light on the unpleasantness of dissonant sounds to humans, which builds upon the high level of roughness present in such sounds. However, it is not clear whether this hypothesis also applies to other species, such as rodents. In particular, whether consonant/dissonant chords, and particularly whether auditory roughness, can trigger unpleasant sensations in mice remains unknown. Using an autonomous behavioral system, which allows the monitoring of mouse behavior over a period of weeks, we observed that C57Bl6J mice did not show any preference for consonant chords. In addition, we found that mice showed a preference for rough sounds over sounds having amplitude modulations in their temporal envelope outside the “rough” range. These results suggest that some emotional features carried by the acoustic temporal envelope are likely to be species-specific.

Keywords: auditory roughness, auditory consonance, auditory dissonance, temporal envelope, envelope modulations, aversive sounds, mouse behavior

INTRODUCTION

An easy way to catch the attention of a conspecific individual and ensure an optimal sensory-motor reaction is to increase sound intensity, by screaming or crying. These two communication signals are considered to be innate and shared across many species, particularly mammals (Newman, 2007; Lingle et al., 2012). They are usually termed “alarm calls” and are uttered in dangerous situations (like the presence of a predator) or by infants looking for adult caregivers (Zuberbühler, 2009).

In humans, recent studies show that alarm sounds present a common acoustic property: they are “rough” (Arnal et al., 2015, 2019). Acoustic roughness, which arises from amplitude modulation of the temporal envelope of sounds, with a modulation frequency between 30 and 150 Hz, typically elicits unpleasant sensations and increases attention (Fastl and Zwicker, 2007).

Hypothetically, roughness could be a common feature of “alarm calls” which would involve analogous neuronal responses across mammalian species (Newman, 2007; Lingle et al., 2012).

Consistent with this hypothesis, despite the obvious species specificities (Gouzoules and Gouzoules, 2000), “alarm calls” of one species can be eavesdropped by another (Magrath et al., 2015), and mammals of a given species can respond to infant cries of several other species (Lingle and Riede, 2014). However, whether auditory roughness can substantiate unpleasant perceptions or even reactions in non-human mammals remains largely unexplored.

Auditory roughness is also often seen as contributing to dissonance according to Helmholtz’s theory (Helmholtz and Ellis, 1895; McDermott, 2012), as dissonant chords are rougher (i.e., they contain larger depth of amplitude modulation within the roughness frequency range) compared to consonant ones (Vassilakis, 2001). Here again, in contrast with humans, the preference for consonant sounds over dissonant ones of mammals is inconsistent (Fannin and Braud, 1971; McDermott and Hauser, 2004; Sugimoto et al., 2009; Chiandetti and Vallortigara, 2011; Koda et al., 2013) and unknown in mice.

We investigated the behavioral response of C57Bl/6J mice to consonant and dissonant chords, and rough sounds in general. To do so, we used a fully automatic apparatus allowing continuous monitoring of individual mouse behavior, over weeks, in response to various sounds, with no need for any conditioning or human intervention.

MATERIALS AND METHODS

Apparatus: Audiobox

We used C57Bl/6J mice (20 females and 19 males) between 65 and 80 days old at the beginning of experiments.

As a behavioral monitoring system, we used the Audiobox (TSE systems, United States), which has been extensively described (de Hoz and Nelken, 2014) and the operation of which is summarized in **Figure 1**.

Each animal was individually identifiable by the Audiobox using a transponder (T-IS 8010 FDX-B, DATAMARS, Switzerland) implanted prior to behavioral testing in the upper back after a light anesthesia (Ketamine, 190 mg/kg; Xylazine 4.5 mg/kg; intraperitoneal). This reduced handling of the animals by the experimenter to the weekly cleaning of the cages and apparatus.

Acoustic Stimuli

All sounds were generated using MATLAB software (Mathworks, United States) at a sampling frequency of 48 kHz. We created

- Consonant and dissonant chords by summing a reference note (C7, 2093 Hz) and its harmonics, all with equal amplitude, to another note, see **Figure 1B**. Chords were presented in sequences of 300 ms of sound separated by 100 ms silence.
- Amplitude Modulated (AM) sounds: broadband noise or a harmonic complex tone including 4 kHz and its harmonics, all with equal amplitude, were amplitude-modulated (100% of modulation depth) at rates of 2, 5 (see **Figure 1Cii**), 15, 25, 35, 70, and 140 Hz.

Sounds were presented at 77 (± 2) dB SPL using a dome tweeter (22TAF/G, Seas prestige). Roughness of sounds was estimated using Vassilakis’ estimation method (2001) implemented in the free Matlab MIR toolbox. Original formula from Vassilakis for the roughness of two tones of frequencies

f_1, f_2 , and amplitudes a_1, a_2 is $r = \frac{(a_1 a_2)^{0.1}}{2} \left(\frac{2 \min(a_1, a_2)}{a_1 + a_2} \right)^{3.11} Z$

where $Z = e^{-3.5F} - e^{-5.75F}$, $F = S(\min(f_1, f_2))/|f_1 - f_2|$ and

$S = \frac{0.24}{0.0207f + 18.96}$. The roughness for more complex sounds (as here) is estimated by adding the roughness of all the possible individual tone-pairs.

Protocols

Habituation

All our protocols began with a “transition” phase of 2–3 days (not shown in results), during which bottles of water were freely available in the home cage. In the following phase (“habituation,” 3–4 days), the bottles of water were then placed into the experimental corner. The doors were open all the time and no sound was emitted when a mouse was visiting or nose-poking. During these two phases, or during any following protocol, an animal was excluded from the experiment if its weight decreased by 20% or if it noticeably suffered from injury or stress.

Protocol 1, Passive Sound Listening

Each sound set consists of five possible sounds played. During each visit, one sound from the sound set is chosen randomly (probability 20%) and played until the mouse leaves the corner. The different sound sets successively tested (each over 3–6 days) were:

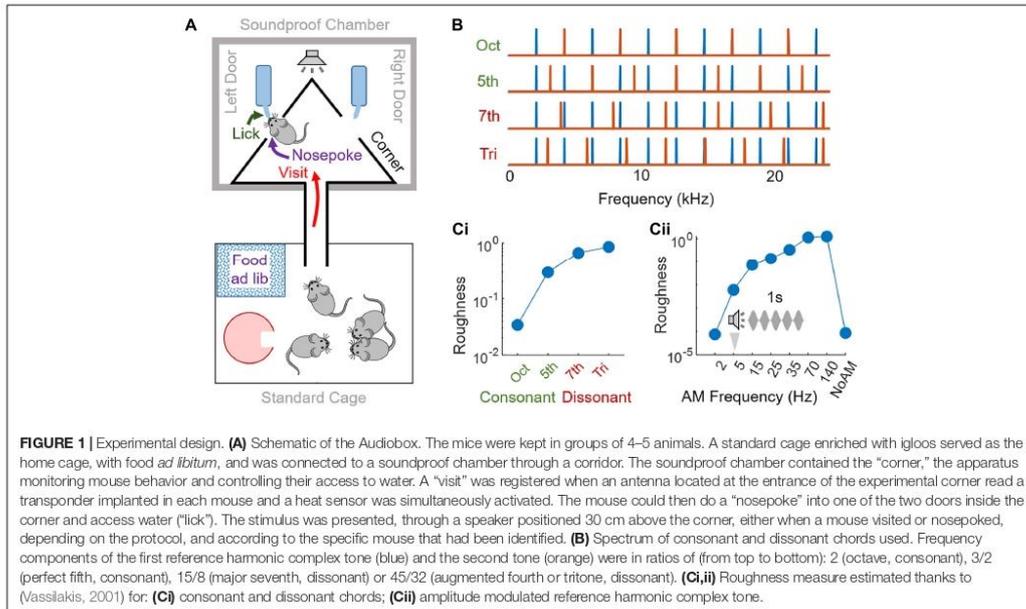
- (1) Consonant/Dissonant Chords: Silence, octave chord (Oct), perfect fifth (5th), major seventh (7th), tritone (Tri).
- (2) AM Noise Experiment 1: Silence, AM broadband noise with modulation frequencies (MFs) of 5, 15, 25, and 35 Hz.
- (3) AM Noise Experiment 2: Silence, AM broadband noise with MFs of 2, 70, 140 Hz and no AM.
- (4) AM Complex Tone Experiment 1: Silence, AM reference harmonic complex tone with MFs of 5, 15, 25, and 35 Hz.
- (5) AM Complex Tone Experiment 2: Silence, AM reference harmonic complex tone with MFs of 2, 70, 140 Hz and no AM.

Protocol 2, Two-Choice

For 6 days, nose-poking was associated to the presentation of either sound 1 (a given door) or sound 2 (the other door). The preference index of one animal toward one sound or another was as follows:

$$\text{Preference Index}_{\text{nosepoking}} = \frac{\frac{\text{nosepokes for sound 1}}{\text{nosepokes at same door in silence}} - \frac{\text{nosepokes for sound 2}}{\text{nosepokes at same door in silence}}}{\frac{\text{nosepokes for sound 1}}{\text{nosepokes at same door in silence}} + \frac{\text{nosepokes for sound 2}}{\text{nosepokes at same door in silence}}}$$

This preference index controls for the bias induced by the baseline preference to a given door, which was determined



beforehand, in silence, during the habituation phase. The preference index ranges between -1 and 1 , with the extremes showing nosepoking exclusively to the doors associated with sounds 2 or 1, respectively. A similar index was built from licking instead of nosepoking.

Analysis and Statistics

Our data was analyzed using ANOVA tests with one factor (sound, dubbed ANOVA) or two factors (sex and sound, dubbed ANOVA 2) and *post-hoc* *t*-tests with Tukey-Kramer correction. To improve readability, for most tests used in the manuscript, we inserted a reference (a small letter in subscript) linking to the full details of the test in **Supplementary Table 1**.

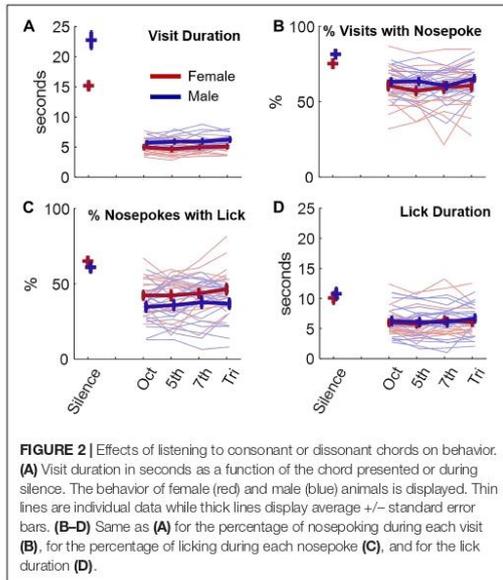
RESULTS

Mouse Behavior Is Insensitive to Consonant vs. Dissonant Sounds

We first assessed the behavior of mice in silence and in the presence of consonant (octave, 5th) and dissonant (7th, tritone) chords. Mice made 148 ± 38.7 (STD) visits per day (**Supplementary Figure 1A**). Both male and female mice nosepoked and licked less, and durations of both visits and licks were shorter, when a sound was presented vs. when no sound was played (**Figure 2**, ANOVA 2, for all variables, sound effect^{a1,a2,a3,a4} $p < 1e-10$, *post-hoc* silence vs any sound^{b1,b2,b3,b4} $p < 1e-3$). Nonetheless, there was no effect of the chord heard at each visit on any subsequent visiting, nosepoking or

licking behavior of the animal (ANOVA 2 without silence, all variables, sound effect^{c1,c2,c3,c4}, $p > 0.33$). In addition, there was no effect of the chord heard on the first day either, suggesting that this result was not due to any habituation to the stimuli (**Supplementary Figure 1B**, ANOVA 2 without silence, all variables, sound effect^{d1,d2,d3,d4}, $p > 0.78$). In general, the behavior was slightly different between males and females, with females visiting and nosepoking less but licking more for each nosepoke (ANOVA 2 factors sex and sound, sex effect, visit duration^{d1}, % nosepoking^{d2}, % licking^{d3} $p < 5e-3$, lick duration^{d4} $p = 0.42$, **Figure 2**).

Changing the way sounds were played, i.e., using continuous versions of chords instead of sequences of 300-ms long chords interspaced by 100-ms long silences, did not elicit a change of mice behavior in response to consonance and dissonance (ANOVA without silence, all variables^{e1,e2,e3,e4}, $p > 0.91$, **Supplementary Figure 1C**). Increasing the sound level at 82 dB SPL instead of 77 dB SPL also resulted in no effect of consonance/dissonance on mouse behavior (ANOVA without silence, all variables, sound effect^{f1,f2,f3,f4}, $p > 0.2$, **Supplementary Figure 1D**). These results suggest that mice were not sensitive to consonance or dissonance, at least not as defined by the literature and examined by our protocols. However, after the first day at 82 dB SPL (purple curve, **Supplementary Figure 1D**), there was a small trend toward a greater duration of both visits and licks during tritone and 7th chords (ANOVA without silence, visit duration, lick duration, sound effect^{g1,g2,g3,g4}, $p < 0.03$, *post-hoc* Oct and 5th vs. Tritone for lick duration, $p < 0.02$).



A preference for dissonant chords may have quickly vanished after a few days due to some habituation of the animals. We found this result intriguing but the trend was weak. One isolated parameter contributing to the pleasantness of consonant/dissonant sounds could have a stronger effect on animals. We decided to focus on roughness, which has long been suspected of partially explaining the aversive effect of dissonant chords.

Mouse Behavior Is Highly Sensitive to the Roughness of Sounds

We scrutinized whether our animals exhibited a similar behavior in response to sounds with varying levels of roughness (**Figures 3A,B**). Using the same approach of passive listening as for the consonant/dissonant chords, we tested amplitude modulated sounds at 2, 5, 15, 25, 35, 70, and 140 Hz, the carrier sounds being either complex tones (fundamental frequency 4 kHz) or broadband noise (see section “Materials and Methods”). We also tested these carrier sounds with no amplitude modulation. This case sounds like, and is mathematically equivalent to, having an infinitely fast AM.

Unlike the consonant/dissonant chords, the varying AM rate of sounds elicited distinct behaviors which were robust across gender and stimuli (**Figures 3A,B**). For complex tones and for very slow AM rates (2 and 5 Hz) or no AM, the visits of the animals were typically shorter and the percentage of visits with a nosepoke and a lick was also smaller (complex tones, ANOVA $2^{h1,h3,h4}$, *post-hoc* 35 Hz vs 2, 5 Hz, no AM, $p < 0.02$) than for 25–70 Hz AM rates. This same pattern appeared in the presence

of AM modulated broadband noise but the difference between 35 Hz and the other frequencies was significant only for visit duration (AM noise, ANOVA 2 factors sex and sound¹¹, *post-hoc* 35 Hz vs. 2, 5 Hz, no AM, $p < 1e-4$).

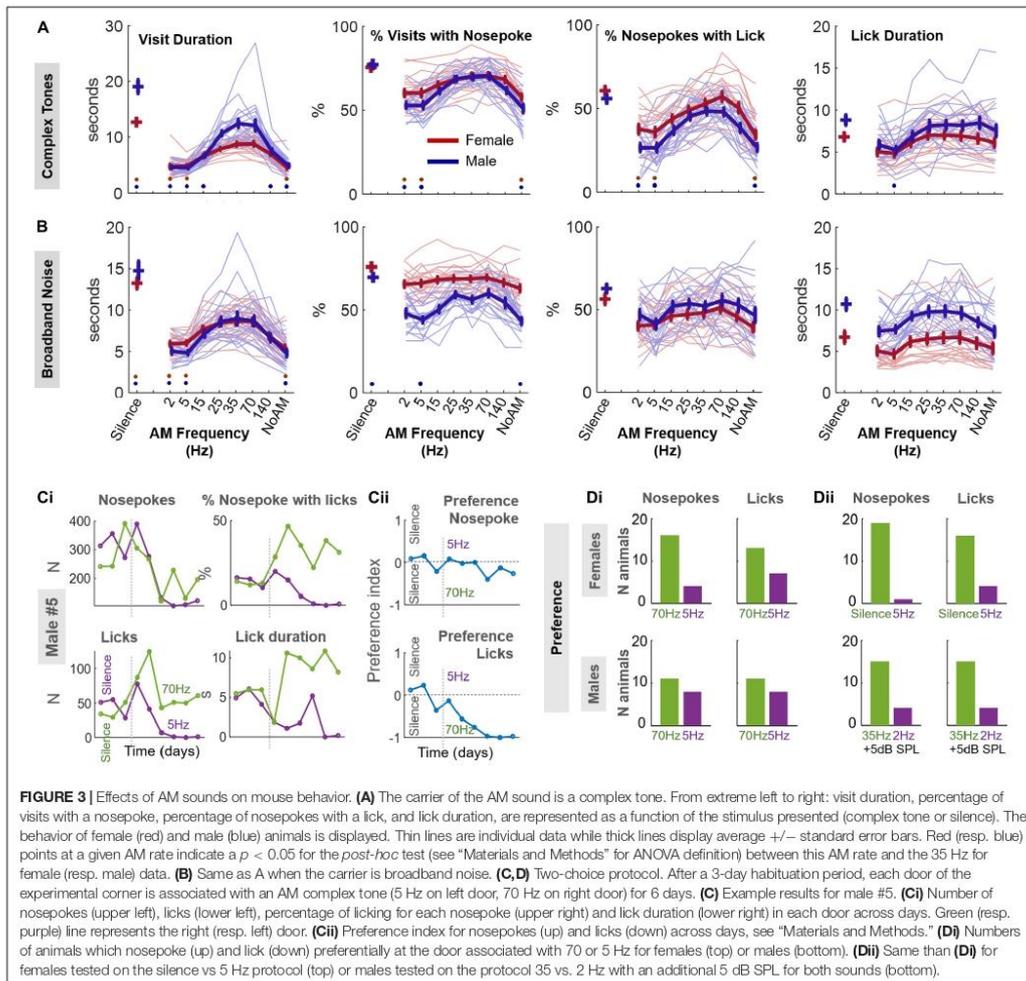
We could also see this pattern for both AM complex tones and broadband noise when counting the number of times the animal nosepoked during each visit (**Supplementary Figures 2A,B**). Overall, visit duration was the variable most strongly modulated by the AM rate, irrespective of the animal sex or the sound carrier used (**Supplementary Figure 2C**). We did not find any adaptation to the stimuli, as behavioral patterns were very similar on the first day to those observed throughout the protocol (**Supplementary Figures 2D,E**).

For both males and females, and for both types of stimuli, the duration of a visit was shorter when a sound was presented than when it was not (ANOVA 2, for either AM complex tones or broadband noise, sound effect^{h1,i1} $p < 1e-10$, *post-hoc* silence vs any AM rate $p < 1e-4$) consistent with our previous finding (**Figure 2A**). However, several AM rates in the roughness range elicited similar values as silence for lick duration, the percentage of visits with a nosepoke or the percentage of nosepokes with a lick (**Figures 3A,B**; ANOVA 2 factors sex and sound, for either AM complex tones or broadband noise, sound effect^{h2,h3,h4,i2,i3,i4} $p < 2.8e-6$, *post-hoc* silence vs 25, 35, and 70 Hz, $p > 0.07$). As for consonant/dissonant protocols, the females visited and nosepoked less but males (ANOVA 2 factors sex and sound, sex effect^{l1,j2,j3,j4,k2,k3,k4}, visit and lick duration, % visit with nosepoke, % nosepoke with lick $p < 1.3e-4$ except visit duration for females^{k1}, $p = 0.58$).

Mice Show Preference for Rough Sounds

We then wondered whether a shorter visit or lick duration could be interpreted as discomfort to the animal. To test this hypothesis, we designed a two-choice protocol where each of the two doors to which the animal nosepokes is associated to a particular sound. In a preliminary experiment, we tested female mice with the protocol contrasting the 5 Hz AM stimulus with silence. Since silence was associated with the longest visit and lick duration of all stimuli, we reasoned that we should observe a marked preference for silence compared to 5 Hz. Indeed, nineteen animals over twenty preferentially chose the door associated to silence after a few days (i.e., average preference index < 0 after the habituation period, see “Materials and Methods;” **Figure 3Dii**), giving confidence that mice can make a conditioned place preference based on presented sounds.

For both males and females, we then contrasted an AM rate putatively associated to discomfort (5 Hz, left door) and another AM rate associated with longer visit or lick durations (70 Hz, right door). As displayed in the individual example in **Figures 3Ci,ii**, after showing little preference for either of the two doors in the habituation period, male #5 progressively nosepoked and licked more and licked longer at the 70 Hz (right) door compared to the 5 Hz (left) door. Based on the preference index, there was a significant majority of animals



who preferred 70 Hz AM sounds over 5 Hz AM sounds for nosepokes but not for licks (**Figure 3Di**; proportion test vs 50%, pooled genders: nosepokes, $stat = 2.49$, $p = 1.6e-2$; licks, 1.44 , $p = 0.15$). This preference was more pronounced for female mice. Raw data for nosepokes, licks and preference index shows that this preference did not vanish, but rather stabilized or increased with days, suggesting that mice did not adapt to the discomfort or progressively tended to reproduce their previous behavior (**Supplementary Figures 3A–C**). In males, we obtained an increased preference (15 animals vs. 4) to rough sounds by contrasting the rough 35 Hz AM sounds to 2 Hz AM sounds and increasing the SPL by 5 dB (**Figure 3Dii**). Overall, these results suggest that rough sounds with AM frequencies of 35/70 Hz were

preferred by a majority of animals over sounds with slower AM frequencies of 2/5 Hz.

DISCUSSION

Our study examined whether so-called consonant and dissonant chords, and more generally rough sounds, hold the same aversiveness for laboratory mice as they do for humans. To begin, the duration of visits was always greater during silence compared to any sound stimulus (dissonant/consonant chords, AM sounds or non-AM sounds), for both male and female mice. Consistently, previous studies showed that mice would have an innate bias for

silent shelter over music or pure tones (Jouhaneau and Bagady, 1984; Yang et al., 2012). We interpret silence as the most pleasant, or least stressful, situation for the mouse, suggesting that sounds are generally unpleasant or stressful for mice.

We then found that mice did not show any behavioral difference, and therefore putatively any sign of additional discomfort, in response to consonant or dissonant chords. It is possible that mice did not discriminate between consonant and dissonant chords. However, this hypothesis is unlikely because rats can discriminate between consonant and dissonant chords (Crespo-Bojorque and Toro, 2015) and mice have excellent frequency resolution between 6 and 15 kHz (de Hoz and Nelken, 2014). Our passive listening protocol might not have been able to show mouse preference to either consonant or dissonant sounds. However, this protocol was highly effective in revealing the sensitivity of mice to roughness. We are therefore confident that the mice did not show any preference for the consonant and dissonant chords we used. In general, consonance/dissonance perception and emotion have been poorly explored outside of humans, with inconsistent results. Chicks seem to prefer consonant chords over dissonant ones (Chiandetti and Vallortigara, 2011) while monkeys do not (McDermott and Hauser, 2004; Koda et al., 2013) but infant apes do (Sugimoto et al., 2009). Rats prefer consonant chords (Fannin and Braud, 1971; Borchgrevink, 1975) but concerns about the stimuli used were raised (Rogers, 2010). In fact, if there was any preference for one type of chord in mice, it could be for dissonant chords, at least on the first day of sound presentations, and at increased SPL (**Supplementary Figure 1D**).

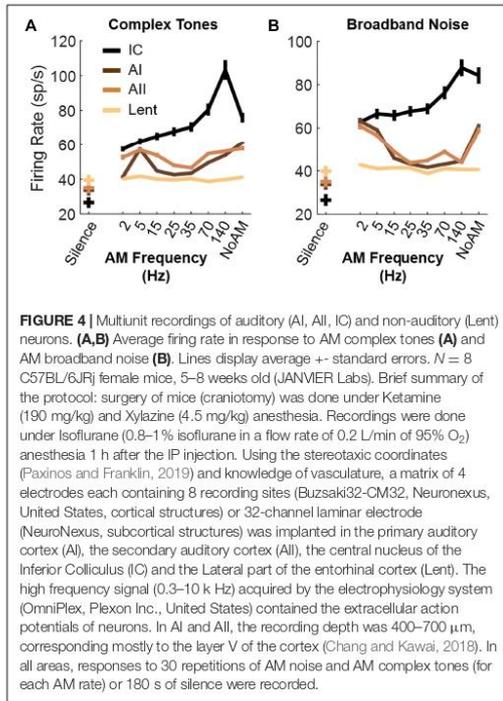
Intrigued by this intermediate result, we next focused on the acoustic roughness as one isolated acoustic feature of dissonant sounds. Mice showed shorter visits and licks for AM sounds at rates 2–5 Hz or with unmodulated sounds, and longer ones for AM sounds in the 25–70 Hz range, which corresponds to the lower part of the acoustic roughness range. This pattern applied to all behavior parameters we measured, for both noise and complex tone carriers, but was typically more prominent for complex tones. According to Morton motivation-structural rules, tonal high-frequency natural sounds produced by mammals and birds should be associated with friendly situations, whereas more broadband, low-frequency sounds should be associated with hostile situations (Morton, 1977). This hypothesis is not supported by our data: complex tones elicited shorter visit durations than broadband noise for AM rates of 2, 5, and 15 Hz, and no longer durations for other AM rates or for unmodulated noise. We did not observe that animals familiarized, or habituated, to our sounds as patterns of visit duration were very stable over time in the passive listening protocol and the preference to a sound stabilized or increased with time in the two choice protocol. As a possible explanation for this last result, mice could have preferred following the same behavior as they had previously, especially in a colony where all animals including the dominant one preferentially chose one door.

Females tended to visit the experimental corners less frequently, but licked more than males for a given visit. More importantly, AM rates affected the behavior more strongly in males than females (**Supplementary Figure 2C**). This could be

related to sexual differences in sound perception as, for instance, response to pup or adult mice vocalizations differ between males and females (Ehret et al., 1987; Hammerschmidt et al., 2012). Sexual differences at the circuit level could also be involved. For example, recent work showed a sexual dimorphic distribution of cannabinoid receptor mRNA in the brains of C57BL/6J mice (Liu et al., 2020), a receptor that is linked to emotional modulation and anxiety-like behavior in rodents and humans (Akirav, 2011; Bowers and Ressler, 2016), two features which influence sensory perception.

In the two-choice protocol, a majority of mice, irrespective of the sex, preferentially chose the door associated with the rough AM sound (70 Hz) for nose-poking. These results and those from the passive listening protocol could be interpreted both as a preference for rough sounds or an avoidance or unpleasantness of low and fast AM rates. The hypothesis that rough AM sounds are considered pleasant for mice, or at least as neutral as silence, is strikingly different to human results. In humans, rough sounds are associated with unpleasantness, with the strongest effect around 70 Hz (Fastl and Zwicker, 2007), and trigger neural pathways associated with aversive perception and defensive behaviors (Arnal et al., 2015, 2019). For instance, a baby's cries are one of the roughest sounds that humans can produce, and they elicit an extremely unpleasant sensation (Li et al., 2018). Where does the difference between mice and humans come from? In humans, roughness occupies an acoustic niche between the slow amplitude modulations associated to the syllabic rate and the low temporal envelope (<30 Hz) and the faster ones (>100 Hz), which elicit a perception of pitch. These features are highly human related and it is not likely that an equivalent range exists for mice. Moreover, albeit rough, dissonant chords elicited parameter values (e.g., visit and lick duration) generally closer to those observed for 2–5 Hz than for 70 Hz: i.e., they would be associated with rather unpleasant sounds. Overall, consonant and dissonant chords did not modify mouse behavior. Thus, we cannot exclude that roughness as we computed it (based on observed dissonance in humans, Vassilakis, 2005) is not a salient acoustic component for mice. For instance, mice could have been sensitive to the slope of the ramp in each sinusoidal cycle of AM sounds (Deneux et al., 2016). However, in other mammals (otters, primates or bats), studies indicate that fast AM sounds, such as a baby's cry, are also produced in alarm calls, and/or antagonistic interactions (Leinonen et al., 2003; Mumm and Knörnschild, 2017; Hechavarría et al., 2019). Since infant distress calls appear to share acoustic similarities and analogous neuronal responses across mammals (Newman, 2007; Zuberbühler, 2009; Lingle et al., 2012; Lingle and Riede, 2014), it is often suggested that rough sounds could elicit unpleasantness in many species as well. Consistently, it was shown that roughness can be aversive to seals (Götz and Janik, 2010). We show here that at least one species, mouse, perceives rough sounds as not unpleasant.

The hypothesis that both slow and fast AM rates could be unpleasant for mice is particularly unclear and novel. Shorter visit and lick duration can indeed be interpreted as an avoidance. It has been shown that both natural and artificial aversive sounds can disturb animals such that they eat less or escape the area (Biedenweg et al., 2011). Avoidance is a classical correlate



of using aversive sounds in conditioning (Mackintosh, 1983). In our study, only a short majority of mice, irrespective of the sex, preferentially chose the door associated with the rough AM sound (70 Hz) for nose-poking in the two-choice protocol. Thus, it is likely that low and fast AM rates are unpleasant rather than strongly aversive. What are the reasons behind such unpleasantness? Spectro-temporal processing circuits in mice may have co-evolved with their conspecific vocalization processing (Ehret, 2001; Green et al., 2019; Cai and Dent, 2020). From that perspective, slow AM rates around 2–5 Hz could interfere with the emitting rate of vocalization in mice (see e.g., sequences of ultrasonic vocalizations in Fischer and Hammerschmidt, 2011; Castellucci et al., 2018). That such signals are not comprehensible to the mice, but could potentially be vocalized from other mice, might elicit anxiety in these animals.

It is possible that the preference of mice for silence, or between AM rates, also relies on plasticity mechanisms of their neural circuits: the preference of mice for specific types of music can be forced by early auditory exposure during the critical period (Jouhaneau and Bagady, 1984; Yang et al., 2012). For instance, mice could prefer silence simply because they grew up in a silent environment (Yang et al., 2012). Another explanation could lie in the neural response of the auditory pathways. Several studies have noticed that the firing rate in the auditory cortex of other

mammals typically decreases when the modulation rate reaches 10–20 Hz before increasing again when the modulation rates exceeds 100–200 Hz (Schreiner and Urbas, 1988; Schulze and Langner, 1997; Walton et al., 2002; Joris et al., 2004; Gourévitch and Eggermont, 2010). As part of another project, we recorded the firing rate of the same strain of mice to our AM stimuli and confirmed this low firing rate in the 15–70 Hz range in the primary and secondary auditory cortices (Figure 4). Thus, the reduced firing rate in the auditory cortex when AM is within the roughness range could be a neural correlate of a weak sensory stimulation, an unstressed emotional state or more simply a lower perceived loudness by the animals. This explanation would be consistent with the smaller level of activity under silent conditions compared to stimuli presentation (Figure 4).

However, similar variations of firing rate with AM or silence are likely to occur in humans as well and would therefore not explain the contrast of pleasantness between humans and mice. A broader hypothesis could be that the neural circuits linked to sound euphony might be completely different in mice and humans. Arnal et al. (2019) suggest that the aversive sensation induced by rough sounds results from “the persisting, exogenous synchronization of large-scale (limbic) networks involved in salience rather than specifically auditory – processing.” In mice, Zhang and colleagues identified a non-canonical reticular-Limbic central auditory pathway associated with fear conditioning (Zhang et al., 2018b) involving structures such as the medial septum, and a septal-habenular pathway processing aversive emotion (Zhang et al., 2018a). Future electrophysiology experiments should explore neuronal responses of mice to AM sounds in brain areas related to the limbic system.

CONCLUSION

We show that mice do not prefer consonant over dissonant chords, at least under passive listening conditions. Moreover, in contrast with humans, mice seem to perceive rough sounds as pleasant and temporal envelope modulations around 2–5 Hz, a range of important speech features in humans (such as the syllabic rate), as unpleasant. Although their mechanisms remain unclear, our results question the validity of roughness as a common feature of aversiveness among mammals. Further, visit duration to an area associated with sounds might be a relevant parameter to compare the pleasantness of such sounds without having to condition the animals.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The animal study was reviewed and approved by the Institut Pasteur Ethics Committee for Animal Experimentation.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

BG designed the research. BG, OP, and TD analyzed the data. BG, OP, TD, WB, and NM wrote the manuscript. BG, OP, TD, WB, and ND performed the research. NM and CP provided the resources. All authors revised and approved the final version of the manuscript.

FUNDING

BG was supported by a Junior Grant from the French National Research Agency (ANR-15-CE37-0007-01). OP was supported by the Fondation pour la Recherche Médicale (FDM201806005994). NM was supported by the grants from the ANR as part of the second Investissements d'Avenir program LIGHT4DEAF (ANR-15-RHUS-0001) and LabEx LIFESENSES

REFERENCES

- Akirav, I. (2011). The role of cannabinoids in modulating emotional and non-emotional memory processes in the hippocampus. *Front. Behav. Neurosci.* 5:34. doi: 10.3389/fnbeh.2011.00034
- Arnal, L. H., Flinker, A., Kleinschmidt, A., Giraud, A. -L., and Poeppel, D. (2015). Human screams occupy a privileged niche in the communication soundscape. *Curr. Biol.* 25, 2051–2056. doi: 10.1016/j.cub.2015.06.043
- Arnal, L. H., Kleinschmidt, A., Spinelli, L., Giraud, A. -L., and Mégevand, P. (2019). The rough sound of salience enhances aversion through neural synchronisation. *Nat. Commun.* 10, 1–12. doi: 10.1038/s41467-019-11626-7
- Biedeweg, T. A., Parsons, M. H., Fleming, P. A., and Blumstein, D. T. (2011). Sounds Scary? Lack of habituation following the presentation of novel sounds. *PLoS One* 6:e14549. doi: 10.1371/journal.pone.0014549
- Borchgrevink, H. M. (1975). [Musical consonance preference in man elucidated by animal experiments]. *Tidsskr. Den Nor. Laegeforening Tidsskr. Prakt. Med. Ny Raekke* 95, 356–358.
- Bowers, M. E., and Ressler, K. J. (2016). Sex-dependence of anxiety-like behavior in cannabinoid receptor 1 (Cnr1) knockout mice. *Behav. Brain Res.* 300, 65–69. doi: 10.1016/j.bbr.2015.12.005
- Cai, H., and Dent, M. L. (2020). Best sensitivity of temporal modulation transfer functions in laboratory mice matches the amplitude modulation embedded in vocalizations. *J. Acoust. Soc. Am.* 147, 337–349. doi: 10.1121/10.0000583
- Castellucci, G. A., Calbick, D., and McCormick, D. (2018). The temporal organization of mouse ultrasonic vocalizations. *PLoS One* 13:e0199929. doi: 10.1371/journal.pone.0199929
- Chang, M., and Kawai, H. D. (2018). A characterization of laminar architecture in mouse primary auditory cortex. *Brain Struct. Funct.* 223, 4187–4209. doi: 10.1007/s00429-018-1744-8
- Chiandetti, C., and Vallortigara, G. (2011). Chicks like consonant music. *Psychol. Sci.* 22, 1270–1273. doi: 10.1177/0956797611418244
- Crespo-Bojorque, P., and Toro, J. M. (2015). The use of interval ratios in consonance perception by rats (*Rattus norvegicus*) and humans (*Homo sapiens*). *J. Comp. Psychol. Wash. DC* 129, 42–51. doi: 10.1037/a0037991
- de Hoz, L., and Nelken, I. (2014). Frequency tuning in the behaving mouse: different bandwidths for discrimination and generalization. *PLoS One* 9:e91676. doi: 10.1371/journal.pone.0091676
- Deneux, T., Kempf, A., Daret, A., Ponsot, E., and Bathellier, B. (2016). Temporal asymmetries in auditory coding and perception reflect multi-layered nonlinearities. *Nat. Commun.* 7:12682. doi: 10.1038/ncomms12682
- Ehret, G. (2001). Adaptations in the mouse auditory system for perception of ultrasonic communication calls. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 37, 562–568. doi: 10.1023/A:1014042915818
- Ehret, G., Koch, M., Haack, B., and Markl, H. (1987). Sex and parental experience determine the onset of an instinctive behavior in mice. *Naturwissenschaften* 74:47. doi: 10.1007/BF00367047

(ANR-10-LABX-65), LHW-376 Stiftung, and by the Fondation pour l'Audition.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to acknowledge Dr. Luc Arnal for invigorating discussions. We also thank the Animalerie Centrale of the Institut Pasteur for assistance with the project.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2020.588834/full#supplementary-material>

- Fannin, H. A., and Braud, W. G. (1971). Preference for consonant over dissonant tones in the albino rat. *Percept. Mot. Skills* 32, 191–193. doi: 10.2466/pms.1971.32.1.191
- Fastl, H., and Zwicker, E. (2007). *Psychoacoustics: Facts and Models*. 3rd ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Fischer, J., and Hammerschmidt, K. (2011). Ultrasonic vocalizations in mouse models for speech and socio-cognitive disorders: insights into the evolution of vocal communication. *Genes Brain Behav.* 10, 17–27. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00610.x
- Götz, T., and Janik, V. M. (2010). Aversiveness of sounds in phocid seals: psychophysiological factors, learning processes and motivation. *J. Exp. Biol.* 213, 1536–1548. doi: 10.1242/jeb.035535
- Gourévitch, B., and Eggermont, J. J. (2010). Maximum decoding abilities of temporal patterns and synchronized firings: application to auditory neurons responding to click trains and amplitude modulated white noise. *J. Comput. Neurosci.* 29, 253–277. doi: 10.1007/s10827-009-0149-3
- Gouzoules, H., and Gouzoules, S. (2000). Agonistic screams differ among four species of macaques: the significance of motivation-structural rules. *Anim. Behav.* 59, 501–512. doi: 10.1006/anbe.1999.1318
- Green, D. M., Scolman, T., Guthrie, O. W., and Pasch, B. (2019). A broad filter between call frequency and peripheral auditory sensitivity in northern grasshopper mice (*Onychomys leucogaster*). *J. Comp. Physiol. A* 205, 481–489. doi: 10.1007/s00359-019-01338-0
- Hammerschmidt, K., Radyushkin, K., Ehrenreich, H., and Fischer, J. (2012). The structure and usage of female and male mouse ultrasonic vocalizations reveal only minor differences. *PLoS One* 7:e41133. doi: 10.1371/journal.pone.0041133
- Hechavarría, J. C., Beetz, M. J., García-Rosales, F., and Kössl, M. (2019). Superfast periodicities in distress vocalizations emitted by bats. *bioRxiv [Preprint]* doi: 10.1101/734640
- Helmholtz, H. V., and Ellis, A. J. (1895). *On the Sensations of Tone as a Physiological Basis for the Theory of Music*. London: Longmans, Green, and Co.
- Joris, P. X., Schreiner, C. E., and Rees, A. (2004). Neural processing of amplitude-modulated sounds. *Physiol. Rev.* 84, 541–577. doi: 10.1152/physrev.00029.2003
- Jouhaneau, J., and Bagady, A. (1984). Effect of early auditory stimulation on the choice of acoustical environment by adult Swiss albino mice (*Mus musculus*). *J. Comp. Psychol. Wash. DC* 98, 318–326. doi: 10.1037/0735-7036.98.3.318
- Koda, H., Basile, M., Olivier, M., Remeuf, K., Nagumo, S., Blois-Heulin, C., et al. (2013). Validation of an auditory sensory reinforcement paradigm: Campbell's monkeys (*Cercopithecus campbelli*) do not prefer consonant over dissonant sounds. *J. Comp. Psychol. Wash. DC* 127, 265–271. doi: 10.1037/a0031237
- Leinonen, L., Laakso, M., Carlson, S., and Linnankoski, I. (2003). Shared means and meanings in vocal expression of man and macaque. *Logoped. Phoniatr. Vocol.* 28, 53–61. doi: 10.1080/14015430310011754
- Li, T., Horta, M., Mascaro, J., Bijanki, K., Arnal, L. H., Adams, M., et al. (2018). Explaining individual variation in paternal brain responses to infant cries. *Physiol. Behav.* 193, 43–54. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.12.033

- Lingle, S., and Riede, T. (2014). Deer mothers are sensitive to infant distress vocalizations of diverse mammalian species. *Am. Nat.* 184, 510–522. doi: 10.1086/677677
- Lingle, S., Wyman, M. T., Kotrba, R., Teichroeb, L. J., and Romanow, C. A. (2012). What makes a cry a cry? A review of infant distress vocalizations. *Curr. Zool.* 58, 698–726. doi: 10.1093/czoolo/58.5.698
- Liu, X., Li, X., Zhao, G., Wang, F., and Wang, L. (2020). Sexual dimorphic distribution of cannabinoid 1 receptor mRNA in adult C57BL/6J mice. *J. Comp. Neurol.* 528, 1986–1999. doi: 10.1002/cne.24868
- Mackintosh, N. J. (1983). *Conditioning and Associative Learning*. Oxford: Clarendon Press.
- Magrath, R. D., Haff, T. M., Fallow, P. M., and Radford, A. N. (2015). Eavesdropping on heterospecific alarm calls: from mechanisms to consequences. *Biol. Rev.* 90, 560–586. doi: 10.1111/brv.12122
- McDermott, J., and Hauser, M. (2004). Are consonant intervals music to their ears? Spontaneous acoustic preferences in a nonhuman primate. *Cognition* 94, B11–B21. doi: 10.1016/j.cognition.2004.04.004
- McDermott, J. H. (2012). “Chapter 10 - auditory preferences and aesthetics: music, voices, and everyday sounds” in *Neuroscience of Preference and Choice*, eds R. Dolan and T. Sharot (San Diego: Academic Press), 227–256. doi: 10.1016/B978-0-12-381431-9.00020-6.
- Morton, E. S. (1977). On the Occurrence and Significance of Motivation-Structural Rules in Some Bird and Mammal Sounds. *Am. Nat.* 111, 855–869. doi: 10.1086/283219
- Mumm, C. A. S., and Knörnschild, M. (2017). Territorial choruses of giant otter groups (*Pteronura brasiliensis*) encode information on group identity. *PLoS One* 12:e0185733. doi: 10.1371/journal.pone.0185733
- Newman, J. D. (2007). Neural circuits underlying crying and cry responding in mammals. *Behav. Brain Res.* 182, 155–165. doi: 10.1016/j.bbr.2007.02.011
- Paxinos, G., and Franklin, K. B. J. (2019). *Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. Cambridge, MA: Academic Press.
- Rogers, S. E. (2010). *The Influence of Sensory and Cognitive Consonance/Dissonance on Musical Signal Processing*. Available online at: https://mcgill.ca/mpcl/files/mpcl/rogers_2010_phdthesis.pdf (accessed September 25, 2020).
- Schreiner, C. E., and Urbas, J. V. (1988). Representation of amplitude modulation in the auditory cortex of the cat. II. Comparison between cortical fields. *Hear. Res.* 32, 49–63. doi: 10.1016/0378-5955(88)90146-3
- Schulze, H., and Langner, G. (1997). Periodicity coding in the primary auditory cortex of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): two different coding strategies for pitch and rhythm? *J. Comp. Physiol. A* 181, 651–663. doi: 10.1007/s003590050147
- Sugimoto, T., Kobayashi, H., Nobuyoshi, N., Kiriya, Y., Takeshita, H., Nakamura, T., et al. (2009). Preference for consonant music over dissonant music by an infant chimpanzee. *Primates* 51:7. doi: 10.1007/s10329-009-0160-3
- Vassilakis, P. (2001). Auditory roughness estimation of complex spectra—Roughness degrees and dissonance ratings of harmonic intervals revisited. *J. Acoust. Soc. Am.* 110, 2755–2755. doi: 10.1121/1.4777600
- Vassilakis, P. (2005). “Auditory roughness as a means of musical expression,” in *Perspectives in Systematic Musicology Selected Reports in Ethnomusicology*, eds R. A. Kendall and R. W. Savage (Los Angeles, CA: UCLA), 119–144.
- Walton, J. P., Simon, H., and Frisina, R. D. (2002). Age-related alterations in the neural coding of envelope periodicities. *J. Neurophysiol.* 88, 565–578. doi: 10.1152/jn.2002.88.2.565
- Yang, E. -J., Lin, E. W., and Hensch, T. K. (2012). Critical period for acoustic preference in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 17213–17220. doi: 10.1073/pnas.1200705109
- Zhang, G. -W., Shen, L., Zhong, W., Xiong, Y., Zhang, L. I., and Tao, H. W. (2018a). Transforming Sensory Cues into Aversive Emotion via Septal-Habenular Pathway. *Neuron* 99, 1016–1028.e5. doi: 10.1016/j.neuron.2018.07.023
- Zhang, G. -W., Sun, W. -J., Zingg, B., Shen, L., He, J., Xiong, Y., et al. (2018b). A Non-canonical Reticular-Limbic Central Auditory Pathway via Medial Septum Contributes to Fear Conditioning. *Neuron* 97, 406–417.e4. doi: 10.1016/j.neuron.2017.12.010
- Zuberbühler, K. (2009). “Chapter 8 Survivor Signals,” in *Advances in the Study of Behavior*, eds J. S. Rosenblatt, R. A. Hinde, C. Beer, and M.-C. Busnel (Amsterdam: Elsevier), 277–322. doi: 10.1016/S0065-3454(09)40008-1.

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

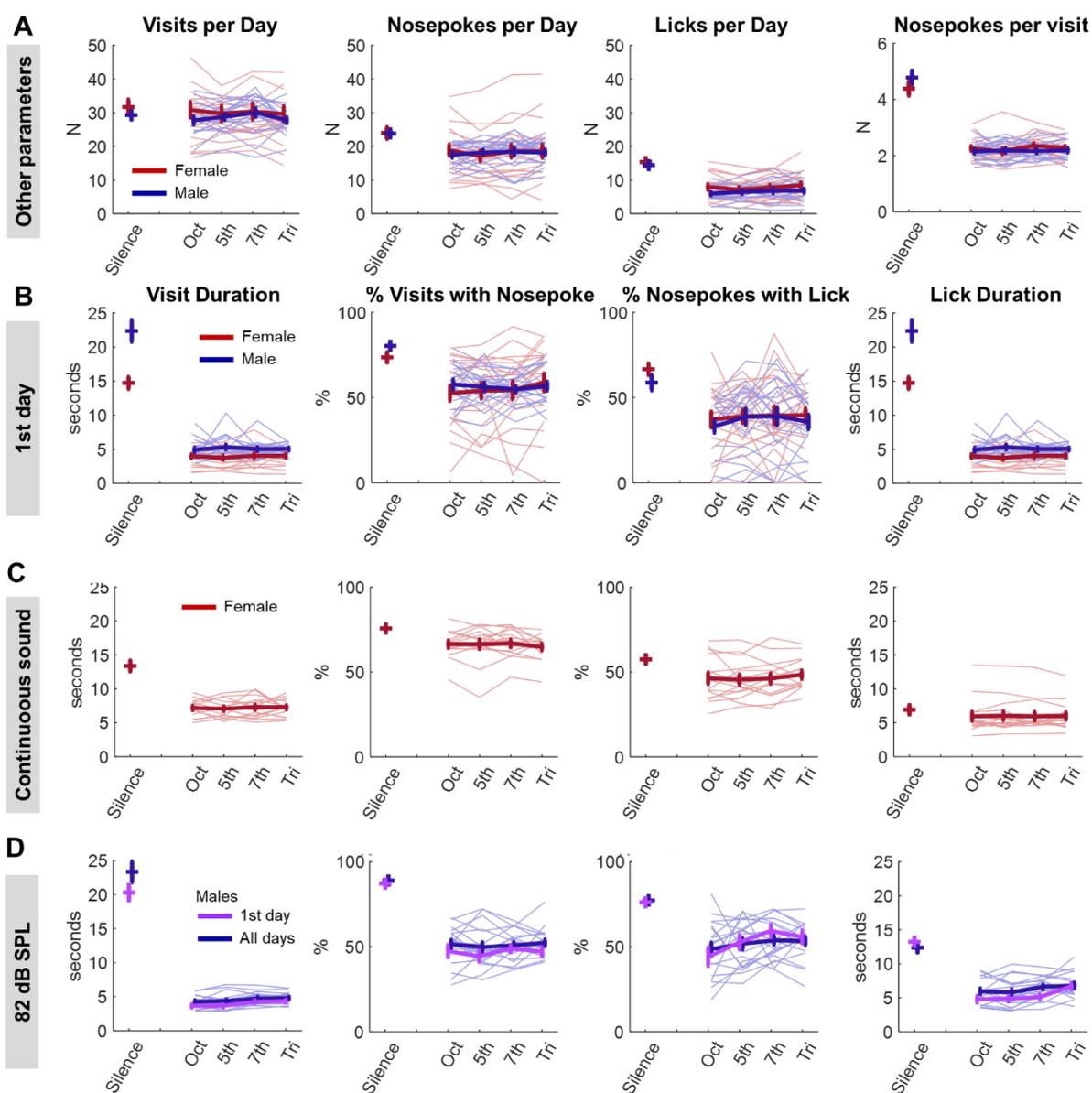
Copyright © 2020 Postal, Dupont, Bakay, Dominique, Petit, Michalski and Gourévitch. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Supplementary Table

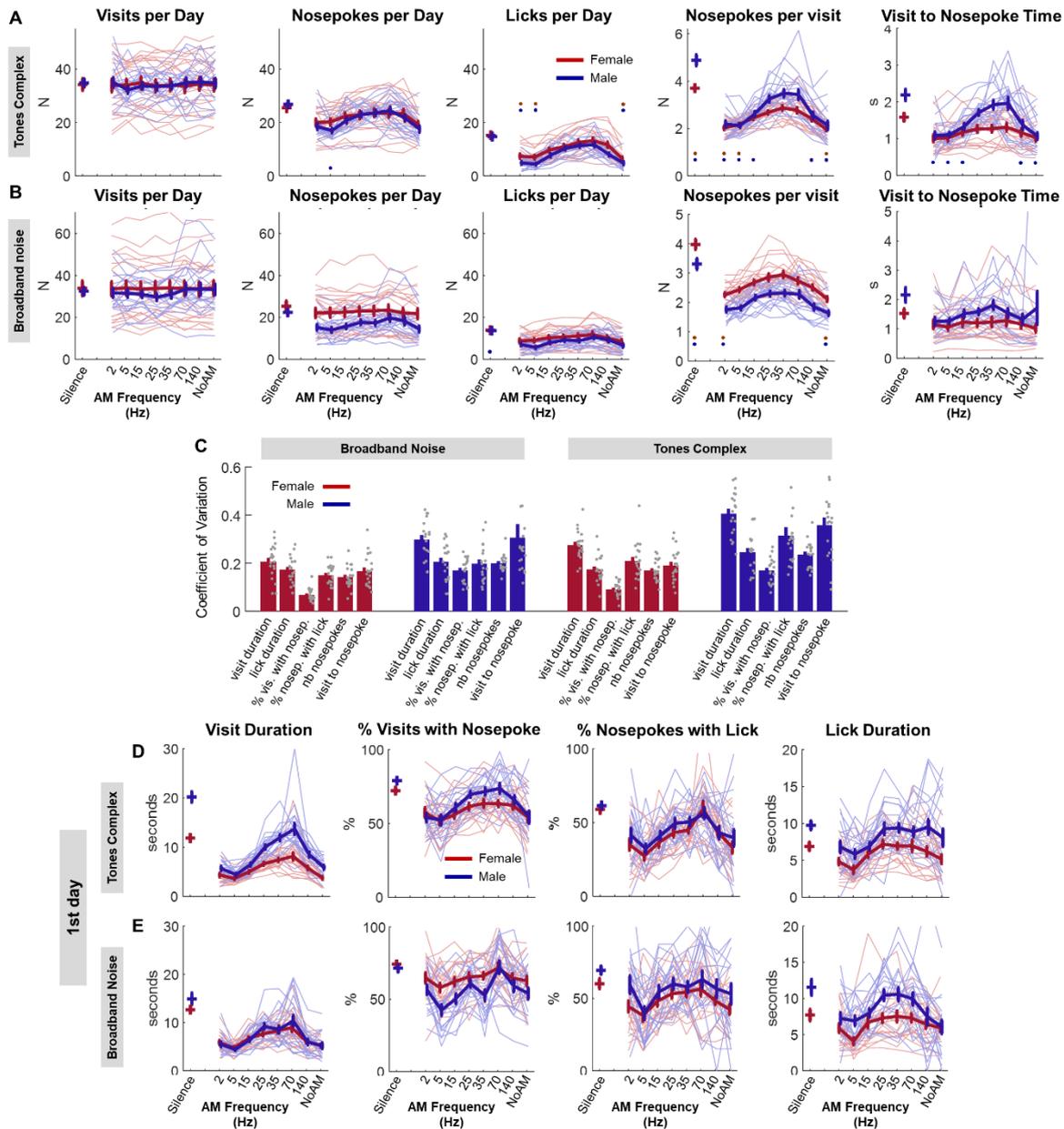
Reference index	Test description	Statistics	P value
a1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, visit duration, sound effect	F(4,185)=283	<1e-10
a2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, lick duration, sound effect	F(4,185)=18.4	<1e-10
a3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % nose poking, sound effect	F(4,185)=21.8	<1e-10
a4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % licking, sound effect	F(4,185)=26.1	<1e-10
b1	Post-hoc t-test with Tukey-Kramer correction, silence vs any AM frequency		<1e-4
b2	Post-hoc t-test with Tukey-Kramer correction, silence vs any AM frequency		<1e-3
b3	Post-hoc t-test with Tukey-Kramer correction, silence vs any AM frequency		<4e-4
b4	Post-hoc t-test with Tukey-Kramer correction, silence vs any AM frequency		<2e-4
c1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, silence not included, visit duration, sound effect	F(3,148)=1.15	0.33
c2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, silence not included, lick duration, sound effect	F(3,148)=0.25	0.86
c3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, silence not included, % nose poking, sound effect	F(3,148)=0.64	0.59
c4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, silence not included, % licking, sound effect	F(3,148)=0.49	0.69
d1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, visit duration, sex effect	F(1,185)=52	<1e-10
d2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % nose poking, sex effect	F(1,185)=8	5e-3
d3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % licking, sex effect	F(1,185)=13.8	2.7e-4
d4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, lick duration, sex effect	F(1,185)=0.64	0.42
e1	ANOVA 1 factor sound, silence not included, visit duration	F(3,56)=0.1	0.96
e2	ANOVA 1 factor sound, silence not included, lick duration	F(3,56)=4e-3	1
e3	ANOVA 1 factor sound, silence not included, % nose poking	F(3,56)=0.18	0.91
e4	ANOVA 1 factor sound, silence not included, % licking	F(3,56)=0.18	0.91
f1	ANOVA 1 factor sound, silence not included, visit duration	F(3,72)=1.59	0.2
f2	ANOVA 1 factor sound, silence not included, lick duration	F(3,72)=1.5	0.22
f3	ANOVA 1 factor sound, silence not included, % nose poking	F(3,72)=0.2	0.9
f4	ANOVA 1 factor sound, silence not included, % licking	F(3,72)=0.58	0.63
g1	ANOVA 1 factor sound, silence not included, visit duration	F(3,72)=3.19	0.03
g2	ANOVA 1 factor sound, silence not included, lick duration	F(3,72)=4.4	7e-3
g3	ANOVA 1 factor sound, silence not included, % nose poking	F(3,72)=0.37	0.77
g4	ANOVA 1 factor sound, silence not included, % licking	F(3,72)=2.28	0.09
h1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM complex tones, visit duration, sound effect	F(8,333)=106	<1e-10
h2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM complex tones, lick duration, sound effect	F(8,333)=7.31	<1e-10
h3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % AM complex tones, nose poking, sound effect	F(8,333)=34.4	<1e-10
h4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % AM complex tones, licking, sound effect	F(8,333)=31.7	<1e-10
i1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM broadband noise, visit duration, sound effect	F(8,333)=58.5	<1e-10
i2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM broadband noise, lick duration, sound effect	F(8,333)=5.3	2.8e-6
i3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM broadband noise, % nose poking, sound effect	F(8,333)=18.4	<1e-10
i4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM broadband noise, % licking, sound effect	F(8,333)=7.5	3e-9
j1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM complex tones, visit duration, sex effect	F(1,333)=59	<1e-10
j2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM complex tones, lick duration, sex effect	F(1,333)=23.7	1.7e-6
j3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % AM complex tones, nose poking, sex effect	F(1,333)=15.4	1e-4
j4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % complex tones, licking, sex effect	F(1,333)=40	8e-10
k1	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM broadband noise, visit duration, sex effect	F(1,333)=0.3	0.58
k2	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, AM broadband noise, lick duration, sex effect	F(1,333)=109	<1e-10
k3	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % AM broadband noise, nose poking, sex effect	F(1,333)=236	<1e-10
k4	ANOVA 2 factors sex and sound with interaction, % broadband noise, licking, sex effect	F(1,333)=15	1.3e-4

Supplementary Table 1: details on statistical tests used in the manuscript

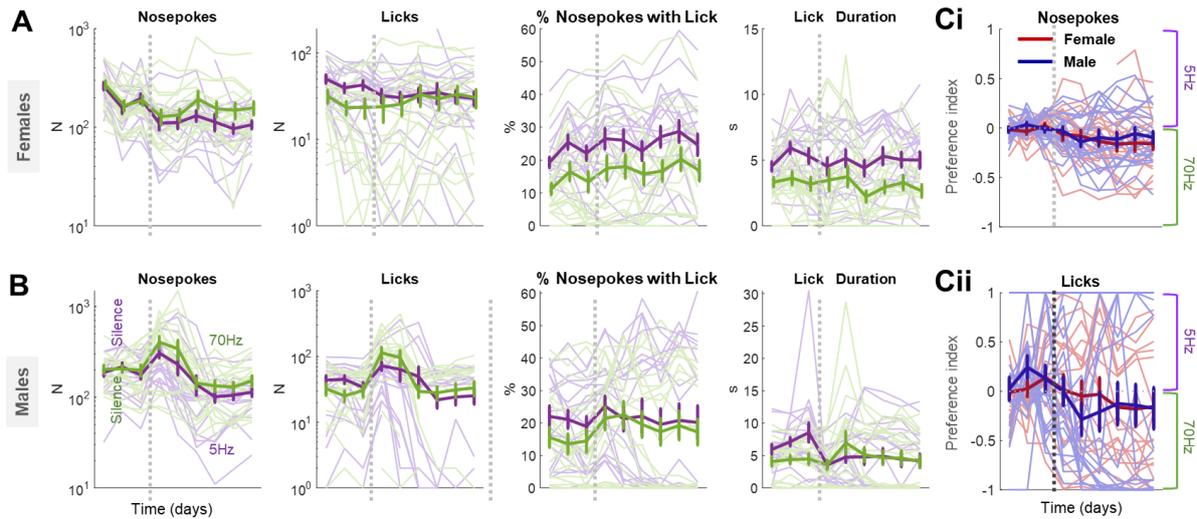
Supplementary Figures



Supplementary Figure 1: Effects of listening to consonant (Octave, Perfect Fifth) or dissonant (Minor Seventh, Augmented Fourth i.e. Tritone) chords on behavior. A) From left to right: visits per day, nosepokes per day, licks per day and number of nosepoke per visit are shown as a function of the chord presented or during silence. Behavior of female (red) and male (blue) animals is shown, with thin lines indicating individual data while thick lines display average \pm standard error bars, within subject. B) Same data as Fig. 2 but only including the first day. From left to right: visit duration, percentage of visits with a nosepoke, percentage of nosepokes with a lick and lick duration are represented as a function of the chord presented or during silence. C) Continuous sounds were presented instead of the short sound sequences used in Fig. 2. Only females were tested, with thin lines indicating individual data while thick lines display average \pm standard error bars. From left to right: same as in B). D) Sounds are presented at 82 dB SPL instead of 77 dB SPL as in Fig. 2. Only males were tested. From left to right: same as in B). Results for the first day (purple) and for all days (blue) are displayed. A,B,C,D) Thin lines are individual data while thick lines display average \pm standard error bars.



Supplementary Figure 2: Effects of AM sounds on behavior. A) The carrier of the AM sound is a complex tone. From extreme left to right: visit per day, nosepokes per day, licks per day, number of nosepokes per visit and visit to nosepoke time are represented as a function of the AM rate presented or during silence. The behavior of female (red) and male (blue) animals is shown, with thin lines indicating individual data while thick lines display average \pm standard error bars. Red (resp. blue) points at a given AM frequency indicate a $p < 0.05$ for the post-hoc test (see body text for ANOVA definition) between this AM frequency and the 35Hz for female (resp. male) data. B) Same as for A but the carrier is broadband noise. C) Coefficient of variation (ratio of standard deviation to the mean) for all parameters extracted from mouse behavior. Grey points are animals. Bars represent average \pm standard error. D,E) Same as Fig. 3A,B, respectively, but only including data from the first day.



Supplementary Figure 3: Two-choice protocol. A-B) Group data for females (A) and males (B) when contrasting 5Hz and 70Hz. From left to right: numbers of nosepokes, licks, percentage of nosepokes with a lick, and lick duration in each door as a function of days on the abscissa. Green (resp. purple) line represents the right (resp. left) door of the experimental corner. Ci,Cii) Mean preference index (see methods) for nosepokes (Ci) and licks (Cii) across days. A preference index >0 (resp. <0) is associated to more nosepokes or licks to the door with an AM rate of 5Hz (resp. 70Hz). A,B,Ci,Cii) Thin lines are individual data while thick lines display average \pm standard error bars.

C. S'affranchir de l'anesthésie : mesures électrophysiologiques sur souris vigiles

L'anesthésie, qui est définie comme une perte de conscience, un relâchement du tonus musculaire (myorelaxation) et l'absence de réponse à un stimulus douloureux, fut longtemps nécessaire pour enregistrer *in vivo* l'activité d'un neurone ou d'un groupe de neurones dans l'encéphale. Pour enregistrer cette activité à l'aide d'électrodes, il faut en effet inciser la peau, disséquer les tissus conjonctifs et musculaires afin d'ouvrir la boîte crânienne, puis retirer délicatement la dure-mère, la première couche des méninges qui protège le système nerveux central. Ces étapes induisent une forte douleur qui doit être prise en charge et nécessitent la réalisation d'une chirurgie longue et complexe. Ensuite, pour pouvoir enregistrer correctement l'activité neuronale, la tête de l'animal doit être totalement immobile tout le long du processus. La mise en place et le maintien d'une anesthésie profonde sont donc indispensables. Cependant, la plupart des molécules utilisées ont un impact direct sur le système nerveux, en modifiant l'activité neuronale de différentes manières selon les régions considérées (Heinke et Koelsch 2005; Uhrig et al. 2018). L'ensemble des voies auditives est lui aussi affecté par l'utilisation d'anesthésiques. Certaines propriétés de la cochlée sont modifiées (A. M. Sheppard, Zhao, et Salvi 2018), les seuils des ABRs et les latences entre chaque onde sont plus élevés (van Looij et al. 2004; Ruebhausen et al. 2012), ou encore l'activité spontanée du colliculus inférieur est diminuée, modifiant ainsi la réponse à certains stimuli (Duque et Malmierca 2015). Dans l'AC, si certains effets varient selon le type de molécule utilisée, l'anesthésie réduit le nombre de neurones actifs et la largeur de la gamme de fréquences de leurs neurones (Gaese et Ostwald 2001), réduit l'activité évoquée et augmente les latences de réponse (Noda et Takahashi 2015) ou encore rend la réponse des neurones corticaux très phasique : ils ne déchargent plus qu'au début du son (réponse « *onset* »), tandis qu'ils sont capables en condition éveillée de décharger tant que le stimulus est présent (réponse « *steady-state* ») et de répondre aussi à la fin d'un son (réponse « *offset* ») (Xiaoqin Wang 2007). Enfin il a été montré chez l'humain que l'anesthésie, même légère, diminue fortement la réponse des aires auditives secondaires (ou associatives), suggérant que les connexions entre aires primaires et aires secondaires (et donc probablement entre les aires auditives et d'autres régions corticales et sous-corticales) sont considérablement réduites (Krom et al. 2020).

Pour comprendre précisément le fonctionnement du cerveau, il est donc nécessaire d'utiliser des techniques permettant d'enregistrer l'activité neuronale chez des animaux vigiles, en minimisant le stress, en s'assurant de l'absence de douleur, tout en veillant à maintenir la

qualité des enregistrements. L'encéphale ne comporte pas de récepteurs à la douleur : leurs progéniteurs n'ont pas la même origine embryonnaire que les neurones du cerveau (Woolf et Ma 2007), l'implantation d'électrodes peut donc se faire vigile en l'absence d'analgésie. Un suivi de l'état de santé des animaux pendant et entre chaque enregistrement est cependant indispensable.

A mon arrivée dans l'équipe qui m'a accueilli, il n'y avait pas de systèmes expérimentaux permettant l'enregistrement de l'activité neuronale sur des souris vigiles. Une partie de mon travail a donc consisté à adapter nos systèmes d'expérimentation à l'utilisation d'animaux vigiles, avant de les appliquer aux modèles murins que j'ai étudiés (voir II)B). En particulier, j'ai cherché à adapter notre système d'enregistrement de l'activité neuronale à l'utilisation de souris vigiles. Il a donc fallu développer une pièce de maintien permettant de maintenir fixe la tête de la souris pendant l'enregistrement. Pour cela, j'ai pris en compte plusieurs contraintes :

- La pièce doit être le plus léger possible pour ne pas soumettre la souris à une trop forte tension au niveau du cou, mais le plus solide possible pour ne pas se déformer au cours de l'enregistrement ;
- La pièce doit pouvoir se fixer facilement sur le crâne et doit être facile à mettre en place ;
- Elle doit assurer l'immobilité totale de la tête en minimisant les contraintes sur le reste du corps afin de diminuer le stress des souris, très sensibles à la contention physique (Chiba et al. 2012) ;
- Elle doit permettre une implantation des zones auditives (AC, IC et MBG), et potentiellement une implantation simultanée dans deux de ces zones ;
- Elle doit s'adapter au système stéréotaxique déjà utilisé pour les enregistrements sous anesthésie ;
- Elle doit être réutilisable.

Se servir de pièces élaborées par d'autres équipes n'a pas été possible, aucune ne permettant de respecter l'ensemble des contraintes que j'avais, en particulier la possibilité de faire plusieurs implantations simultanées dans les zones auditives tout en prenant en compte les contraintes liées à notre système d'enregistrement. Le résultat est une pièce en forme de T inversé, pesant 0,2 g, et réalisé à l'atelier FabLab de l'Institut Pasteur par Eric Nicoleaus. Le 1^{er} matériau utilisé est l'aluminium. La pièce peut aussi être réalisée avec du titane, un matériau moins souple qui pourrait encore réduire les micromouvements de l'animal. La **Figure 36** montre le placement

de la pièce ainsi réalisée sur le crâne par rapport aux zones d'implantation souhaitées et l'utilisation de la pièce au cours d'un enregistrement en double implantation (AC et thalamus simultanément).

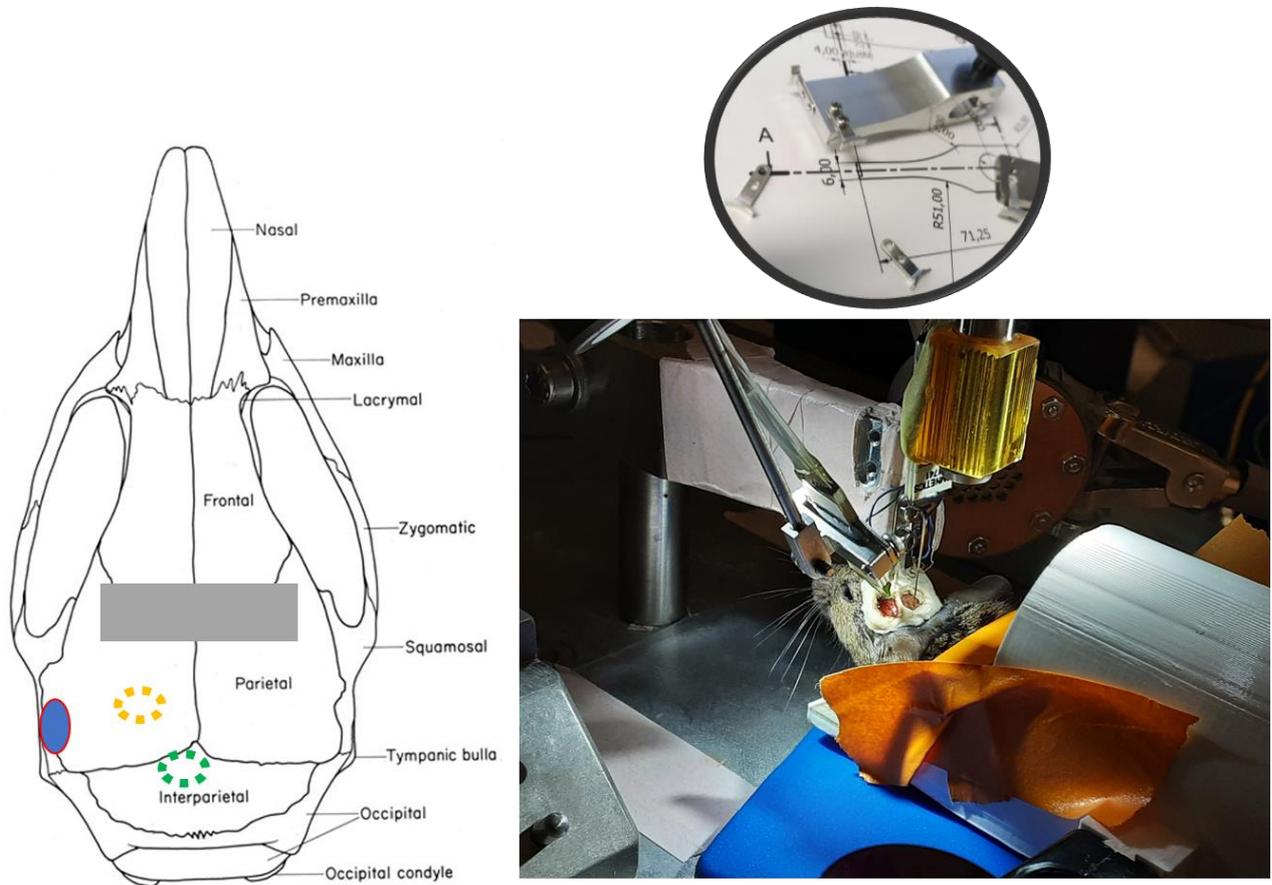


Figure 36 : Illustration du système d'enregistrement sur souris vigiles mis en place au cours de ma thèse

A gauche, schéma d'un crâne de souris en vue dorsale. Le rectangle gris indique la position de la pièce de maintien, le cercle rouge la zone de craniotomie du cortex auditif, et les cercles en pointillés les zones de craniotomie pour accéder au thalamus auditif (en jaune) et au colliculus inférieur (en vert). A droite, enregistrement de l'activité neuronale chez une souris CBA vigile dans le cortex auditif et le thalamus ; l'encadré au-dessus montre le système permettant de maintenir immobile la tête de la souris.

II) Partie II : Etude de l'expression et du rôle fonctionnel de
Cdhr23 et *Pcdh15*

A. Etude du rôle de *Cdhr23* dans le fonctionnement du cortex auditif chez les souris *Cdhr23* cKO anesthésiées

L'ensemble des résultats présentés dans cette section est issu d'études électrophysiologiques que j'ai effectuées sur trois groupes de souris anesthésiées entre P23 et P45 :

- 1- Les souris *Nkx2.1-cre*^{Tg/+} : *Cdhr23*^{lox/lox} (nommées ensuite « souris *Cdhr23* cKO »), où le gène *Cdhr23* est inactivé dans les progéniteurs neuraux issues de la MGE.
- 2- Les souris *Nkx2.1-cre*^{+/+} : *Cdhr23*^{lox/lox} (nommées ensuite « souris CTRL »), qui n'expriment pas la cre-recombinase et sont issues de mêmes portées que les souris *Cdhr23* cKO. Ces souris constituent un premier groupe contrôle.
- 3- Les souris *Nkx2.1-cre*^{Tg/+} : *Rosa-tdTomato* (nommées ensuite « souris CTRLcre »), qui expriment la cre-recombinase (et le gène rapporteur tdTomato). Ces souris constituent un deuxième groupe contrôle permettant de vérifier si la cre-recombinase n'agit pas comme un facteur confondant en modifiant en elle-même l'activité des neurones qui l'expriment (Kim et al. 2013).

Comme l'étude précédente de mon laboratoire de thèse a montré que les souris *Cdhr23* cKO présentent un déficit d'interneurones à PV dans le cortex auditif (AC) et que la cre-recombinase n'est exprimée théoriquement que dans l'AC (Libé-Philippot et al. 2017), j'ai enregistré l'activité neuronale de l'AC et du colliculus inférieur (IC) simultanément, en considérant l'IC comme un contrôle (l'hypothèse choisie étant qu'il n'y aurait pas de différence majeure entre les groupes étudiées dans l'IC). Pour certains enregistrements, la partie ventrale du MGB (thalamus auditif) était implanté à la place de l'IC, mais les données MGB ne seront pas présentées ici car encore trop peu nombreuses. Les données présentées ici ont d'abord été analysées statistiquement grâce à un test de variance ANOVA à deux facteurs : un facteur *groupe* et un facteur *aire cérébrale*, puis des tests post-hoc comparant deux à deux les différences entre souris CTRL, CTRLcre et *Cdhr23* cKO en cas de significativité du test ANOVA.

Ces données sont issues d'une première étude réalisée pendant mon Master2, à laquelle nous avons ajouté les données obtenues pendant ma thèse. Les barres d'erreurs indiquées dans chaque figure correspondent à l'erreur standard de la moyenne.

1. Les seuils auditifs périphériques et corticaux des souris *Cdhr23* cKO sont normaux

En mesurant les ABRs sur les deux groupes de souris contrôles et les souris *Cdhr23* cKO avant l'implantation intracérébrale des électrodes, j'ai pu vérifier que leurs seuils auditifs étaient normaux et m'assurer que la construction génétique des souris visant à inactiver de manière conditionnelle *Cdh23* uniquement dans les neurones inhibiteurs n'entraînait pas de perte auditive périphérique. Les ABRs ont été enregistrés en réponse à deux types de stimuli : un click (impulsion de 100 μ s) et des sons purs de fréquences échelonnées entre 2 kHz et 64 kHz (**Figure 37**). Les seuils auditifs étaient similaires entre les trois groupes pour ces deux types de stimuli (**Figure 37A**, $p=0,41$). Comme attendu, le système auditif périphérique n'est donc pas atteint par la délétion centrale de *Cdhr23*. Pour les trois groupes, la fréquence préférentielle, c'est-à-dire celle qui induit une réponse à l'intensité la plus faible (environ 30 dB SPL), est identique : 16 kHz (**Figure 37A**).

Puisqu'un défaut d'inhibition corticale pourrait abaisser ou augmenter les seuils auditifs uniquement dans le cortex (Seybold et al. 2012), nous avons également estimé les seuils auditifs « centraux » dans l'IC et l'AC à partir des enregistrements intracérébraux. On représente tout d'abord le taux de décharge maximum d'un neurone en réponse à des sons purs de 50 ms d'intensité variant entre 80 et 10 dB SPL et de fréquence variante entre 2 et 90kHz. Ceci permet de construire un « audiogramme » du neurone, appelé courbe d'accord (**Figure 37B** gauche) en traçant la limite de significativité de ce taux de décharge. Les courbes d'accord de chaque neurone pour une souris donnée sont superposées et la limite d'intensité la plus basse représente le seuil de l'animal (**Figure 37C** droite). Bien que les seuils dans l'AC soient typiquement plus élevés (c'est-à-dire moins bons) que dans l'IC, aucune différence n'a été mise en évidence entre les groupes CTRL, CTRLcre et *Cdhr23* cKO, à l'exception des basses fréquences (≤ 4 kHz) pour lesquelles quelques artefacts ont induit des seuils erronés (**Figure 37D**).

Ainsi, ni la diminution du nombre d'interneurones à PV dans l'AC, ni l'expression seule de la cre-recombinase n'ont d'effet majeur sur les seuils auditifs périphériques et centraux.

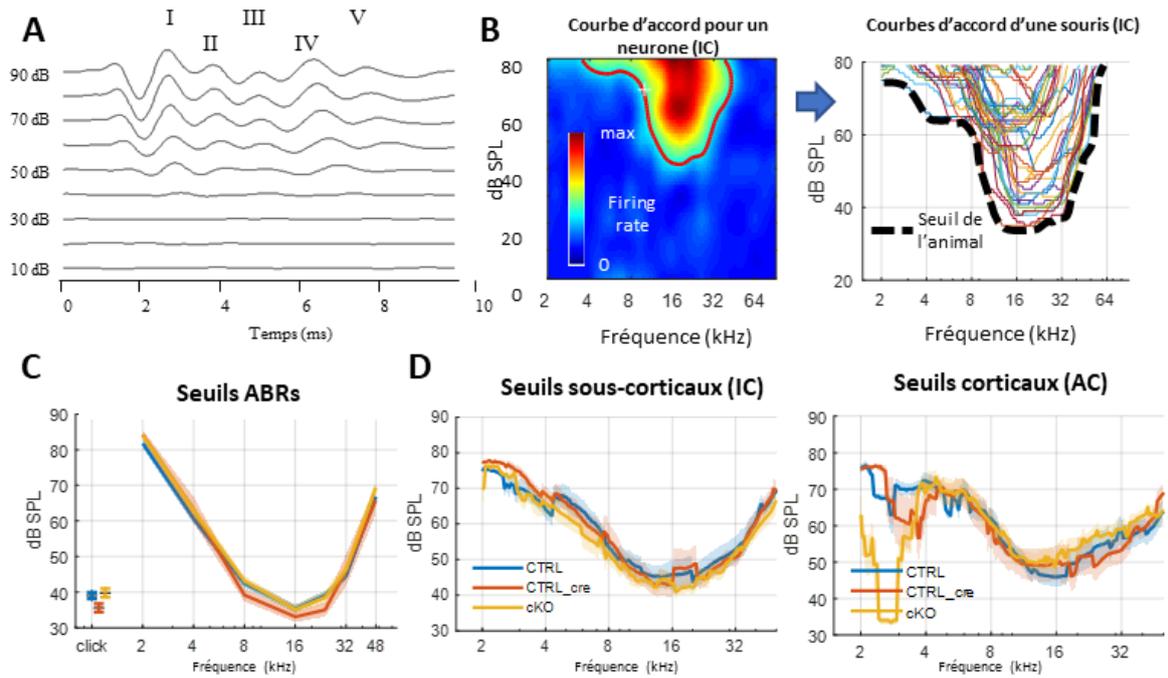


Figure 37 : Représentation des seuils auditifs corticaux et sous-corticaux.

(A) Exemple d'ABRs enregistrés en réponse à un click présenté à différentes intensités. (B) A gauche, courbe d'accord d'un neurone de l'IC ; à droite, superposition des courbes d'accord des neurones de l'IC d'un même animal. La limite inférieure de cette superposition représente le seuil de l'animal. (C) Moyennes des ABRs de tous les animaux utilisés (CTRL : N = 45 ;CTRL_cre : N = 18 ; *Cdhr23* cKO : N=36). (D) Moyenne des seuils auditifs du colliculus inférieur (à gauche, (CTRL : N = 11 ;CTRL_cre : N = 8 ; *Cdhr23* cKO : N=11) et du cortex auditif (à droite, CTRL : N = 12 ;CTRL_cre : N = 10 ; *Cdhr23* cKO : N=15). Ces données sont issues de souris anesthésiées. AC : cortex auditif. IC : colliculus inférieur.

2. Une réduction des champs récepteurs chez les souris *Cdhr23* cKO

Pour chaque neurone enregistré, la stimulation par des sons purs de 50ms m'a permis de construire son champ récepteur spectrotemporel (STRF). Celui-ci représente pour une fréquence donnée (en ordonnée) le taux de décharge (indiqué en couleur) en fonction du temps (en abscisse) depuis le début de la stimulation ($t = 0$). De nombreux paramètres peuvent être extraits des STRFs : l'activité spontanée, l'intensité de la réponse à chaque fréquence, la fréquence préférée (fréquence correspondant au maximum de la réponse), les durée et latence des pics d'activité significatifs, la largeur de bande (étendue de la gamme de fréquence à laquelle un neurone répond), etc. La **Figure 38** présente ces principaux paramètres pour chaque groupe d'étude et chaque aire cérébrale.

Dans l'AC, l'activité spontanée est accrue chez les souris *Cdhr23* cKO par rapport aux souris CTRL et CTRLcre (**Figure 38B** ; interaction $p=7.10^{-4}$, tests post-hoc $p=4.10^{-7}$ et $p=2.10^{-16}$ respectivement). De plus, le taux de décharge maximal de chaque neurone est plus faible (**Figure 38C** ; interaction $p<1.10^{-10}$, tests post-hoc $p=0,007$ et $p=5.10^{-3}$ respectivement) et la durée de réponse est moins longue, mais cet effet n'est significatif que pour les souris CTRL (**Figure 38D**; interaction $p=7.10^{-4}$, test post-hoc $p=6,5.10^{-4}$). Bien que la largeur de bande ne soit pas modifiée de manière significative (**Figure 38E**), la diminution du taux de décharge et de la durée de réponse ainsi que l'augmentation de l'activité spontanée explique que l'activité évoquée, représentée par le volume du pic significatif et l'aire du champ récepteur (**Figure 38F et G**) soient diminuées de manière significative chez les souris *Cdhr23* cKO (interaction $p<1.10^{-10}$ et $p<1.10^{-10}$, test post-hoc cKO vs CTRL $p=1.10^{-3}$ et $p=9.10^{-4}$; cKO vs CTRLcre $p=2.10^{-6}$ et $p=4.10^{-7}$). Aucune différence significative entre les deux groupes CTRL et CTRLcre n'a été observée pour les paramètres présentés ici, suggérant donc que les différences observées chez les souris *Cdhr23* cKO ne sont pas liées ici à un effet de l'expression de la cre-recombinase.

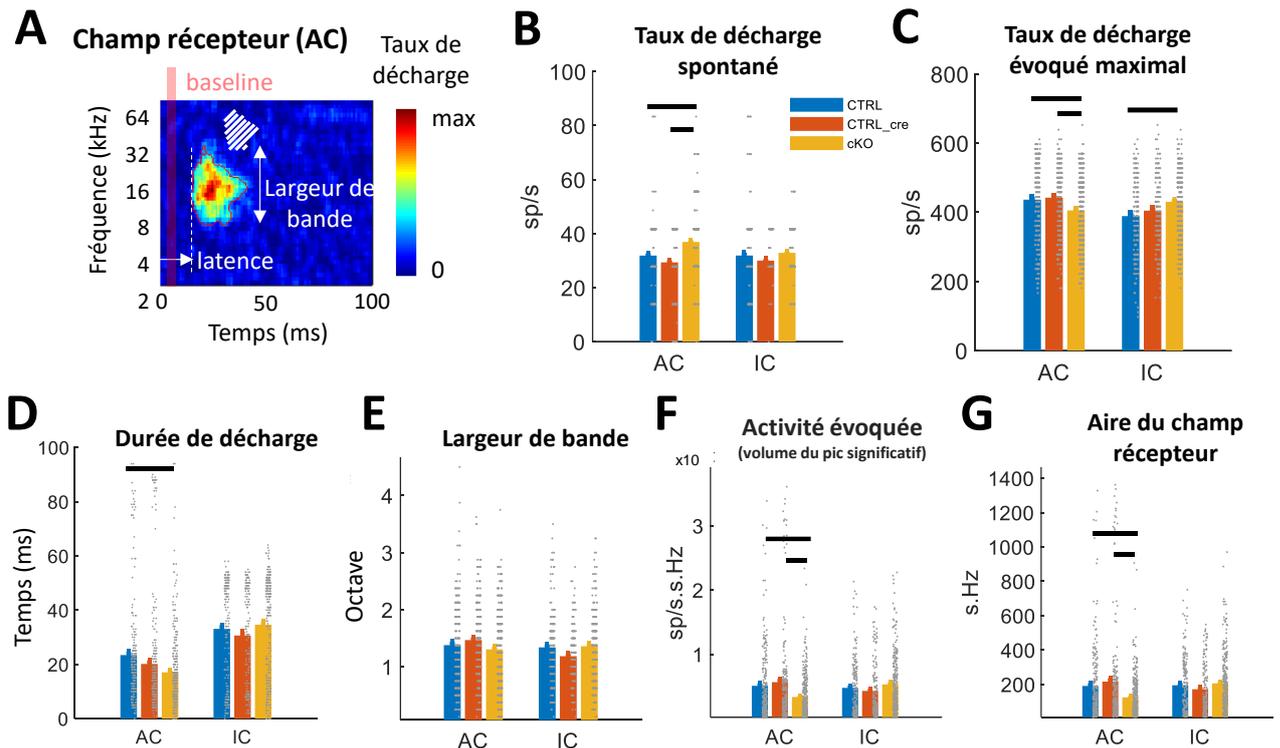


Figure 38 : Comparaison des principales caractéristiques des champs récepteurs spectro-temporels auditifs

(A) Exemple de STRF obtenu pour un neurone cortical et paramètres extraits du pic de taux de décharge significatif. (B à G) Moyennes de différents paramètres extraits du champ récepteur. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Chaque enregistrement individuel est représenté par un point gris sur les graphiques en barres. (B) Taux de décharge spontanée calculé à partir de la « baseline » indiqué en A. (C) Taux de décharge maximal en réponse aux sons (pixel le plus rouge du champ récepteur en A). (D) Durée moyenne de décharges. (E) Largeur de bande moyenne. (F) Activité évoquée représentée par le volume du pic significatif, calculé à partir de la largeur de bande, la durée de décharge et le taux de décharge. (G) Moyenne des aires des champs récepteurs. Toutes ces données sont issues de souris anesthésiées. AC : cortex auditif ; IC : colliculus inférieur ; sp/s : potentiels d'action par seconde

La susceptibilité des souris *Cdhr23* cKO aux crises audiogènes est maximale au début de la 4^{ème} semaine de vie, puis diminue progressivement jusqu'à disparaître entièrement au-delà de P35 (Libé-Philippot et al. 2017), suggérant une compensation du défaut d'équilibre excitation-inhibition après la période critique de développement de l'AC. J'ai donc regardé s'il existait des variations de la réponse des neurones aux stimuli testés en fonction de l'âge en analysant séparément les données des animaux dont l'âge est inférieur à P35 (Figure 39), et ceux chez qui il est supérieur à P35 (Figure 40).

Les résultats chez les jeunes animaux (<P35) diffèrent des résultats tout âge confondu. En effet, les taux de décharge spontanée et évoquée sont équivalents entre les trois groupes (**Figure 39A**). Entre les souris *Cdhr23* cKO et les souris CTRL, seule la largeur de bande est augmentée (**Figure 39D** ; interaction $p < 1.10^{-10}$, test ad-hoc $p = 9.10^{-3}$), et aucune différence n'est observée entre les souris *Cdhr23* cKO et les souris CTRL pour la durée de décharge, l'aire et le volume des STRF des neurones de l'AC (**Figure 39C,E-F**).

En revanche, des différences importantes sont à noter entre les souris CTRLcre et les deux autres groupes. Dans l'AC comme dans l'IC, les durées de décharge chez des souris CTRLcre sont fortement diminuées (d'un facteur 2 à 4, **Figure 39C** ; interaction $p = 0,09$, effet *groupe* $p = 0$, test post-hoc vs cKO $p = 4.10^{-3}$ et vs CTRL $p = 1.10^{-3}$). L'aire du STRF et le volume du pic significatif sont aussi réduits chez les souris CTRLcre dans l'IC (**Figure 39F**). Concernant les largeurs de bande, dans l'AC elles sont réduites chez les souris CTRLcre par rapport aux souris *Cdhr23* cKO ($p = 9.10^{-3}$) mais similaires aux souris CTRL, et dans l'IC elles sont similaires à celles des souris *Cdhr23* cKO mais réduites par rapport aux souris CTRL ($p = 2.10^{-4}$). Il est difficile d'expliquer ces différences qui ne sont pas cohérentes entre les groupes et les aires puisqu'elles varient de manière différente selon le paramètre, le groupe et l'aire considérés, et sont bien présentes dans l'IC alors que la cre-recombinase n'est pas supposée y être exprimé. D'où peuvent venir ces effets ? Probablement de la faible qualité de enregistrements chez les souris CTRLcre à cet âge : peu d'animaux (3) et peu de neurones (31 dans l'AC et 41 dans l'IC) ont pu être enregistrés par rapport aux deux autres groupes (CTRL : 6 animaux, $N_{AC} = 115$, $N_{IC} = 94$; *Cdhr23* cKO : 8 animaux, $N_{AC} = 135$, $N_{IC} = 147$).

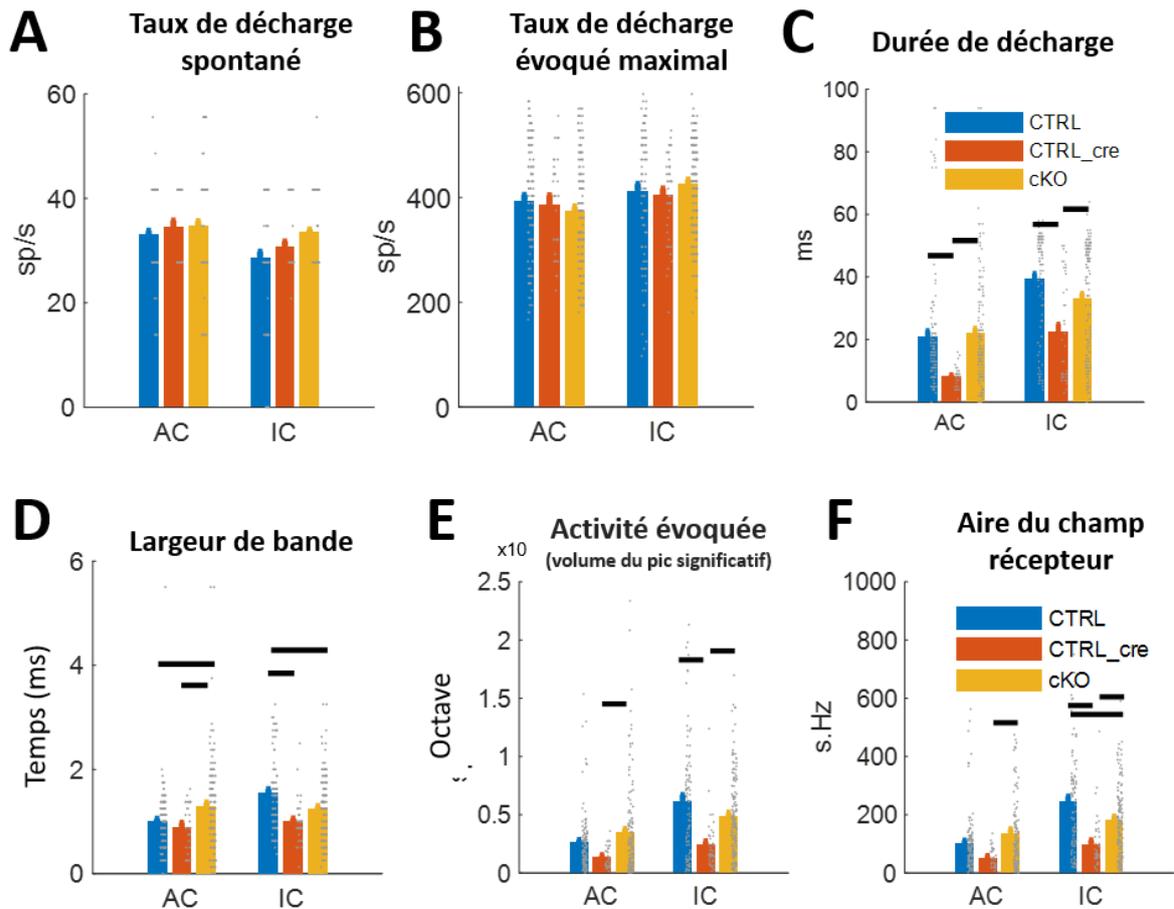


Figure 39 : Comparaison des caractéristiques des champs spectro-temporel pour les animaux enregistrés pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes (<P35) (A à F) Moyennes de différents paramètres extraits du champ récepteur. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Chaque enregistrement individuel est représenté par un point gris sur les graphiques en barres. (A) Taux de décharge spontanée. (B) Taux de décharge maximal en réponse aux sons. (C) Durée moyenne de décharges. (D) Largeur de bande moyenne. (E) Activité évoquée représentée par le volume du pic significatif, calculé à partir de la largeur de bande, la durée de décharge et le taux de décharge. (F) Moyenne des aires des champs récepteurs. Toutes ces données sont issues de souris anesthésiées. AC : cortex auditif ; IC : colliculus inférieur ; sp/s : potentiels d'action par seconde

Chez les souris plus âgées (>P35, hors de la période de susceptibilité aux crises audiogènes), on retrouve des différences similaires aux résultats globaux pour l'AC (**Figure 40**). En revanche, des différences entre les groupes apparaissent dans l'IC : chez les souris *Cdhr23* cKO, la durée de décharge et la largeur de bande sont accrues par rapport à celles des souris CTRL (**Figure 40C-D**, test post-hoc $p=5.10^{-8}$ et $p=6.10^{-7}$ respectivement), entraînant une augmentation de l'aire du STRF (**Figure 40F**, test post-hoc $p=1,4.10^{-9}$). Les souris CTRLcre présentent un phénotype intermédiaire par rapport aux deux autres groupes sans que ces différences soient significatives.

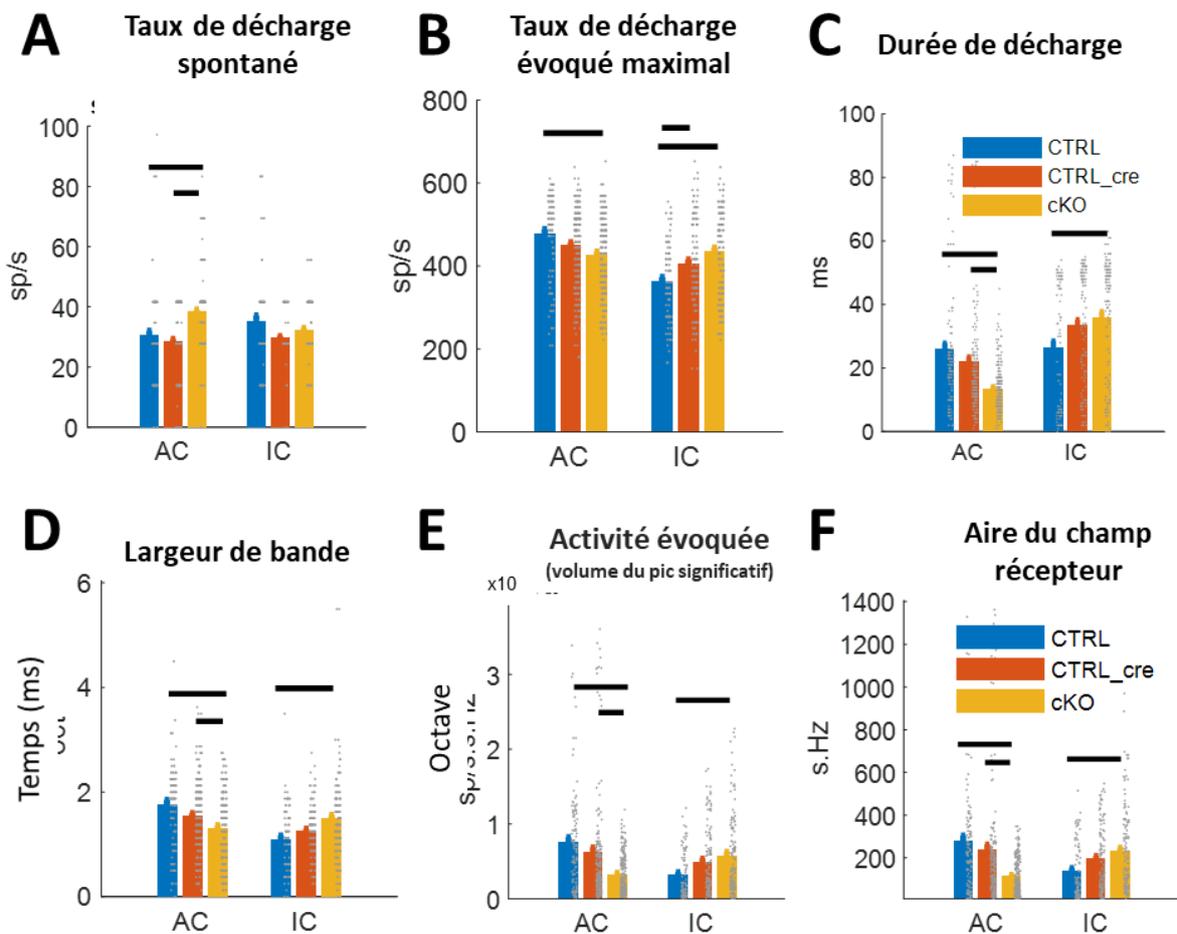


Figure 40 : Comparaison des caractéristiques des champs spectro-temporels pour les animaux enregistrés après la période de susceptibilité aux crises audiogènes (>P35) (A à F) Moyennes de différents paramètres extraits du champ récepteur. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Chaque enregistrement individuel est représenté par un point gris sur les graphiques en barres. (A) Taux de décharge spontanée. (B) Taux de décharge maximal en réponse aux sons. (C) Durée moyenne de décharges. (D) Largeur de bande moyenne. (E) Activité évoquée représentée par le volume du pic significatif, calculé à partir de la largeur de bande, la durée de décharge et le taux de décharge. (F) Moyenne des aires des champs récepteur. Toutes ces données sont issues de souris anesthésiées. AC : cortex auditif ; IC : colliculus inférieur ; sp/s : potentiels d'action par seconde

3. Les champs récepteurs des souris *Cdhr23* cKO sont plus sensibles au bruit.

Les précédentes observations ont porté sur des stimuli qui n'impliquent aucune excitation préalable du système auditif, ce qui peut réduire les différences entre chaque groupe. De plus, les neurones à PV interviennent dans la capacité des circuits corticaux à extraire une information pertinente dans un environnement bruyant (Christensen et al. 2019; Lakunina et al. 2022). Pour augmenter l'excitation globale des voies auditives tout en évaluant cette capacité chez les souris *Cdhr23* cKO, j'ai ajouté un bruit blanc constant à 60 dB SPL aux sons purs et calculé le rapport entre les réponses avec et sans bruit de fond (**Figure 41**).

L'ajout d'un bruit de fond n'accroît pas de manière significative le taux de décharge par rapport au silence des trois groupes (**Figure 41A**) dans les deux aires cérébrales. En revanche, la plupart des autres paramètres étudiés sont réduits lors de l'ajout d'un bruit de fond, dans l'AC comme dans l'IC (**Figure 41B-F**). Cet effet du bruit était attendu (Liang et al. 2014) et a bien lieu dans tous les groupes.

Dans l'AC, chez les souris *Cdhr23* cKO, la largeur de bande, le taux de décharge évoqué, le volume du pic significatif et l'aire des champs récepteur sont plus fortement diminués par rapport aux souris CTRL (test post-hoc $p=0,02$, $p=4.10^{-3}$, $p=5.10^{-6}$ et $p=3.10^{-6}$ respectivement). La durée de décharge reste similaire entre les deux groupes. De même, par rapport aux souris CTRLcre, le taux de décharge évoqué et le volume du pic significatif (test post-hoc $p=0,04$ et $p=0,04$ respectivement) sont plus fortement réduits par la présence de bruit mais la largeur de bande, la durée de décharge ou encore l'aire des champs récepteurs ne montrent pas de différence significative. En revanche, des différences entre les deux groupes contrôles existent : les souris CTRLcre ont une durée de décharge davantage réduite par la présence de bruit que les souris CTRL (test post-hoc $p=0,03$).

Dans l'IC, il n'y a pas de différence significative entre les souris *Cdhr23* cKO et les souris CTRL. Cependant, de manière surprenante, les souris CTRLcre sont plus sensibles à l'ajout de bruit que les deux autres groupes dans l'IC. Ainsi, la réduction de tous les paramètres étudiés à l'exception du taux de décharge spontané est plus forte chez les souris CTRLcre : le taux de décharge évoqué (vs cKO $p=8.10^{-3}$ et vs CTRL $p=2.10^{-3}$), le volume du pic significatif (vs cKO $p=3.10^{-4}$ et vs CTRL $p=4.10^{-5}$), la durée de décharge (vs cKO $p=8.10^{-5}$ et vs CTRL $p=3.10^{-5}$), la largeur de bande (vs cKO $p=4.10^{-3}$ et vs CTRL $p=0,03$) et l'aire des champs récepteur (vs cKO $p=2.10^{-4}$ et vs CTRL $p=4.10^{-3}$).

Ces résultats sont retrouvés quel que soit l'âge (données non présentées ici).

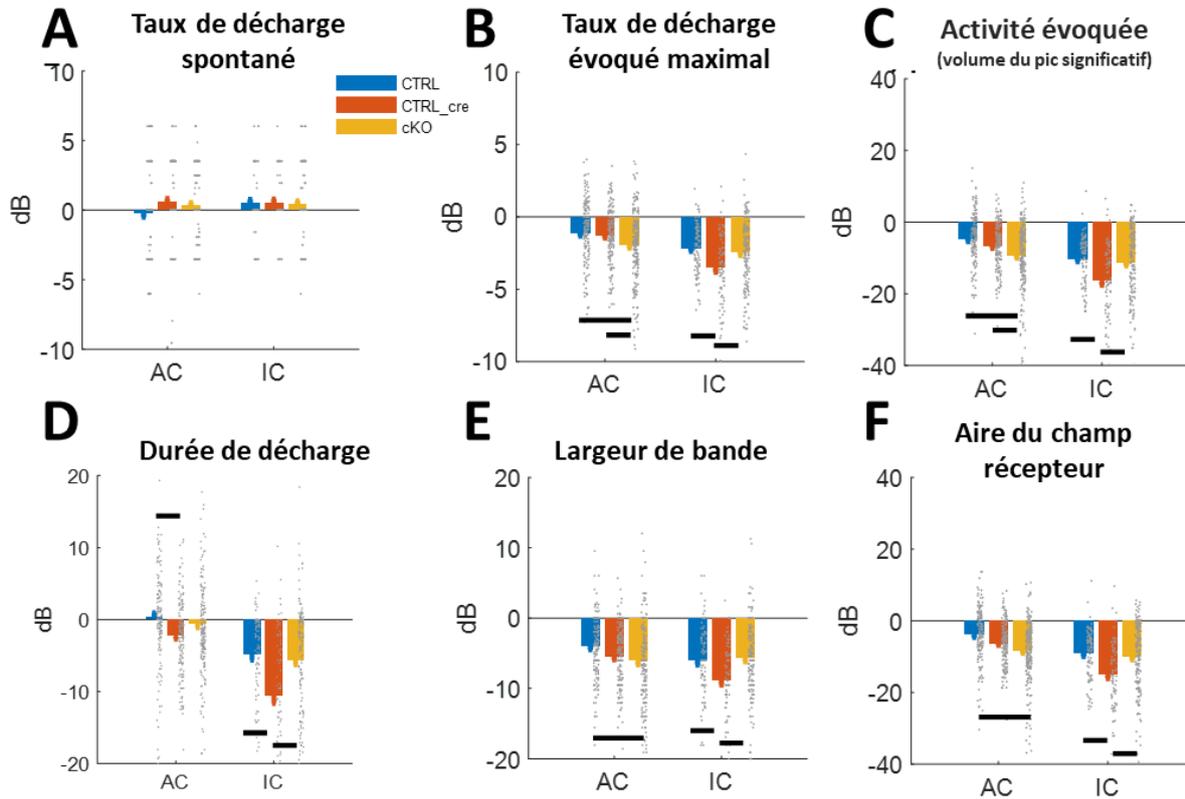


Figure 41 : Modification des paramètres des champs récepteurs lors de l'ajout d'un bruit blanc de 60dB.

(A-F) Logarithme du -rapport entre la moyenne avec bruit et la moyenne sans bruit pour (A) le taux de décharge spontanée, (B) le taux de décharge maximal en réponse aux sons, (C) Activité évoquée représentée par le volume du pic significatif, (D) la durée de décharges, (E) la largeur de bande et (F) l'aire des champs récepteurs. Une valeur négative indique une réduction de la valeur du paramètre lors de l'ajout du bruit, une valeur positive une augmentation. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Ces données sont issues de souris anesthésiées.

4. Les neurones des souris *Cdhr23* cKO montrent une modification de l'adaptation neuronale

Parmi les systèmes sensoriels, le système auditif est le plus rapide et le plus précis temporellement. Ces deux propriétés permettent aux circuits neuronaux de l'AC de détecter de très rapides modifications de l'environnement acoustique. L'inhibition neuronale joue un rôle important dans la précision temporelle de la réponse à des stimuli (Wehr et Zador 2003). Le verrouillage de phase, c'est-à-dire la synchronisation de la décharge neuronale avec un stimulus sonore simple, peut être testé par la présentation répétée d'un Click à une cadence donnée. J'ai utilisé de cadences de 2/s, 4/s, 8/s, 16/s, 32/s et 64/s.

Dans l'IC, les neurones enregistrés suivent de manière constante la succession de clicks : leur taux de décharge en réponse à chaque click et la durée des réponses restent constants chez les souris CTRL, les souris CTRLcre et les souris *Cdhr23* cKO (**Figure 42A**, **Figure 43**). Dans l'AC, tous les groupes étudiés montrent une diminution de la force de la réponse neuronale aux clicks pour toutes les cadences présentées, ce dès le deuxième click, comme le montre la diminution du taux de décharge aux 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} click pour une cadence de 4/s (**Figure 42A**), et la capacité à répondre à chaque click diminue à mesure que la cadence augmente (**Figure 42B**). Il s'agit de l'adaptation de la réponse au stimulus (Antunes et Malmierca 2014). Cette adaptation est cependant moins forte pour les cadences les plus faibles (2 et 4/s) chez les souris *Cdhr23* cKO et chez les souris CTRLcre par rapport aux souris CTRL (**Figure 42C** ; interaction $p=0$, test post-hoc pour 2/s cKO vs CTRL $p=2.10^{-9}$, CTRLcre vs CTRL $p=4.10^{-8}$; pour 4/s CTRLcre vs CTRL $p=6.10^{-3}$). Lorsque la cadence des clicks est faible, l'intervalle de temps entre chaque click est plus grand (500ms pour une cadence de 2/s, 125 ms pour une cadence de 8/s). Le mécanisme de l'adaptation de la réponse neuronale pour de grands intervalles interstimulus est une réduction de la transmission synaptique d'un stimulus par rapport au précédent stimulus (ici, des clicks), qu'on appelle la dépression synaptique (Wehr et Zador 2003). Nos résultats suggèrent donc une diminution de la dépression synaptique chez les souris *Cdhr23* cKO, bien que cet effet puisse être lié à l'expression de la cre-recombinase et non à l'absence d'interneurones à PV puisqu'il est retrouvé aussi chez les souris CTRLcre.

De plus, les durées de réponses sont allongées chez les souris *Cdhr23* cKO par rapport aux souris CTRL (test post-hoc $p=9.10^{-13}$) et aux souris CTRLcre (test post-hoc $p=2.10^{-8}$), et ce dès le 1^{er} click (**Figure 43**). Cet allongement est particulièrement marqué chez les souris jeunes (<P35, **Figure 43B**). Cependant, les souris CTRLcre présente aussi un allongement des durées de réponse aux Clicks par rapport aux souris CTRL tout âge confondu. Un effet propre à

l'expression de la cre recombinase n'est donc pas à exclure dans le phénotype présenté par les souris *Cdhr23* cKO.

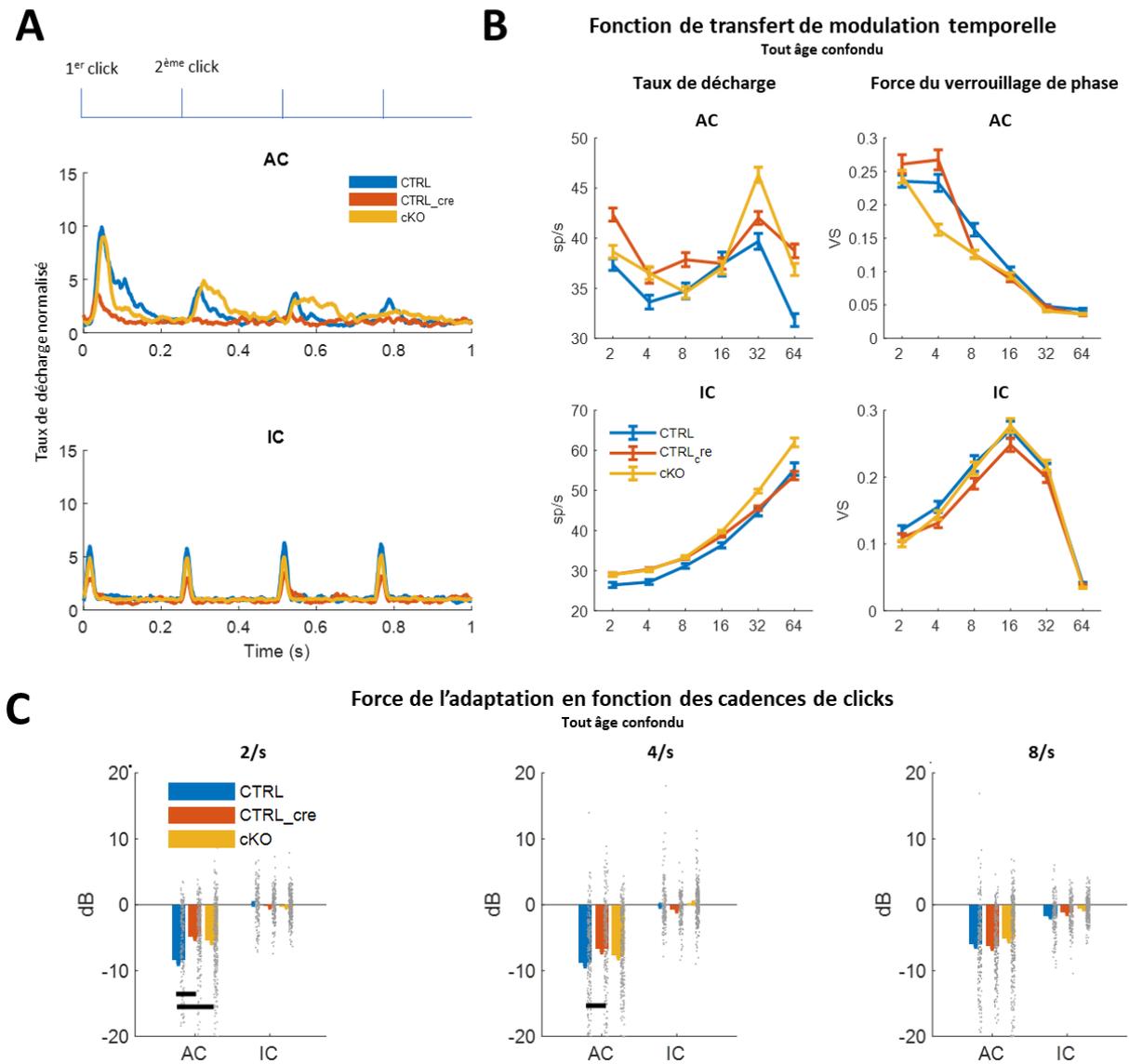


Figure 42 : Verrouillage de phase et adaptation neuronale dans le cortex auditif et le colliculus inférieur.

(A) Taux de décharge moyen en réponse à des clicks présentés à la cadence de 4/s, rapporté aux taux de décharge basal (moyennes chez les souris pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes (<P35)). (B) Fonction de transfert de modulation temporelle. A gauche, le taux de décharge maximale en fonction de la cadence des trains de clicks. A droite, quantification de la force du verrouillage de phase par le calcul du *vector strength* en fonction de la cadence des trains de clicks. (C) Ratio (en dB) de la réponse maximale au 2^{ème} click par rapport à celle au 1^{er} click selon 3 cadences différentes (2, 4 et 8/s). L'intervalle entre ces deux clicks est de 500 ms, 250 ms et 125 ms respectivement. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Ces données sont issues de souris anesthésiées. AC : cortex auditif. IC : colliculus inférieur.

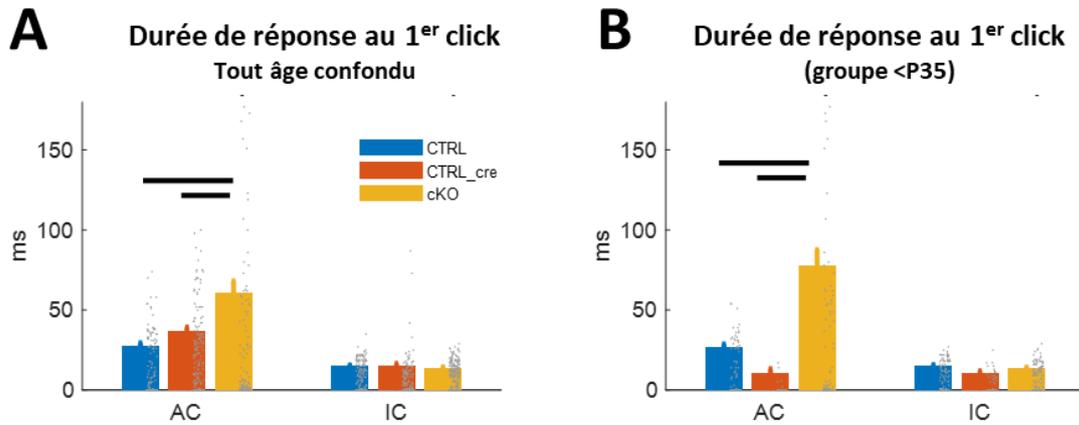


Figure 43 : Durée moyenne de réponse au 1^{er} click pour une cadence de 4 clicks/s
(A) Durée moyenne des réponses aux clicks tous âges confondus. **(B)** Durée moyenne des réponses aux clicks chez les souris pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes (<P35). Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Ces données sont issues de souris anesthésiées.
 AC : cortex auditif ; IC : colliculus inférieur

Mes données suggèrent donc que le nombre anormalement faible du nombre d'interneurones à PV chez les souris *Cdhr23* cKO entraîne une diminution de l'adaptation neuronale et une perte de précision temporelle des neurones de l'AC en réponse à des trains de clicks.

Cette diminution de l'adaptation neuronale des souris *Cdhr23* cKO pour des intervalles interstimuli de l'ordre de 100ms est retrouvée avec un autre stimulus : le « 2Tones » (voir Méthodes **III**C.3). Ce stimulus est constitué de 2 sons purs successifs, le 2^{ème} son étant toujours le même et présenté à la même intensité, tandis que le 1^{er}, présenté 100 ms avant, varie en fréquence et en intensité. Le « 2Tones » permet de tester un mécanisme d'adaptation appelé « *forward masking* » (littéralement masquage vers l'avant) ou « *forward suppression* » : la réponse à un son pur (appelé « son masqué ») est diminuée lorsqu'un autre son pur, appelé « son masquant », est présenté juste avant (Brosch et Schreiner 1997). Plus la fréquence et l'intensité des deux sons sont proches, plus la réponse neuronale au son masqué est réduite. Pour un neurone donné, ce phénomène est d'autant plus fort que les fréquences utilisées sont proches de sa fréquence préférentielle (ou *best frequency*, c'est-à-dire la fréquence à laquelle le neurone répond de manière la plus intense, visible dans son champ récepteur comme le point le plus rouge en **Figure 37**). La fréquence du son masquant a donc été choisie en fonction de la fréquence préférentielle des neurones enregistrés, et les résultats sont présentés en **Figure 44**. Cette figure représentant l'atténuation de la réponse à un son pur de 30 ms (représentée par une croix blanche) en fonction de la différence entre la fréquence et de l'intensité d'un autre son pur qui le précède de 100 ms.

Dans l'IC, il n'y a pas d'adaptation : la réponse est toujours la même quelles que soient les différences entre les deux sons : le son masquant n'a pas d'influence sur la réponse au son pur. En revanche, dans l'AC, plus la fréquence (et l'intensité) du son masquant est proche, plus la réponse est diminuée. Cette adaptation, présente dans les trois groupes étudiés, est beaucoup plus forte chez les souris CTRL par rapport aux deux autres groupes. Elle est la plus faible chez les souris *Cdhr23* cKO.

Ce résultat est plutôt cohérent avec celui obtenu par les trains de clicks de faible cadence et renforce l'hypothèse d'une diminution de la dépression synaptique chez les souris *Cdhr23* cKO partiellement due à l'expression de la cre recombinase.

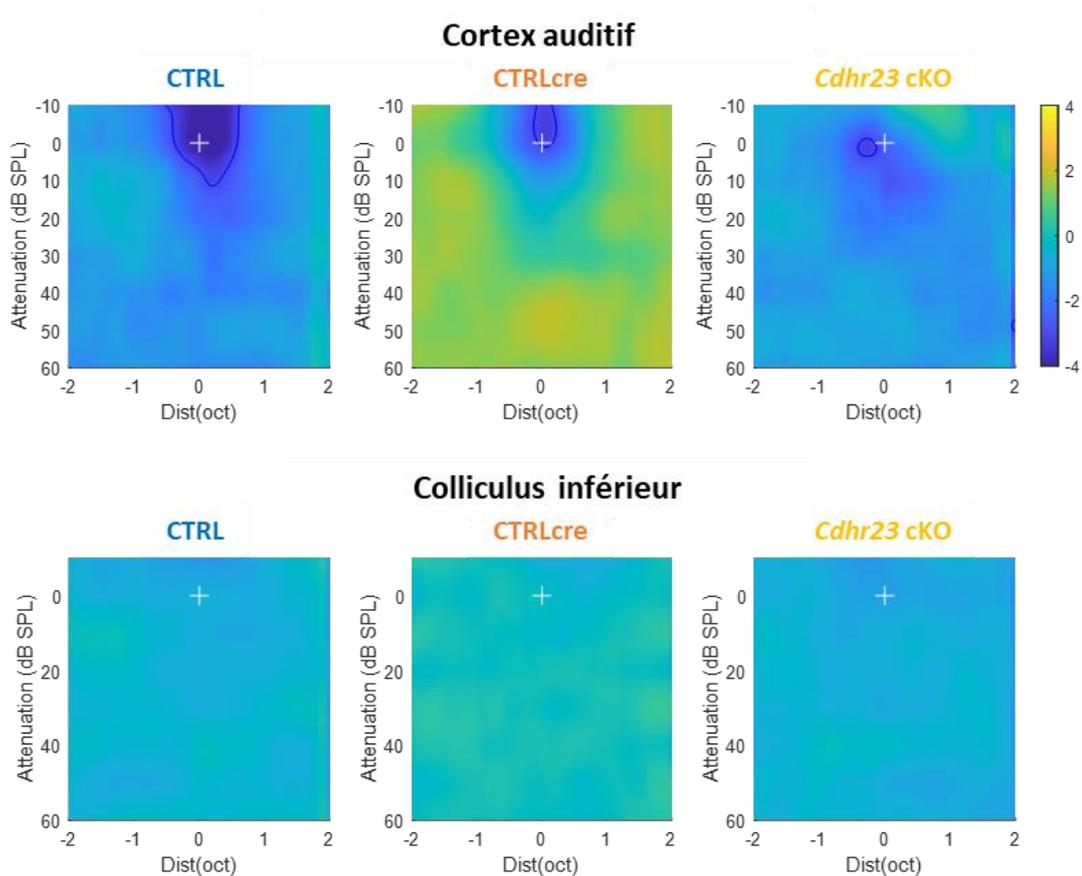


Figure 44 : Illustration du mécanisme de *forward masking* en réponse à deux sons purs successifs

Représentation de l'atténuation (en dB SPL, indiquée par les couleurs) de la réponse au son masqué (croix blanche) en fonction de la différence avec la fréquence (en abscisses, distance en octave) et l'intensité (en ordonnées, en dB SPL) du son masqué. Plus l'atténuation est forte plus la couleur devient bleue. Le contour bleu indique une atténuation d'au moins 3 dB, ce qui correspond à une diminution du taux de décharge en réponse au son masqué de 40%. Ces données sont issues de souris anesthésiées.

5. Réponse neuronale à un stimulus « crise audiotogène »

Les souris *Cdhr23* cKO présentent une forte susceptibilité aux crises audiotogènes (Libé-Philippot et al. 2017). Si la survenue d'une crise audiotogène est totalement inhibée par l'anesthésie, j'ai tout de même enregistré la réponse des neurones de l'AC et de l'IC à un son pur continu (11 kHz pendant 1 minute à 80 dB SPL), afin de tester si malgré l'anesthésie une hyperactivité corticale ou sous-corticale étant présente en réponse à un tel son pur. Dans l'AC, le taux de décharge n'est pas modifié entre les trois groupes (**Figure 45**), à l'exception des souris CTRLcre, qui présentent pour les souris de moins de 35 jours (<P35) une augmentation de ce taux par rapport aux souris CTRL et au souris *Cdhr23* cKO (**Figure 45** au milieu, test post-hoc vs cKO $p=0,04$ et vs CTRL $p=4.10^{-5}$). En revanche dans l'IC, une augmentation de ce taux est visible chez les souris *Cdhr23* cKO (**Figure 45** à gauche, test post-hoc vs CTRL $p=0,03$ et vs CTRLcre $p=1.10^{-5}$). Cet effet est global et n'est pas retrouvé de manière significative à l'analyse en fonction de l'âge, bien que l'activité de l'IC reste en moyenne supérieure chez les souris *Cdhr23* cKO par rapport aux deux groupes CTRL et CTRLcre. Cette augmentation de l'activité en réponse à un son de forte intensité dans l'IC pourrait à elle seule expliquer la survenue des crises chez les souris *Cdhr23* cKO, l'IC étant l'une des principales régions impliquées dans la genèse et la propagation des crises (voir Introduction **IV**)**B.3**).

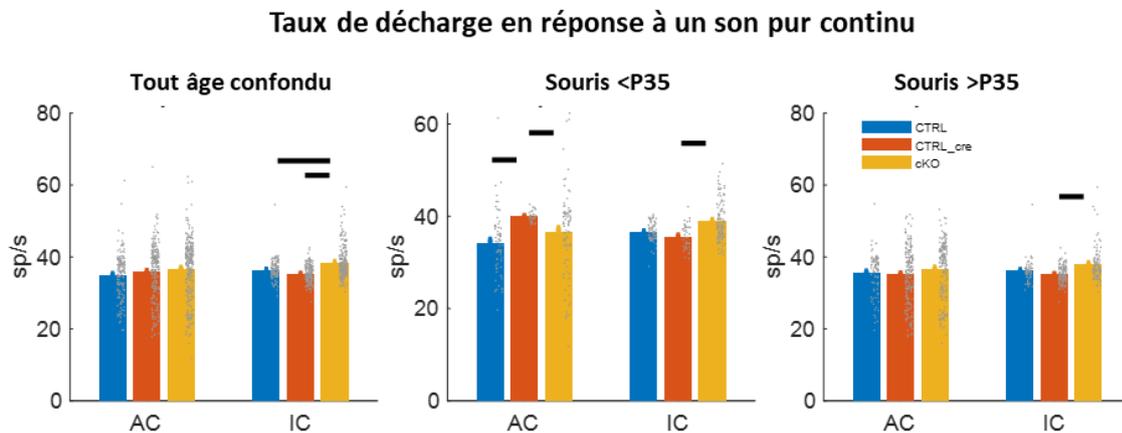


Figure 45 : Taux de décharge en réponse à un son pur continu

Taux de décharge en réponse à un stimulus utilisé pour déclencher une crise audiotogène (un son pur de 11 kHz présenté pendant 1 minutes). Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Ces données sont issues de souris anesthésiées.

AC : cortex auditif ; IC : colliculus inférieur.

Conclusion partielle : l'absence d'une partie des interneurones à PV chez la souris *Cdhr23* cKO modifie certaines caractéristiques spectrales (diminution des champs récepteurs spectro-temporels, sensibilité accrue aux bruits) et temporelles (perte de précision, diminution de l'adaptation) de la réponse neuronale dans l'AC. Ces résultats ne sont cependant pas aussi importants qu'attendus (20% du total des interneurones corticaux sont supposés manquants) et présentent des variations en fonction de l'âge : les modifications des caractéristiques temporelles sont plus importantes pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes (entre P20 et P35), tandis que ce n'est qu'après P35 que les modifications des caractéristiques spectrales sont les plus fortes. Enfin, si les résultats des souris CTRLcre souffrent d'une grande variabilité (surtout avant P35), ils suggèrent que l'expression de la cre-recombinase contribuent en partie à la réponse neuronale chez le modèle *Cdhr23* cKO.

B. Etude du rôle de *Pcdh15* dans le fonctionnement du cortex auditif chez les souris *Pcdh15* cKO

En parallèle de l'étude du modèle *Cdhr23* cKO, j'ai utilisé le modèle murin *Pcdh15* cKO pour développer les enregistrements électrophysiologiques sur animaux vigiles (voir S'affranchir de l'anesthésie : mesures électrophysiologiques sur souris vigiles). Effectuer le même type d'expérimentations sur les deux modèles simultanément ne m'aurait pas permis de développer sereinement les enregistrements sur animaux vigiles, en raison du temps important nécessaire pour réaliser les enregistrements anesthésiés (une journée par souris, pour 8h d'expérimentation) ainsi que du nombre important de souris à conserver pour la mise en place des études comportementales. Cette stratégie d'étude du rôle des interneurons à PV nécessitant *cdhr23* et *pcdh15* était permise par la co-expression de *Cdhr23* et *Pcdh15* suggérée par les précédents travaux de l'équipe (Libé-Philippot et al. 2017) et les phénotypes presque similaires des modèles murins *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO.

La plupart des résultats présentés ici sont issus d'études électrophysiologiques que j'ai effectuées sur deux groupes de souris entre P60 et P90 :

- 1- Les souris *Nkx2.1-cre^{Tg/+} ; Pcdh15^{lox/lox}* (nommées ensuite « souris *Pcdh15* cKO »), où le gène *Pcdh15* est inactivé dans les progéniteurs neuraux issues de la MGE. J'ai pu enregistrer 10 animaux différents pour un total de 475 neurones.
- 2- Les souris *Nkx2.1-cre^{+/+} ; Pcdh15^{lox/lox}* (nommées ensuite « souris CTRL »), qui n'expriment pas la cre-recombinase et sont issues de mêmes portées que les souris *Pcdh15* cKO. Ces souris constituent un groupe contrôle. J'ai pu enregistrer 9 animaux différents pour un total de 293 neurones.

Je n'ai pas pu effectuer d'enregistrements sur des souris n'exprimant que la cre-recombinase (souris *Nkx2.1-cre^{Tg/+} ; Pcdh15^{+/+}*). De plus, n'ayant pas encore les compétences techniques et le matériel nécessaire, je n'ai pas pu enregistrer simultanément l'AC et l'IC. Les souris *Pcdh15* cKO présentant théoriquement un défaut d'inhibition uniquement dans l'AC, je me suis focalisé sur cette aire auditive. Pour comparer les données des deux groupes, des tests de Student ont été effectués.

1. Réponse neuronale à un son pur et influence d'un bruit de fond

J'ai tout d'abord stimulé les animaux avec des sons purs pour construire les STRF des neurones corticaux chez les souris *Pcdh15* cKO et les souris CTRL. L'analyse de différents paramètres des STRFs (**Figure 46**) n'a pas mis en évidence de différence majeure entre les deux groupes, à l'exception de deux paramètres : le rapport de l'activité évoquée sur l'activité spontanée est plus élevé ($p=3.10^{-4}$; **Figure 46C**) et la largeur de bande plus faible ($p=0,01$; **Figure 46D**) dans l'AC des souris *Pcdh15* cKO.

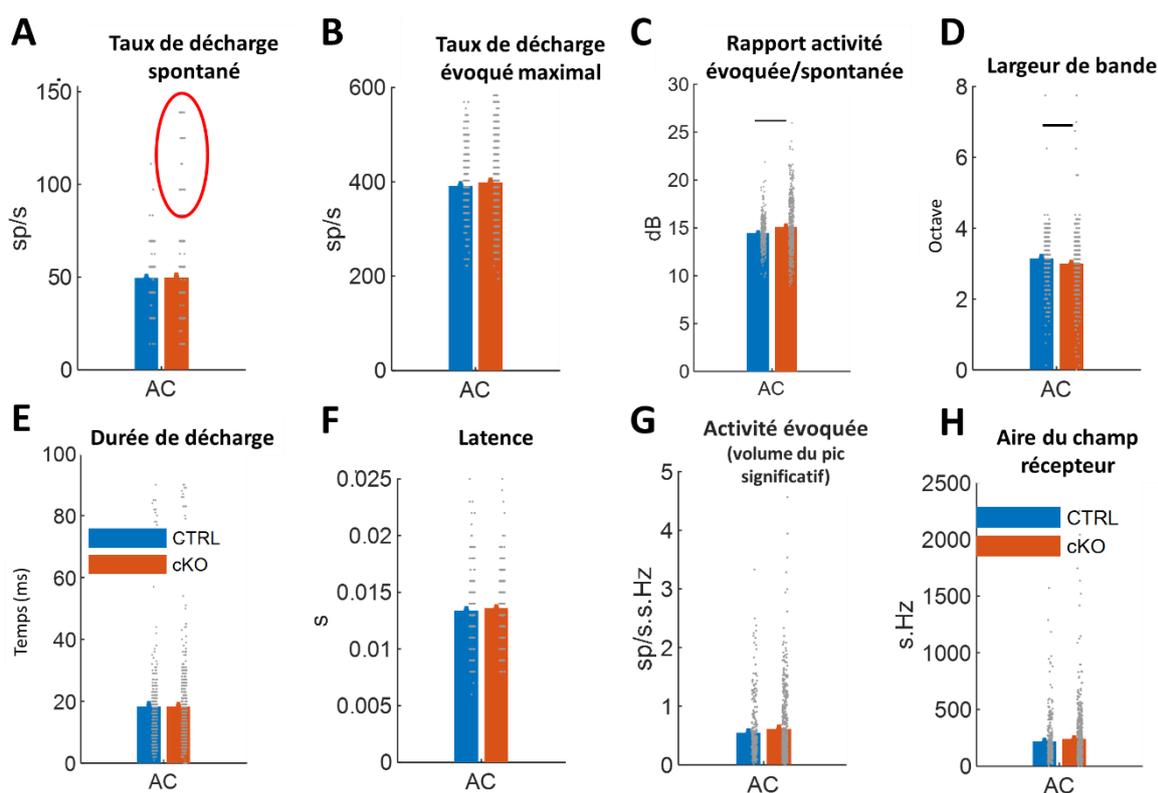


Figure 46 : Comparaison des principales caractéristiques des champs récepteurs spectro-temporels auditifs

Moyennes de différents paramètres extraits du champ récepteur. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Chaque enregistrement individuel est représenté par un point gris sur les graphiques en barres (A) Taux de décharge spontanée calculé à partir de la « baseline » (voir Figure 38). Le cercle rouge montre une population de neurones hyperactifs chez les souris *PCdh15* cKO. (B) Taux de décharge maximal en réponse aux sons. (C) Rapport entre l'activité neuronale évoquée et l'activité spontanée. (D) Largeur de bande moyenne. (E) Durée moyenne de décharges. (F) Latence du début du pic significatif (G) Activité évoquée représentée par le volume du pic significatif, calculé à partir de la largeur de bande, la durée de décharge et le taux de décharge. (G) Moyenne des aires des champs récepteur.

Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

AC : cortex auditif ; IC : colliculus inférieur ; sp/s : potentiels d'action par seconde.

Cependant, certains neurones des souris *Pcdh15* cKO présentaient un fort taux de décharge spontanée (**Figure 46**, cercle rouge). Afin de vérifier la solidité de ce résultat, j'ai enregistré l'activité spontanée pendant 2 minutes sans aucun stimulus sonore. La moyenne de l'ensemble des neurones n'était pas différente entre les deux groupes ($p=0,67$; **Figure 47**). En regardant les données pour chaque animal, ces neurones hyperactifs sont en fait retrouvés chez deux animaux (**Figure 47B**, flèches rouges) uniquement. Le reste des souris *Pcdh15* cKO est similaire aux souris CTRL.

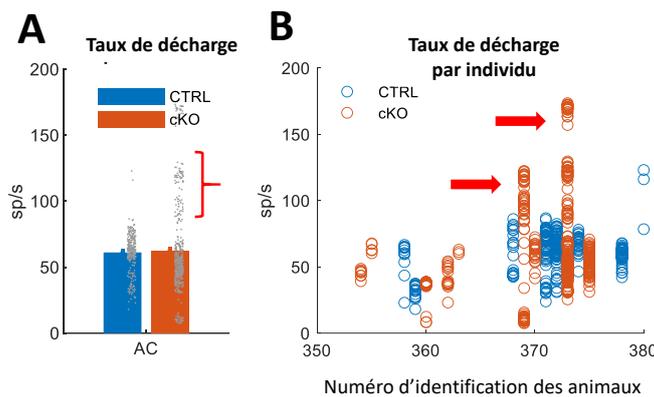


Figure 47 : L'activité spontanée sans stimulation auditive

(A) Taux de décharge spontané moyen pendant un enregistrement de l'activité neuronale pendant 2 minutes sans stimulation auditive. (B) Taux de décharge par individu. Chaque point représente un enregistrement. Les flèches rouges soulignent les deux souris *Pcdh15* cKO qui présentent certains neurones hyperactifs. Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

Pour augmenter l'excitation globale des voies auditives (voir Résultats **II**A.3), j'ai ajouté un bruit blanc constant à 60 dB SPL lors de la stimulation des souris avec des sons purs pour comparer les réponses avec et sans bruit de fond. Chez les souris *Pcdh15* cKO, le taux de décharge est peu modifié (légèrement augmenté), alors qu'il est diminué chez les souris CTRL (Figure 48 $p=2.10^{-4}$). La durée de décharge est aussi peu modifiée alors qu'elle diminue fortement chez les souris CTRL à l'ajout d'un bruit (**Figure 48D**, $p=1.10^{-4}$). Les latences sont augmentées dans les deux groupes, mais cette augmentation est plus forte chez les souris CTRL (**Figure 48F**, $p=1.10^{-4}$). Enfin, si dans les deux groupes le volume du pic d'activité significatif (**Figure 48G**) et l'aire du STRF (**Figure 48H**) sont diminués par l'ajout de bruit chez tous les animaux, cette diminution est nettement plus forte chez les souris *Pcdh15* cKO par rapport aux souris CTRL ($p=1,5.10^{-4}$ et $p=4.10^{-4}$, respectivement).

Ainsi, l'activité des neurones des souris *Pcdh15* cKO est moins modifiée par la présence de bruit que chez les souris CTRL.

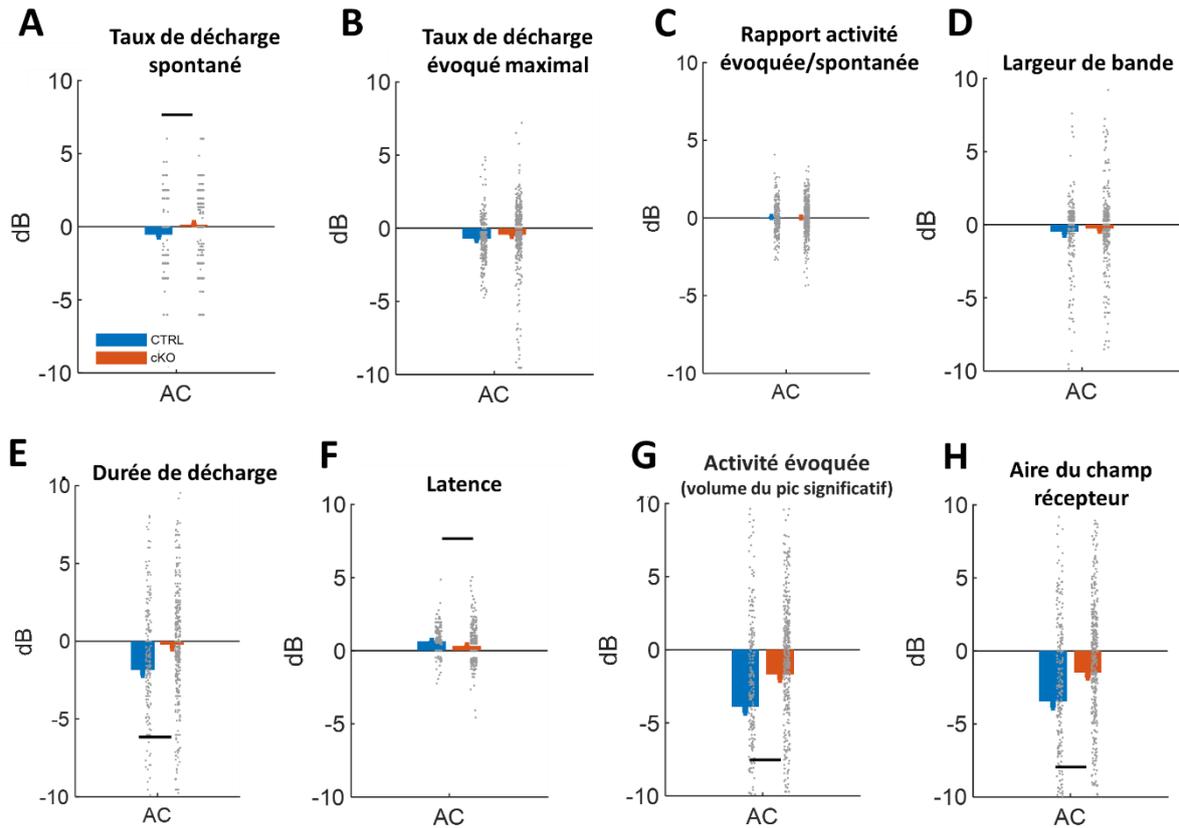


Figure 48 : Modifications des paramètres des champs récepteurs lors de l'ajout d'un bruit de fond.

(A-F) Rapport entre la moyenne avec bruit et la moyenne sans bruit pour (A) le taux de décharge spontanée, (B) le taux de décharge maximal en réponse aux sons, (C) le rapport activité évoquée/spontanée, (D) la largeur de bande, (E) la durée de décharge, (F) la latence (G) l'activité évoquée représentée par le volume du pic significatif, (H) l'aire des champs récepteurs. Une valeur négative indique une réduction de la valeur du paramètre lors de l'ajout du bruit, une valeur positive une augmentation. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes.

Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

2. Diminution de l'adaptation et allongement des réponses à des clicks.

Comme pour les souris *Cdhr23* cKO (voir Partie II)A.4), j'ai présenté aux souris des successions de clicks à différentes cadences (2/s, 4/s, 8/s et jusqu'à 64/s) notamment pour tester le verrouillage de phase (la synchronisation de la décharge neuronale avec un stimulus sonore). De plus, les clicks sont des sons à large bande fréquentielle (contenant toutes les fréquences comprises dans un intervalle donné) et qui entraînent une plus forte excitation des circuits auditifs, par opposition aux sons purs, qui sont des sons mono-fréquentiels.

Pour un train de 4 clicks par seconde, les neurones corticaux des souris *Pcdh15* cKO sont tout à fait capables de répondre à chaque click de la même façon que ceux des souris CTRL. Cependant, les réponses neuronales à chaque click sont plus fortes par rapport aux souris CTRL (**Figure 49A-B**, $p=6.10^{-4}$). De plus, la proportion de neurones répondant à chaque click est plus grande (**Figure 49C**) et la durée de réponse au 1^{er} click est allongée (**Figure 49D**, $p=1.10^{-4}$). Cette augmentation de la force de la réponse aux clicks est aussi retrouvée dans le signal LFP (**Figure 49F**, $p=5.10^{-3}$). L'adaptation neuronale est bien présente : la diminution de la réponse neuronale à une succession de clicks est bien visible pour la cadence 4 clicks par seconde. En particulier, la proportion de neurones répondant au 4^{ème} click est réduite d'un tiers par rapport au 1^{er} click (de 60 % à 40% environ, **Figure 49B**) et l'amplitude réduite de moitié (**Figure 49A**).

Qu'en est-il des autres cadences ? La **Figure 50** montre au travers d'un exemple individuel que la capacité des neurones corticaux à suivre des cadences de clicks s'atténue à mesure que la cadence augmente : cette perte de synchronisation est visible dès 16 clicks par seconde à la fois dans la réponse d'un neurone ainsi que dans le signal LFP de ce même neurone. Dans cet exemple, l'adaptation neuronale est particulièrement bien visible pour une cadence de 8 clicks par seconde. De plus, l'adaptation neuronale des neurones *Pcdh15* cKO est moins forte par rapport aux souris CTRL pour la cadence 2 clicks par seconde (**Figure 50B**, test post-hoc $p=2.10^{-3}$). Enfin, l'augmentation de la force de la réponse à chaque click chez les souris *Pcdh15* cKO vue à la cadence de 4 clicks par seconde est retrouvée à presque toutes les cadences à la fois dans les potentiels d'action extracellulaires mais surtout dans le signal LFP (**Figure 50C**). Les neurones des souris *Pcdh15* cKO répondraient donc plus fortement à des sons à large bande qu'à des sons purs (voir Résultats II)B.1 et **Figure 46**) tout en présentant une moindre adaptation à des sons répétés.

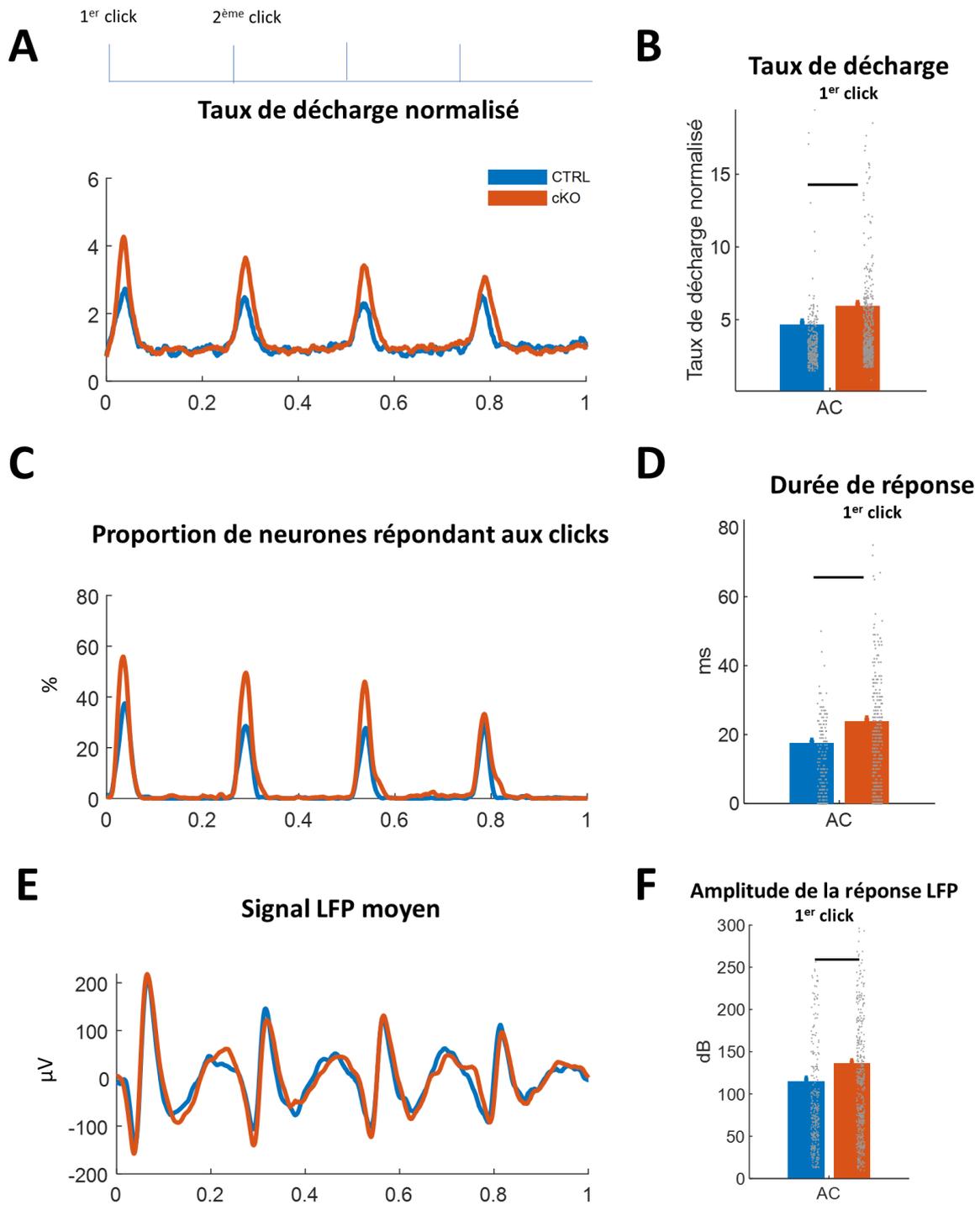


Figure 49 : Caractéristiques des réponses neuronales à une succession de clicks

Exemple pour une cadence de 4 clicks par seconde. **(A)** Taux de décharge moyen en réponse à des clicks rapporté aux taux de décharge spontané. **(B)** Taux de décharge au 1^{er} click. **(C)** Proportion de neurones enregistrés répondant à chaque click. **(D)** Durée de réponse au 1^{er} click. **(E-F)** Caractéristiques du signal LFP, avec la réponse LFP moyen à chaque click **(E)** et l'amplitude de la réponse au 1^{er} click **(F)**. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes.

Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

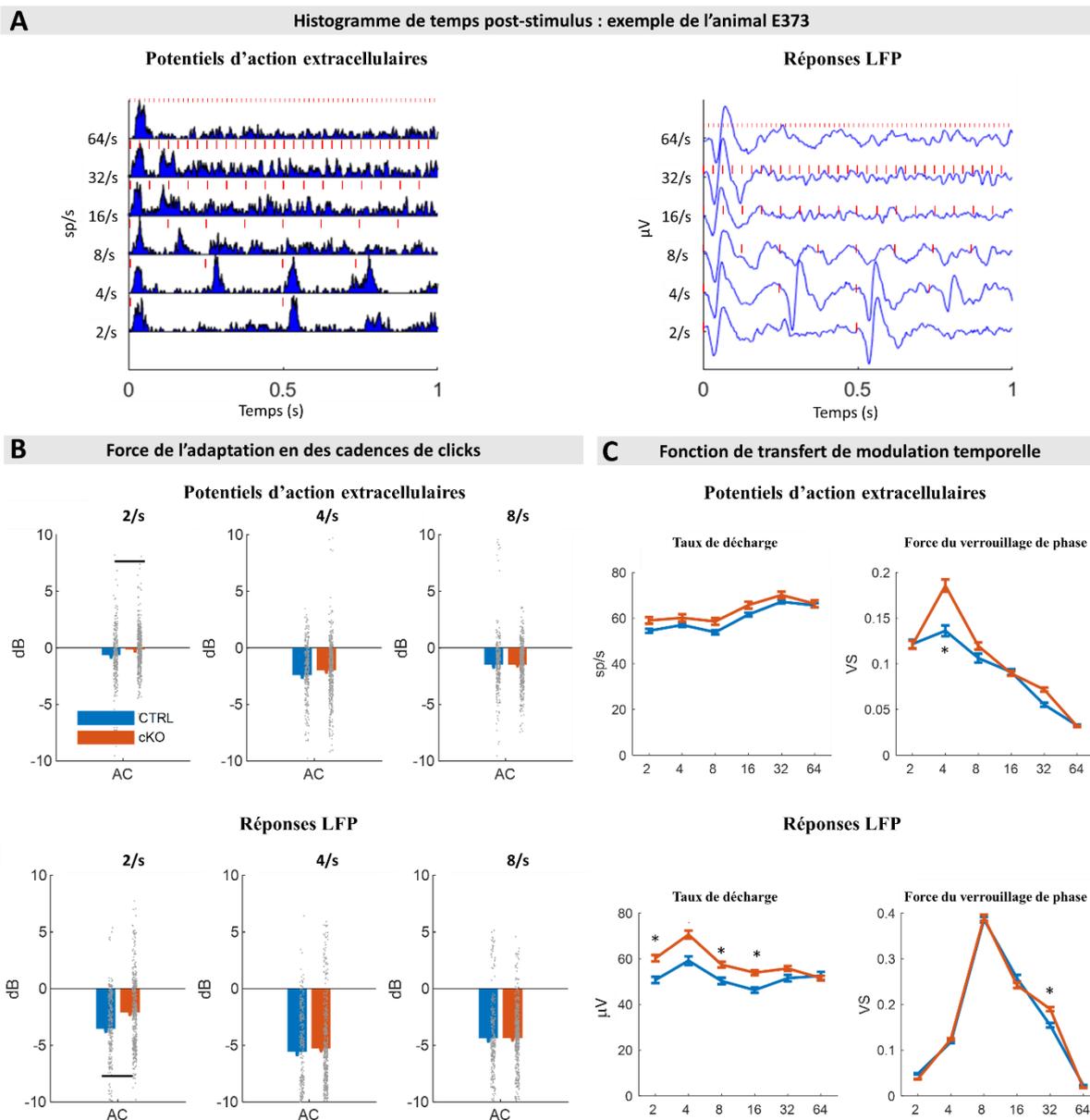


Figure 50 : Adaptation et verrouillage de phase en réponse à des trains de clicks

(A) Exemple d'histogramme de temps post-stimulus issu d'un des 32 canaux de l'électrode utilisée pour enregistrer l'activité des neurones. A droite, la moyenne des potentiels d'action extracellulaires à chaque cadence de clicks présentées. A gauche, le signal LFP correspondant. (B) Ratio (en dB) de la réponse maximale au 2^{ème} click par rapport à celle au 1^{er} click selon 3 cadences différentes (2, 4 et 8/s) pour les potentiels d'action extracellulaires (haut) et le signal LFP (bas). L'intervalle entre ces deux clicks est de 500 ms, 250 ms et 125 ms respectivement. (C) Fonction de transfert de modulation temporelle pour les potentiels d'action extracellulaires (haut) et le signal LFP (bas). A gauche, le taux de décharge maximale en fonction de la cadence des trains de clicks. A droite, quantification de la force du verrouillage de phase par le calcul du *vector strength* en fonction de la cadence des trains de clicks. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes ou une étoile au-dessus de courbes.

Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

3. Les souris *Pcdh15* cKO détectent aussi bien les *gaps* que les souris CTRL, mais avec un allongement de leur durée de réponse.

La détection de courts intervalles de silence (appelé *gaps*) dans un son continu permet d'évaluer les capacités de résolution temporelle d'un circuit auditif (à l'échelle cellulaire) ou d'un animal (à l'échelle comportementale). L'AC, et en particulier les interneurons inhibiteurs, sont essentiels à leur détection (Weible et al. 2014b). Si un *gap* est détecté par un neurone donné, celui-ci va répondre à la reprise du son après ce bref silence.

J'ai donc présenté lors des enregistrements aux souris un bruit blanc interrompu par un bref silence dont la durée variait de 1 milliseconde à 64 millisecondes, afin d'évaluer si l'absence d'une partie des interneurons à PV chez les souris *Pcdh15* cKO modifiait la capacité de l'AC à répondre à un *gap*. Je n'ai pas identifié de différence de résolution temporelle entre les souris *Pcdh15* cKO et les souris CTRL : dans les deux groupes, des neurones sont capables de répondre à des *gaps* aussi courts que 2 millisecondes (**Figure 51A**). En revanche, la force de la réponse est accrue chez les souris *Pcdh15* cKO pour tous les intervalles de *gap* (**Figure 51**) à la fois au niveau des potentiels d'action extracellulaire (2/s $p=0,03$, 8/s $p=7.10^{-7}$, 32/s $p=6.10^{-4}$) comme au niveau du signal LFP (2/s $p=0,03$, 8/s $p=7.10^{-5}$, 32/s $p=7.10^{-6}$), tandis que l'augmentation de la durée de réponse est significative pour un *gap* de 8 ms (**Figure 51B**, $p=8.10^{-4}$).

Ainsi, si l'absence d'une partie des interneurons à PV chez les souris *Pcdh15* cKO n'altère pas la capacité des neurones de l'AC à détecter un *gap*, elle entraîne une augmentation de la durée de réponse au bruit après le *gap*. Cet allongement a aussi été observé pour des clicks, qui sont, comme le bruit blanc utilisé pour tester la détection des *gaps*, des sons à large bande fréquentielle.

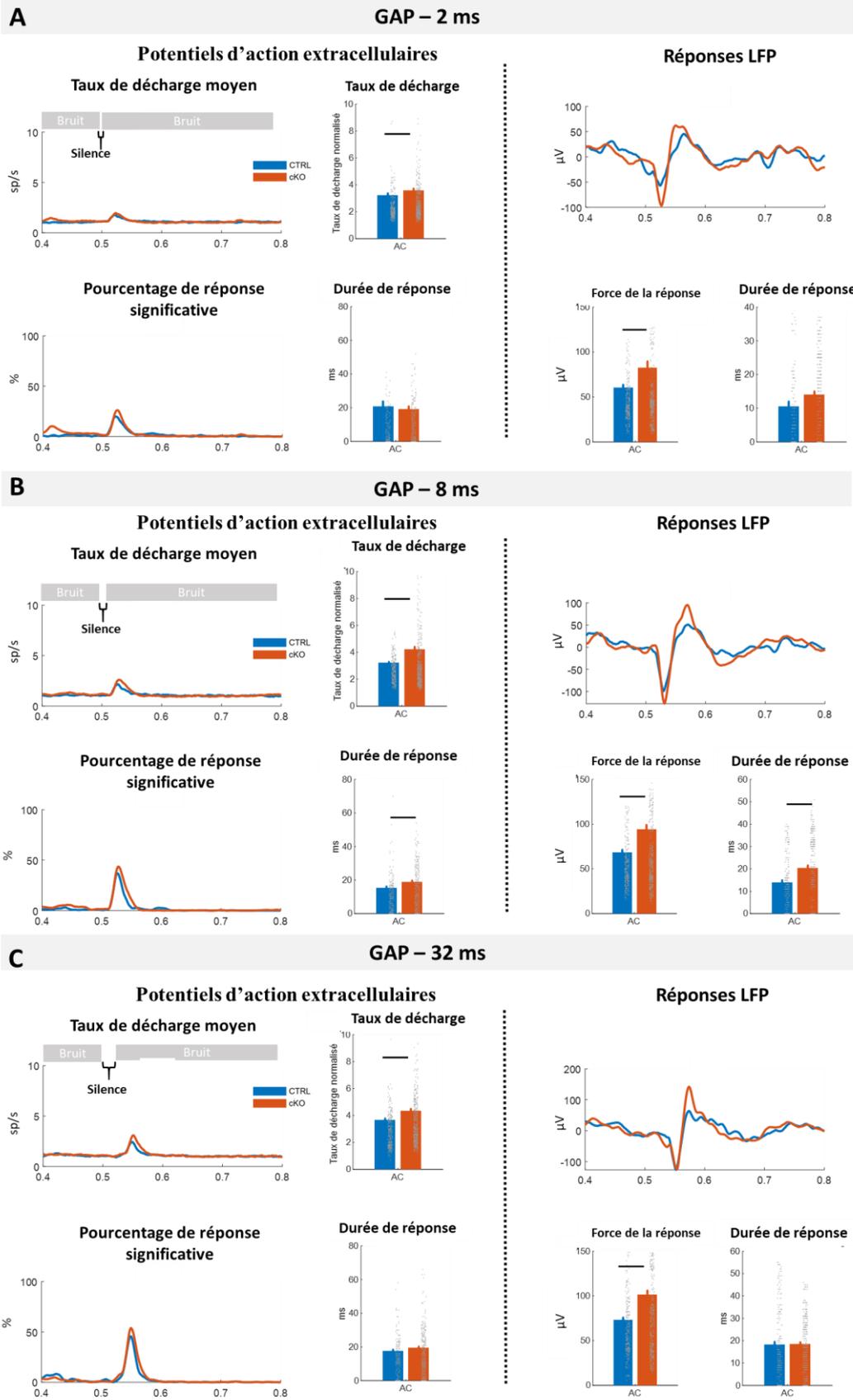


Figure 51 : Réponse à un gap dans un bruit blanc continu

Réponses des neurones du cortex auditif à un *gap* de 2 ms (A), 8 ms (B) et 32 ms (C). Pour chaque *gap*, les caractéristiques de potentiels d'action sont à gauche, avec, suivant le sens horaire, le taux de décharge moyen en fonction du temps, le taux de décharge en réponse au *gap* normalisé sur le taux de décharge dans le bruit, la durée de décharge en réponse au *gap* et la proportion réponse significative au *gap*. A droite sont présentées les caractéristiques du *local field potentiel* (LFP), avec la moyenne des potentiels d'action extracellulaires en fonction du temps, la durée de la réponse et l'écart du type du signal moyen 500-700ms.

Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

4. La durée de réponse est allongée en réponse à certains sons complexes chez les souris *Pcdh15* cKO

Lors des enregistrements sur souris éveillées, j'ai testé si la réponse des neurones à certaines vocalisations étaient modifiés chez les souris *Pcdh15* cKO. L'absence d'une partie des interneurones à PV aurait pu modifier certaines caractéristiques temporelles des réponses à des sons complexes, mais l'analyse de la corrélation des potentiels d'action entre les différents envois des stimuli, qui mesure la précision temporelle du neurone à chaque réponse, n'a montré strictement aucune différence entre les deux groupes (**Figure 52**). Certaines vocalisations présentées ont entraîné une augmentation de la force et de la durée de la réponse des neurones au niveau des potentiels d'action extracellulaire (**Figure 53** gauche). Cette augmentation de la force des réponses est retrouvée au niveau du signal LFP (**Figure 53** droite). En revanche, d'autres entraînent peu de différence entre les deux groupes (**Figure 53**). Je n'ai pas mis en évidence d'autres différences majeures par rapport au groupe CTRL.

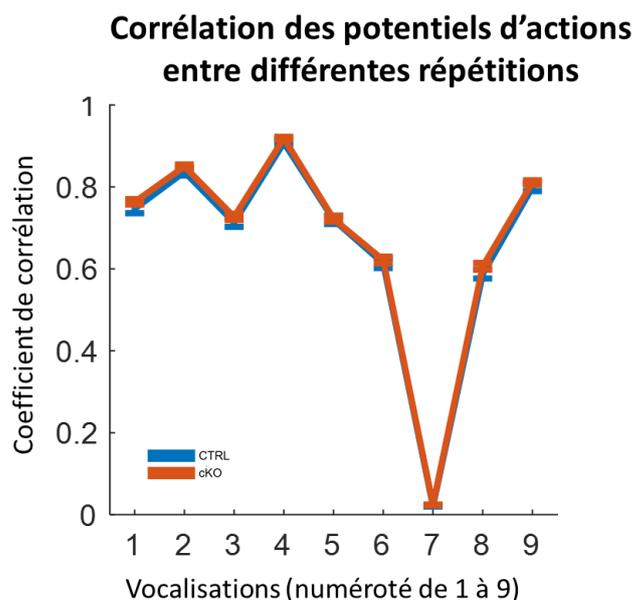


Figure 52 : Corrélation de la synchronisation temporelles des potentiels d'actions entre les différentes répétitions de chaque vocalisation.
Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

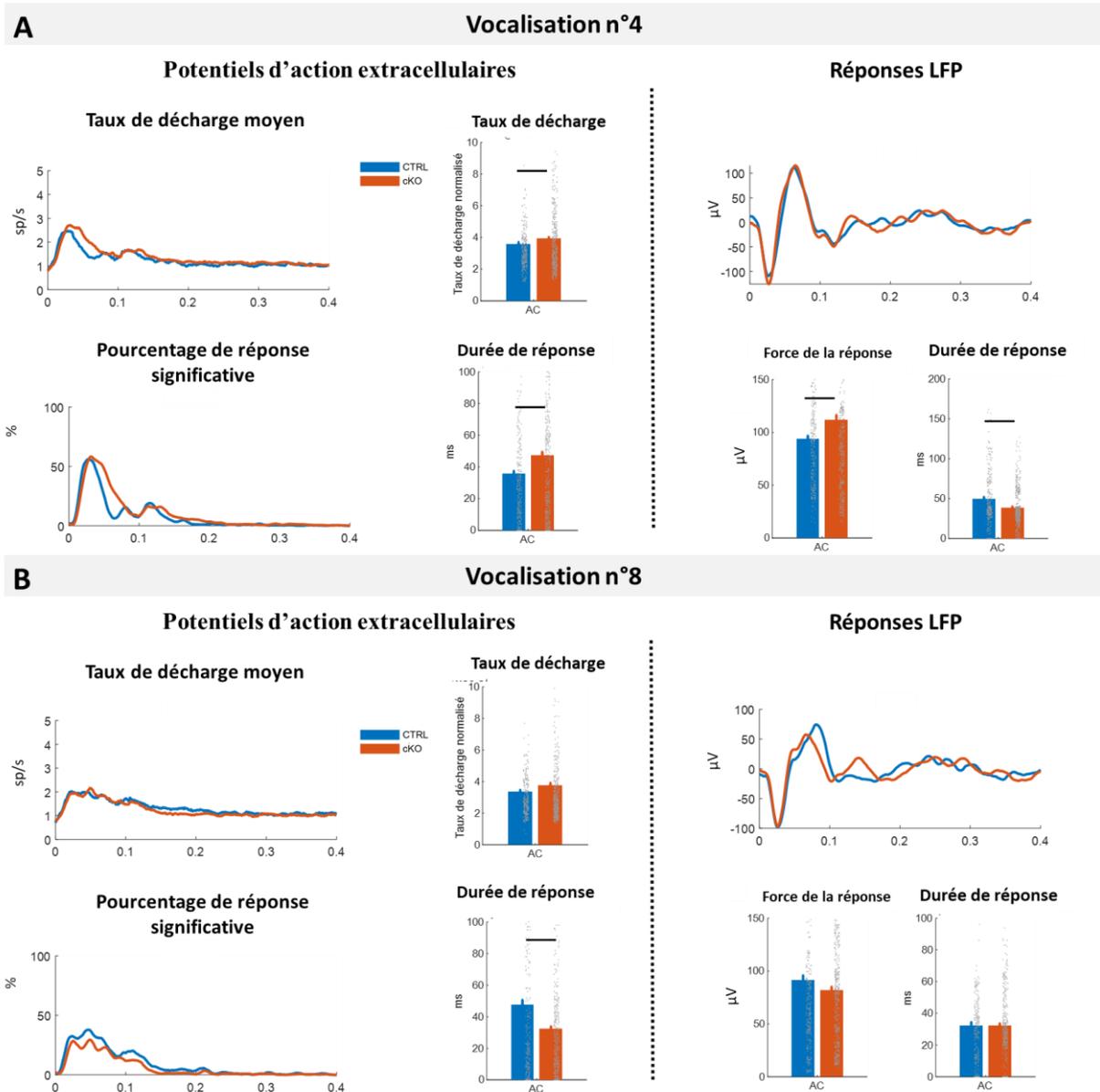


Figure 53 : Exemple de réponses à deux vocalisations

Réponses des neurones du cortex auditif aux vocalisations n°4 (A) et n°8 (B) parmi les 9 vocalisations présentées aux souris. Pour chaque vocalisation, les caractéristiques de potentiels d'action sont à gauche, avec, suivant le sens horaire, le taux de décharge moyen en fonction du temps, le taux de décharge en réponse à la vocalisation normalisé sur le taux de décharge dans le bruit, la durée de décharge en réponse et la proportion réponse significative à la vocalisation. A droite sont présentées les caractéristiques du *local field potentiel* (LFP), avec la moyenne des potentiels d'action extracellulaires en fonction du temps, la durée de la réponse et l'écart-type du signal moyen entre 500 et 700 ms. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes. Vocalisation n°4 : taux de décharge $p = 0,023$, durée de réponse extracellulaire $p = 2,5 \cdot 10^{-5}$, force de la réponse LFP $p = 2,6 \cdot 10^{-3}$, durée de la réponse LFP $p = 2 \cdot 10^{-6}$; Vocalisation n°8 : durée de réponse extracellulaire $p = 2,5 \cdot 10^{-7}$. Ces données sont issues de souris vigiles entre P60 à P90.

5. Potentiels évoqués corticaux pendant la période critique chez les souris *Pcdh15* cKO

Je n'ai pas enregistré l'activité neuronale chez de jeunes animaux *Pcdh15* cKO comme pour le modèle *Cdhr23* cKO car la mise au point des enregistrements vigiles nécessitait un temps de chirurgie préalable et un temps d'habituation pour l'animal. Néanmoins, j'ai effectué des mesures des CAEPs (voir **Publication n°1**) dans l'AC de 9 souris CTRL et 10 souris *Pcdh15* cKO à P20 et P21, pendant la période critique de son développement et de la susceptibilité aux crises audiogènes, afin d'explorer si un défaut cortical pouvait être mis en évidence chez ce modèle. Cela m'a permis aussi de vérifier que les seuils auditifs des souris *Pcdh15* cKO étaient équivalents à ceux des souris CTRL ($p=0,94$) et de m'assurer que la construction génétique des souris visant à inactiver de manière conditionnelle *Pcdh15* uniquement dans les neurones inhibiteurs n'entraînait pas de perte auditive périphérique (**Figure 54**).

En comparaison avec nos données obtenues sur des souris C57Bl/6J (voir **Publication n°1**), les pics des différentes ondes du CAEP des souris CTRL et *Pcdh15* cKO sont légèrement décalés dans le temps (**Figure 54B-C**) : les repères P14 et N23 sont plus précoces (10 ms et 20 ms contre de 14 ms et 23 ms respectivement) et les repères P35 et N61 plus tardifs (42 ms et 70 ms contre 35 ms et 61 ms). Ces variations par rapport au modèle C57Bl/6J sont retrouvées dans les deux groupes de manière similaires et semblent donc des variations spécifiques à la lignée utilisée pour obtenir nos souris CTRL et *Pcdh15* cKO. Cependant, si aucune différence temporelle n'est visible entre les souris CTRL et les souris *Pcdh15* cKO, l'amplitude P35-N23 est plus faible chez les souris *Pcdh15* cKO (**Figure 54D**). De même, l'amplitude N61-P35 est diminuée, mais pas de manière significative. Ce dernier résultat est probablement dû à une plus grande variabilité interindividuelle chez les souris CTRL.

Ces résultats diffèrent des précédents qui montraient une augmentation de la force et de la durée de réponse pour des sons à large bande fréquentiel (click, bruit blanc). Or ici, l'amplitude entre les pics P35 et N23, générée par l'AC (voir **Publication n°1**) est réduite. Cela suggère que l'absence d'une partie des interneurons à PV n'a pas les mêmes conséquences en fonction de l'âge des animaux, ce qui était déjà le cas chez les souris *Cdhr23* cKO.

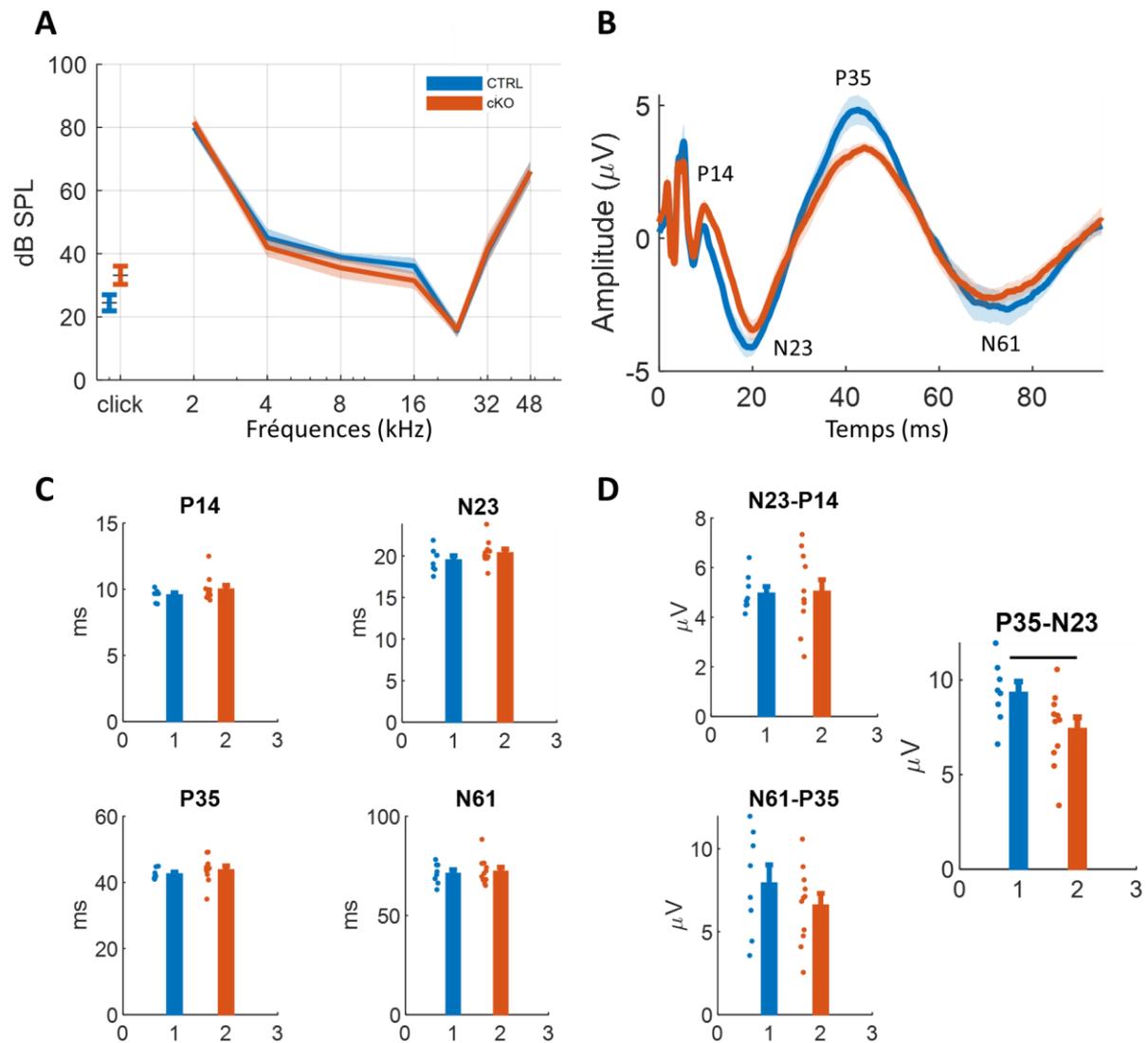


Figure 54 : Potentiels évoqués auditifs chez le modèle *Pcdh15* cKO

(A) Moyennes des ABRs en réponse à un clicks et à des sons purs. (B) Moyennes des CAEPs. (C) Latences des pics positifs et négatifs des CAEPs identifiés en B. (D) Amplitudes des CAEPs entre chaque pic. Les différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par une barre horizontale au-dessus des histogrammes.

Ces données sont issues de souris anesthésiées à P20-P21.

Conclusion partielle : l'absence d'une partie des interneurons à PV n'entraîne pas de modification majeure de la réponse neuronale à des sons purs chez la souris adulte *Pcdh15* cKO. En revanche, la perte de ces interneurons provoque une résistance des réponses neuronales à l'ajout d'un bruit de fond, ainsi qu'une diminution de l'adaptation neuronale pour de longs intervalles interstimuli ainsi qu'une augmentation de la force et la durée des réponses à des sons à large bande fréquentielle. Enfin, la mesure des CAEPs chez des souris pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes montre une diminution de l'intensité de la réponse à ces mêmes sons, suggérant des différences de traitement des sons liées à l'âge.

C. Perception des sons chez les souris *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO

Un aspect important d'une meilleure compréhension du rôle des interneurons à PV nécessitant *cdhr23* et *pcdh15* au cours du développement consiste à évaluer leur contribution à la perception des sons par l'animal. J'ai utilisé un système automatique d'étude comportementale, les Audiobox (TSE, Intellicage), pour étudier le comportement spontané des souris *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO (et des souris CTRL propres à chaque lignée) en réponse à des sons ainsi que leur capacité à différencier des stimuli sonores plus ou moins proches.

1. Conséquence de l'absence d'une partie des interneurons à parvalbumine sur la perception des sons par les souris *Cdhr23* cKO

Les résultats d'électrophysiologie ont mis en évidence que les souris *Cdhr23* cKO présentent des défauts temporels dans le traitement des sons et une modification de l'adaptation neuronale. J'ai donc utilisé des paradigmes expérimentaux testant la capacité des souris à discriminer des sons selon leurs caractéristiques temporelles avec des bruits modulés en amplitude ou interrompus par des *gaps*. En raison de l'habituation des animaux au système d'étude, il ne m'a pas été possible de tester les souris pendant la période critique du développement comme j'ai pu le faire pour les enregistrements électrophysiologiques (P20-P35). Les souris ont donc été étudiées à l'âge adulte, à partir de 8 semaines.

a. Les souris *Cdhr23* cKO sont capables de différencier des bruits aux modulations d'amplitude proches

Mes enregistrements de l'activité des neurones corticaux des souris *Cdhr23* cKO montraient une réduction de l'adaptation neuronale et un allongement de la durée de réponse à une succession de clicks, c'est-à-dire une altération du traitement temporel auditif par les neurones de l'AC. J'ai donc cherché à comprendre si ces modifications de l'activité neuronale altéraient la capacité des souris à différencier deux bruits modulés en amplitude à une cadence de modulation de plus en plus proche grâce à un protocole de discrimination temporelle adapté de Zhou et Merzenich (2012) de type « *Go/No-Go* » (voir Méthodes **IV**)**B**). Une première cohorte de 15 souris (8 souris CTRL, 7 souris *Cdhr23* cKO) âgées de trois mois a été placée dans le système d'études comportementales Audiobox (voir Méthodes **IV**)**A**), après en avoir mesuré les ABRs pour s'assurer de l'absence de perte auditive (données non présentées ici). Dans le système Audiobox, la récompense associée à une réponse correcte est l'accès à l'eau. A chaque visite dans le système, un son est présenté aux souris qui peuvent, en fonction du son, accéder ou non à l'eau. Celles-ci devaient différencier un bruit avec 20 modulations d'amplitude (AM, *amplitude modulation*) par seconde (le son *safe*, invariable), pendant lequel elles peuvent aller

boire (GO), d'un bruit dont la modulation, d'abord fixée à 6 AM par seconde, était progressivement augmenté (deux par deux jusqu'à 14 AM par seconde ; c'est le son *target*). Lorsqu'une souris tente d'accéder à l'eau (défini par le terme *nosepoke*) pendant qu'est joué le son *target*, elle reçoit un puff d'air aversif en guise de 'punition' (NO-GO).

Toutes les souris CTRL et *Cdhr23* cKO ont été capables de différencier les bruits modulés en amplitude lorsque la différence est la plus grande (20 vs 6 AM par seconde) : le pourcentage de visites avec un *nosepoke* est plus important lorsque le son *safe* est présent (**Figure 55A-B**, courbe orange) que lorsque le son *target* l'est (**Figure 55A-B**, courbe jaune). A mesure que le son *target* devient de plus en plus proche du son *safe*, les deux courbes se rapprochent, soulignant la plus grande difficulté des souris à faire la différence entre les deux sons, comme l'illustre l'exemple individuel en **Figure 55B**. Cependant, le niveau de performance des souris est identique entre les deux groupes : la même proportion de souris est capable de discriminer un bruit avec 20 AM par seconde d'un bruit avec 14 AM par seconde (test de Mann_Whitney $p=0,58$; **Figure 55C**).

Ce paradigme expérimental, qui demande à l'animal de choisir une action à effectuer en fonction de la perception qu'il a eu d'un stimulus auditif, repose sur la théorie de la détection du signal. A chaque visite, quatre choix sont possibles pour les souris : 1) faire un *nosepoke* lorsque le son *safe* est présent (détection correcte) ; 2) ne rien faire lorsque le son *safe* est présent (*false alarm*, fausse alarme en français) ; 3) faire un *nosepoke* lorsque le son *target* est présent (erreur) ; 4) ne rien faire lorsque le son *target* est présent (*hit rate*, rejet correct en français). La manière dont les souris choisissent d'agir à chaque visite peut entraîner un biais dans l'analyse des performances. Une souris qui fait un *nosepoke* fréquemment aura un taux de détection correcte élevé, mais prend le risque de faire beaucoup d'erreurs, là où une souris qui fait peu de *nosepokes* aura un taux de détection correcte plus faible, mais aussi un taux d'erreur plus faible. La stratégie choisie est un biais dans la manière dont la souris répond aux stimuli. Ce biais, appelé biais de réponse, peut être quantifié en utilisant le taux de rejet correct et le taux de fausses alarmes qui permettent de calculer différents paramètres dans le cadre la théorie de la détection du signal dont les plus utilisés sont les critères β (ou son logarithme $\log(\beta)$), C et B'' (Stanislaw et Todorov 1999). Une valeur négative de ces variables indique que l'animal évite de faire un *nosepoke* quel que soit la condition (*safe* comme *target*) : on dit qu'il est « conservateur ». C'est le cas des souris *Cdhr23* cKO, qui ont toutes des biais de réponse négatifs (**Figure 55D**). En revanche, chez les souris CTRL, les stratégies sont plus variables, certaines souris ayant des biais de réponse positifs.

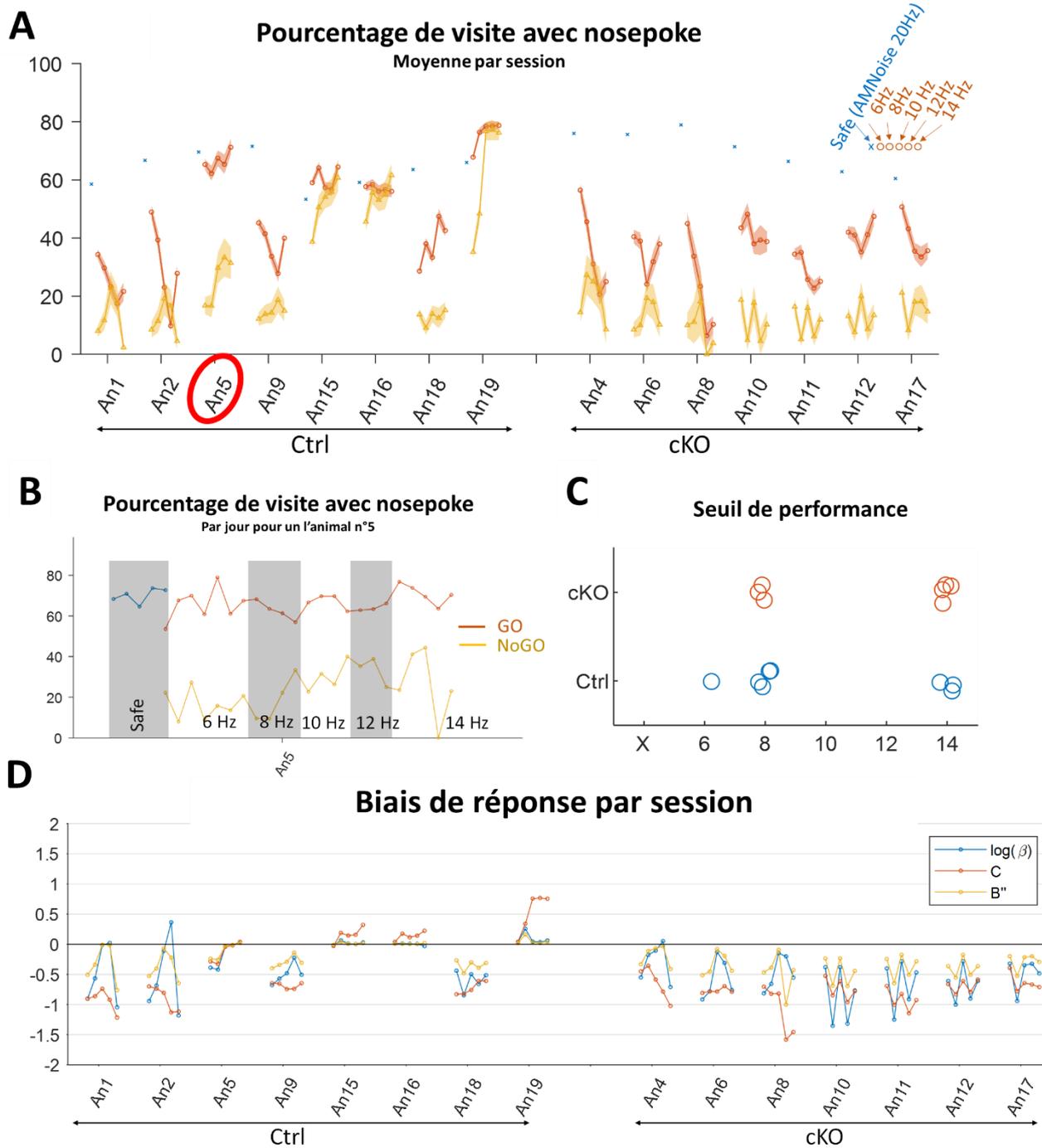


Figure 55 : Les performances lors de la discrimination des bruits modulés en amplitude ne montrent pas de différence entre les groupes *Cdhr23* cKO et CTRL

(A) Proportion de visites avec *nosepoke*. Le pourcentage de *nosepokes* à chaque visite est représenté en orange pour le son *safe* et en jaune pour le son *target*. Chaque point correspond à la moyenne d'une session (le point bleu correspond à la session d'habituation). Le cercle rouge indique l'animal pris comme exemple dans B. (B) Proportion de visites avec *nosepoke* : exemple de l'animal n°5. Chaque point correspond à cette proportion aux cours de 24 heures d'expérimentation. La courbe bleue correspond à la période d'habituation au son *safe*. Cet animal réussit à discriminer les deux sons à chaque étape. (C) Le seuil de performance de chaque souris *Cdhr23* cKO (cercles rouges), et de chaque souris CTRL (cercles bleus). En abscisse est présentée la cadence du son *target* la plus grande que chaque souris est capable de différencier du son *safe* (fixée à 20 AM par seconde). (D) Biais de réponse indiquant la stratégie adoptée par les souris. Une valeur positive indique que la souris choisie de faire un « *nosepoke* » plus souvent au risque de faire une erreur, tandis qu'une valeur négative indique que la souris a plutôt tendance à éviter de faire un « *nosepoke* » à chaque visite.

b. La perception des *gaps* n'est pas modifiée chez les souris *Cdhr23* cKO

Le deuxième protocole appliqué est un protocole testant la capacité des souris à détecter une brève période de silence de quelques millisecondes dans un bruit, appelé *gap*. Ici le son *safe* est un bruit blanc continu présent pendant 1 seconde, tandis que le son *target* est un bruit blanc brièvement interrompu par un *gap* dont la durée est d'abord fixée à 32 ms, puis diminue progressivement (16, 8 puis 4 millisecondes). J'ai pu utiliser une cohorte de souris comprenant des souris CTRL, des souris CTRLcre et des souris cKO, âgées de 4 mois, après en avoir mesuré les ABRs pour s'assurer de l'absence de perte auditive (données non présentées ici). Cependant, les souris CTRLcre ont arrêté de visiter le système comportemental, et donc de boire, après l'introduction du son *target*. Elles ont donc été retirées du système sans avoir pu déterminer leur capacité de perception des *gaps*.

Ensuite, si une souris CTRL et une souris *Cdhr23* cKO n'ont pas été capables de percevoir le *gap* le plus long (32 ms, souris An12 et An10 respectivement, **Figure 56A**), il n'y a pas eu de différence de performance entre les deux groupes (Test de Mann-Whitney, $p=1$; **Figure 56C**) : l'absence d'une partie des interneurones à PV chez les souris *Cdhr23* cKO n'a pas de conséquence sur la capacité à détecter un *gap* chez les souris de 4 mois.

En revanche, la différence de stratégie déjà mise en évidence lors du test de discrimination des bruits modulés en amplitude, est ici encore plus évidente : par rapport aux souris CTRL, dont la valeur des biais de réponse sont regroupés autour de 0, les souris *Cdhr23* cKO ont toutes des biais de réponse négatifs (**Figure 56D**).

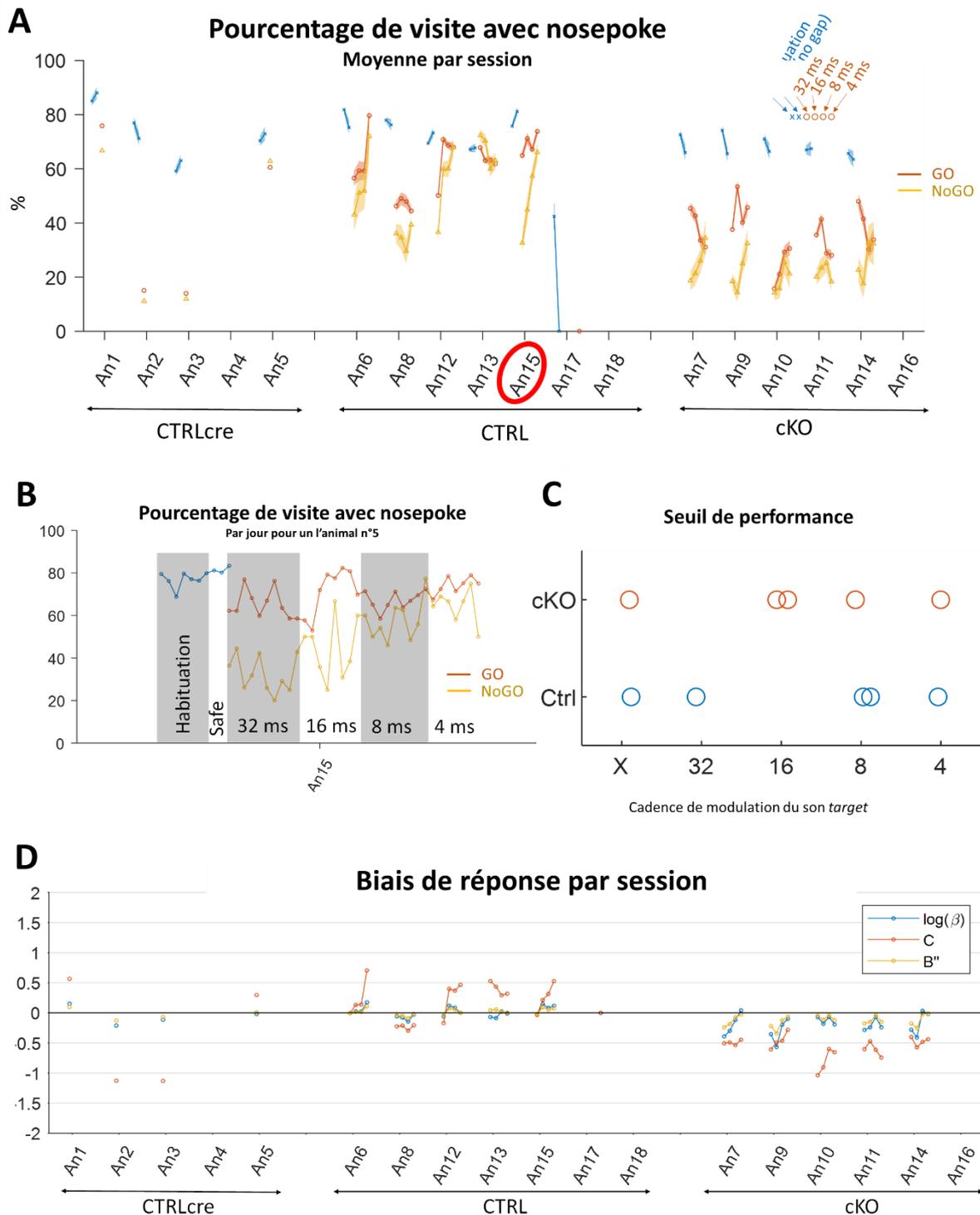


Figure 56 : La perception des gaps n'est pas modifiée chez les souris *Cdhr23* cKO

(A) Proportion de visites avec *nosepoke*. Le pourcentage de *nosepokes* à chaque visite est représenté en orange pour le son *safe* et en jaune pour le son *target*. Chaque point correspond à la moyenne d'une session (le point bleu correspond à la session d'habituation). Le cercle rouge indique l'animal pris comme exemple dans B. (B) Proportion de visites avec *nosepoke* : exemple de l'animal n°15. Chaque point correspond à cette proportion aux cours de 24 heures d'expérimentation. La courbe bleue correspond à la période d'habituation au son *safe*. Cet animal ne perçoit plus les *gaps* à partir de 8 ms. (C) Le seuil de performance de chaque souris *Cdhr23* cKO (cercles rouges), et de chaque souris CTRL (cercles bleus). En abscisses la cadence du son *target* la plus grande que chaque souris est capable de différencier du son *safe* (dont la cadence est fixée à 20 AM par seconde). (D) Biais de réponse indiquant la stratégie adoptée par les souris. Une valeur positive indique que la souris choisie de faire un « *nosepoke* » plus souvent au risque de faire une erreur, tandis qu'une valeur négative indique que la souris a plutôt tendance à éviter de faire un « *nosepoke* » à chaque visite.

Conclusion partielle : Malgré la baisse du nombre d'interneurones à PV dans l'AC des souris *Cdhr23* cKO et les défauts temporels des réponses neuronales mise en évidence par électrophysiologie, leur capacité de discrimination des bruits modulés en amplitude ou de perception des *gaps* n'est pas modifiée par rapport aux souris CTRL. En revanche, les souris *Cdhr23* cKO n'ont pas la même stratégie de prise de décision que les souris CTRL : elles sont plus conservatrices. En présence d'un son, elles évitent d'aller faire un *nosepoke*, ce qui peut être interprété comme le signe d'un niveau de stress ou d'anxiété plus important.

2. Conséquence de l'absence d'une partie des interneurones à parvalbumine sur la perception des sons par les souris *Pcdh15* cKO

- a. Les souris *Pcdh15* cKO sont capables de différencier des bruits aux modulation d'amplitude proches

J'ai reproduit le test de discrimination des bruits modulés en amplitude avec une cohorte de 11 souris *Pcdh15* cKO et 9 souris CTRL, âgées de 6 à 9 semaines, en augmentant cette fois-ci la cadence du son *target* jusqu'à 18 AM par seconde. Différencier un bruit avec 20 AM par seconde d'un bruit avec 18 AM par seconde est difficile pour un expérimentateur humain, et je m'attendais à ce que ce soit également le cas pour les souris.

Pourtant, la plupart des souris CTRL et les souris *Pcdh15* cKO en ont été capables (**Figure 57**). Certaines souris n'ont pas été capables de réaliser la tâche dès l'introduction du son *target* (comme la souris CTRL An11, sortie du système car elle n'effectuait même plus la tâche, ou encore les souris *Cdhr23* cKO An10, 12 et 13). Cependant, les seuils de performance sont équivalents entre les deux groupes (test de Mann-Whitney $p=0,31$; **Figure 57C**) : l'absence d'une partie des interneurones à PV chez les souris *Pcdh15* cKO n'a apparemment pas de conséquence sur la capacité à discriminer deux modulations d'amplitude proches.

Enfin, contrairement aux souris *Cdhr23* cKO, les souris *Pcdh15* cKO ne semblent pas adopter une stratégie différente des souris CTRL : la plupart des souris testées ici ont adopté une stratégie conservatrice indépendamment de leur génotype (**Figure 57D**). Dans cette cohorte, l'introduction du son *target* après un peu plus de 5 jours d'habituation au son *safe* fait chuter le nombre de visites dans les deux groupes comme le montre la frise chronologique en **Figure 57E**). Cette baisse du nombre de visites, qui est compensée par une augmentation de la prise de boisson à chaque *nosepoke* (**Figure 57F**), suggère que l'introduction du son *target* a généré un stress aussi important chez les souris CTRL que les souris *Cdhr23* cKO.

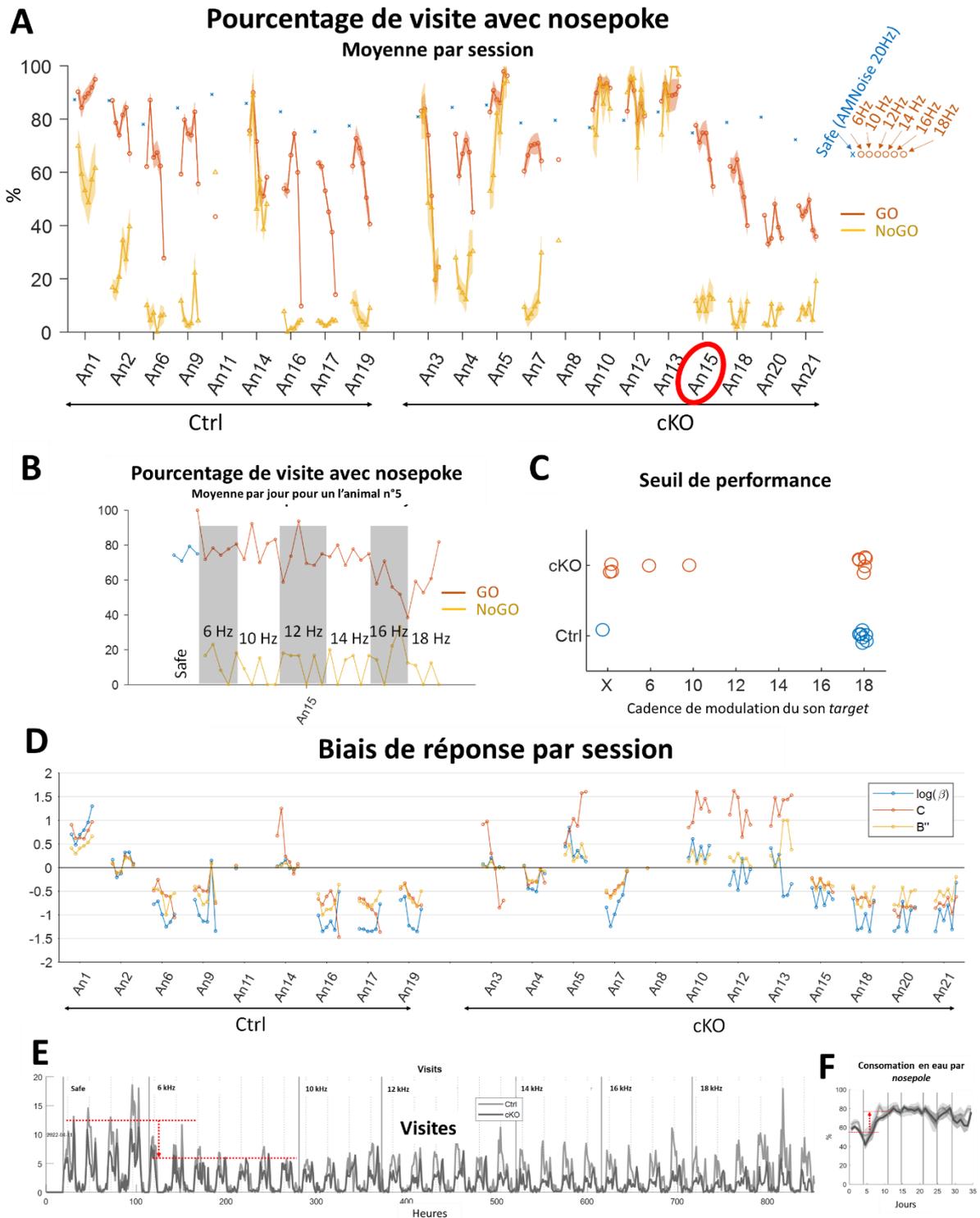


Figure 57 : Les performances lors de la discrimination des modulations d'amplitude ne montrent pas de différence entre les groupes *Pcdh15* cKO et CTRL

(A) Proportion de visites avec *nosepoke*. Le pourcentage de *nosepokes* à chaque visite est représenté en orange pour le son *safe* et en jaune pour le son *target*. Chaque point correspond à la moyenne d'une session (le point bleu correspond à la session d'habituation). Le cercle rouge indique l'animal pris comme exemple dans B. (B) Proportion de visites avec *nosepoke* : exemple de l'animal n°5. Chaque point correspond à cette proportion aux cours de 24 heures d'expérimentation. Cet animal réussit à discriminer les deux sons à chaque étape. (C) Le seuil de performance de chaque souris *Cdhr23* cKO (cercles rouges), et de chaque souris CTRL (cercles bleus). En abscisse est représentée la cadence du son *target* la plus grande que chaque souris est capable de différencier du son *safe* (fixée à 20 AM par seconde). (D) Biais de réponse indiquant la stratégie adoptée par les souris. Une valeur positive indique que la souris choisit de faire un « *nosepoke* » plus souvent au risque de faire une erreur, tandis qu'une valeur négative indique que la souris a plutôt tendance à éviter de faire un « *nosepoke* » à chaque visite.

b. La perception des sons rugueux n'est pas modifiée chez les souris *Pcdh15* cKO.

Sur la même cohorte, j'ai aussi testé si les souris *Pcdh15* cKO percevaient différemment les sons ayant des modulations d'amplitudes dans l'intervalle [30-150 Hz]. Ce type de modulations est appelé rugosité acoustique. J'ai mis en évidence que la rugosité, perçue par l'humain comme très désagréable (Arnal et al. 2019), ne semble pas l'être chez les souris (Postal et al. 2020 ; voir **Publication n°1**). C'est un protocole nécessitant une simple écoute passive des sons. Le postulat est que si les souris trouvent un son désagréable, la durée de la visite sera réduite par rapport à une situation sans son.

J'ai pu reproduire avec cette cohorte mes précédents résultats : la durée de visite des souris est fortement réduite pour des sons à faible (< 30 Hz) et à forte modulations d'amplitude (> 130 Hz), mais pour les modulations associées à la rugosité, la durée est peu diminuée par rapport au silence. Cet effet est observé aussi bien chez les souris CTRL que chez les souris *Pcdh15* cKO (**Figure 58**).

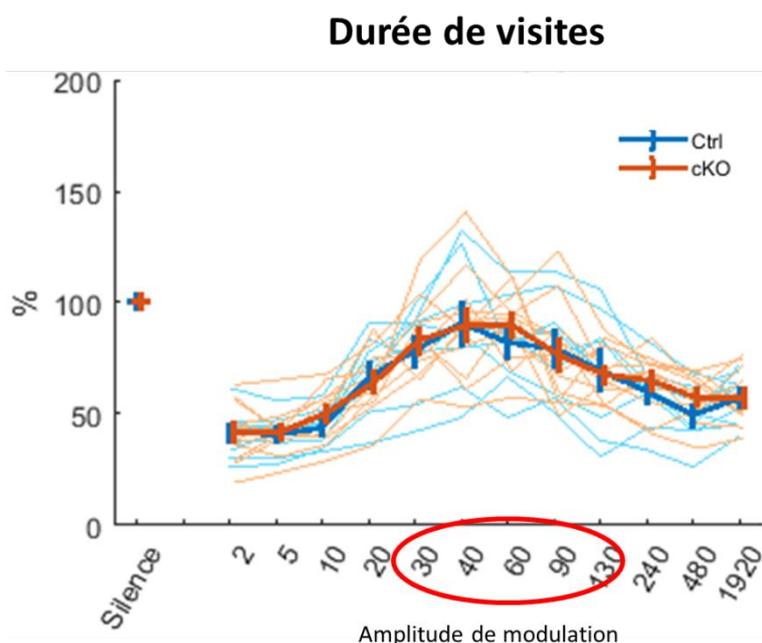


Figure 58 : Effets des sons harmoniques modulés en amplitude sur le comportement des souris *Pcdh15* cKO

Durée de visite en fonction du son modulé en amplitude présent par rapport à la durée de visite en absence de son (silence). Le cercle rouge indique les modulations associées à la rugosité acoustique.

- c. Le développement de l'inhibition du réflexe de sursaut par un *gap* est altéré chez les souris *Pcdh15* cKO.

En étudiant le phénomène d'atténuation du réflexe de sursaut par un *gap* (GPIAS, *Gap Pre-pulse Inhibition of the Acoustic Startle reflex*, voir Méthodes **IV**)C) une récente étude a montré que la perception des *gaps*, mesurée par la force d'atténuation du *startle reflex*, se développait avec l'âge (Kaylegian et al. 2019). Pour des *gaps* de faible durée (< 8ms), le réflexe de sursaut est augmenté à P25, avant de progressivement être inhibé par la présence d'un *gap* (Kaylegian et al. 2019, figure 3A). J'ai donc cherché à vérifier si le développement de l'inhibition du réflexe de sursaut est altéré chez les souris *Pcdh15* cKO dont une partie des interneurons à PV est absente. J'ai testé l'inhibition du réflexe de sursaut par un *gap* sur une même portée de 10 souris (5 *Pcdh15* cKO et 5 CTRL) de P19 jusqu'à P44, tous les deux à trois jours.

Entre P19 et P26, la présence de *gaps* de faible durée (2 à 10 ms) entraîne une augmentation de l'amplitude du sursaut chez les souris CTRL₁₅ (2 à 10 ms), tandis qu'il ne l'est pas chez les souris *Pcdh15* cKO (**Figure 59A**). Entre P28 et P44, l'atténuation du réflexe de sursaut s'est développée chez les souris CTRL₁₅, mais reste faible voir absente chez les souris *Pcdh15* cKO pour les *gaps* inférieurs à 10 millisecondes (**Figure 59B**). Cette absence d'évolution dans la perception des *gaps* chez les souris *Pcdh15* cKO est encore plus visible en **Figure 59C** et **D**, qui regroupe les courbes d'atténuation par groupe et non plus par âge. Chez les souris CTRL, la courbe représentant l'atténuation du réflexe de sursaut en fonction de la durée des *gaps* entre P19 et P26 est systématiquement supérieure à celle entre P28 et P44. Pour les souris *Pcdh15* cKO en revanche, elles sont superposées pour des *gaps* de 10 millisecondes ou moins, suggérant un défaut de maturation des circuits impliqués dans l'inhibition du réflexe de sursaut.

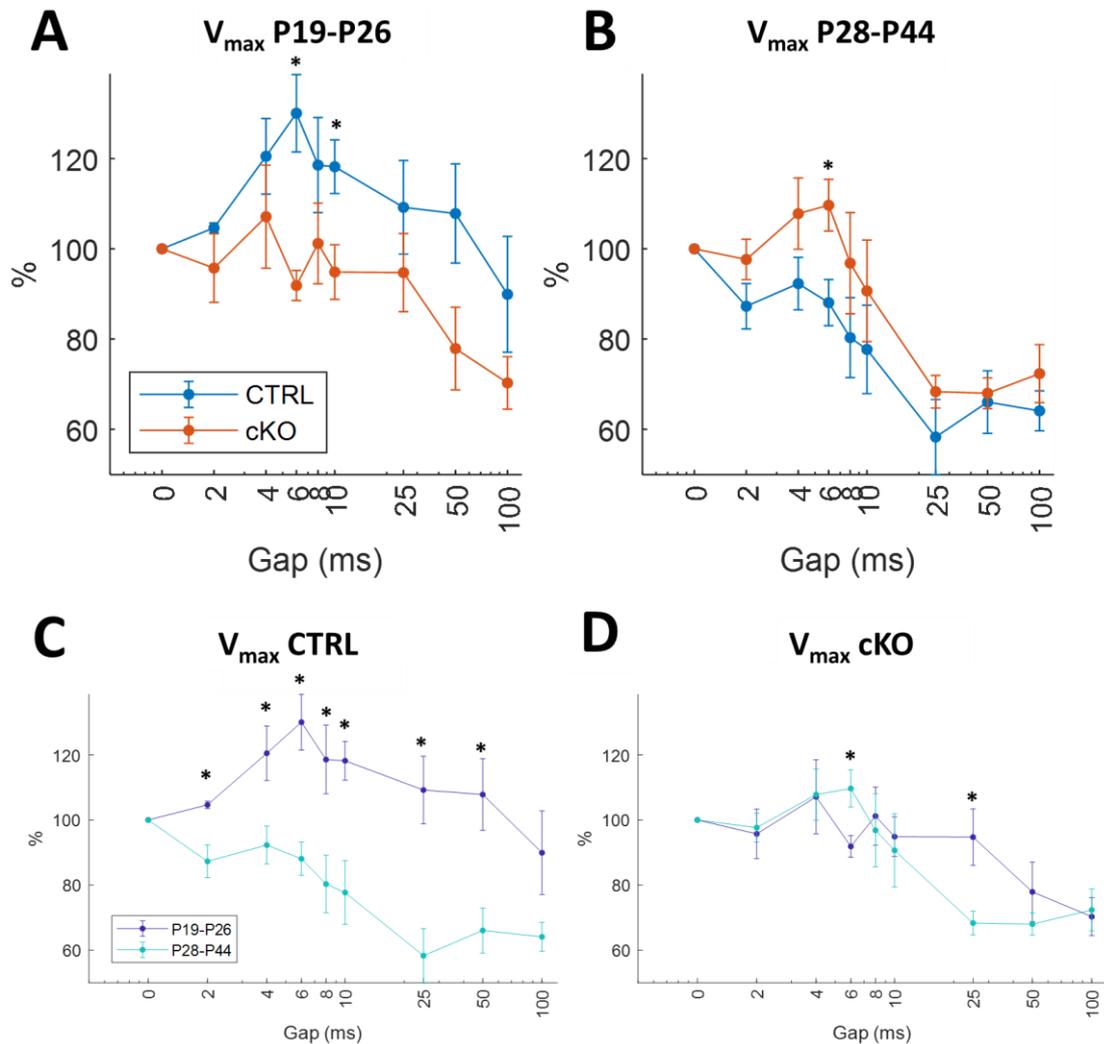


Figure 59 : L'atténuation du réflexe de sursaut en fonction de la durée du *gap*

Atténuation du réflexe de sursaut représentée en pourcentage de l'intensité du sursaut par rapport au sursaut en absence de *gap*. Une valeur inférieure à 100% indique une réduction de l'amplitude du réflexe de sursaut, une valeur supérieure à 100% une augmentation de cette amplitude. (A) Atténuation pour la période P19-P26. (B) Atténuation pour la période P28-P44. (C) Atténuation pour les souris CTRL. (D) Atténuation pour les souris *Pcdh15* cKO. Test ANOVA trois facteurs (génotype, *gap*, âge). L'étoile indique une valeur $p < 0,05$ des tests post-hoc.

Conclusion partielle : La réduction du nombre d'interneurones à PV chez les souris *Pcdh15* cKO n'a pas eu de conséquence sur les capacités de discrimination des modulations d'amplitude proches ou la perception des sons rugueux, malgré des modifications de l'activité neuronale observées pour des sons à large bande fréquentielle chez l'adulte. En revanche, la maturation du phénomène de perception des *gaps* est altérée chez les souris *Pcdh15* cKO pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes, qui correspond aussi à une période critique de développement de la perception des *gaps*.

D. *Cdhr23* et *Pcdh15* sont-ils comme attendu des marqueurs des progéniteurs d'interneurones à parvalbumine ?

Pour étudier plus précisément les rôles de cette population d'interneurones au fonctionnement de l'AC, notre équipe a développé et produit des souris *Cdhr23cre* et *Pcdh15cre* dans lesquelles la cre recombinase est exprimée sous le contrôle du promoteur des gènes *Cdhr23* et *Pcdh15* respectivement. Ces modèles murins, arrivés au cours de ma thèse, devaient servir à :

- Marquer la population d'interneurones dont le développement dépend de *Cdhr23* et *Pcdh15* à l'aide de souris exprimant des rapporteurs fluorescents (comme la lignée *Rosa-tdTomato*). Cette partie devait être effectuée sous la direction d'une post-doctorante de l'équipe, Monica Dias Morais ;
- En moduler spécifiquement l'activité à l'aide d'outils optogénétiques (technique utilisant les propriétés photosensibles de protéines bactériennes qui s'activent en réponse une stimulation lumineuse). Cette partie devait constituer un axe majeur de mon travail de thèse, et j'avais, dans l'attente de la réception de la lignée, mis en place un système d'enregistrement électrophysiologique associé à l'optogénétique sur différents modèles de souris disponibles à l'Institut Pasteur (données non présentées ici).

1. La microglie est le principal type cellulaire marqué dans le cortex des souris *Cdhr23cre*

L'étude de la lignée murine *Cdhr23^{Cre/+}* a commencé par la vérification que la cre-recombinase était bien présente dans les cellules ciliées où *Cdhr23* y est exprimé (Kazmierczak et al. 2007). En croisant des souris *Cdhr23cre* avec des souris rapportrice *Rosa-tdTomato*, chaque cellule exprimant ou ayant exprimé à un moment donné de son développement la protéine *cdhr23* apparaîtra rouge au microscope à fluorescence. Les souris *Cdhr23cre : Rosa-tdTomato* présentaient bien des cellules sensorielles auditives marquées en rouge, confirmant donc que la construction génétique utilisée avait bien fonctionné (voir Méthodes **I**) pour une description détaillée). Une fois cette étape validée, nous avons exploré l'expression de la cre-recombinase dans le système nerveux central chez des souris *Cdhr23cre* âgées de 25 jours. D'après l'étude initiale de notre équipe (Libé-Philippot et al. 2017), nous nous attendions à retrouver des marquages exclusivement dans certains interneurones à PV de l'AC.

De manière surprenante, nous avons retrouvé la cre-recombinase dans l'ensemble du néocortex et de l'hippocampe, et non pas uniquement dans l'AC (**Figure 60**). Si d'après la forme de leur soma et de leurs dendrites certains neurones sont marqués, ceux-ci sont

minoritaires, et leur forme suggère que ce sont des neurones pyramidaux (Elston 2003). La grande majorité des cellules corticales marquées s'est révélée positive uniquement à un anticorps spécifique de cellules de la microglie, Iba1 (Ohsawa et al. 2004 ; **Figure 61**). Toutes les cellules positives à Iba n'expriment pas la cre-recombinase, indiquant que *cdhr23* a été ou est exprimée dans une sous-population de cellules microgliales à P25.

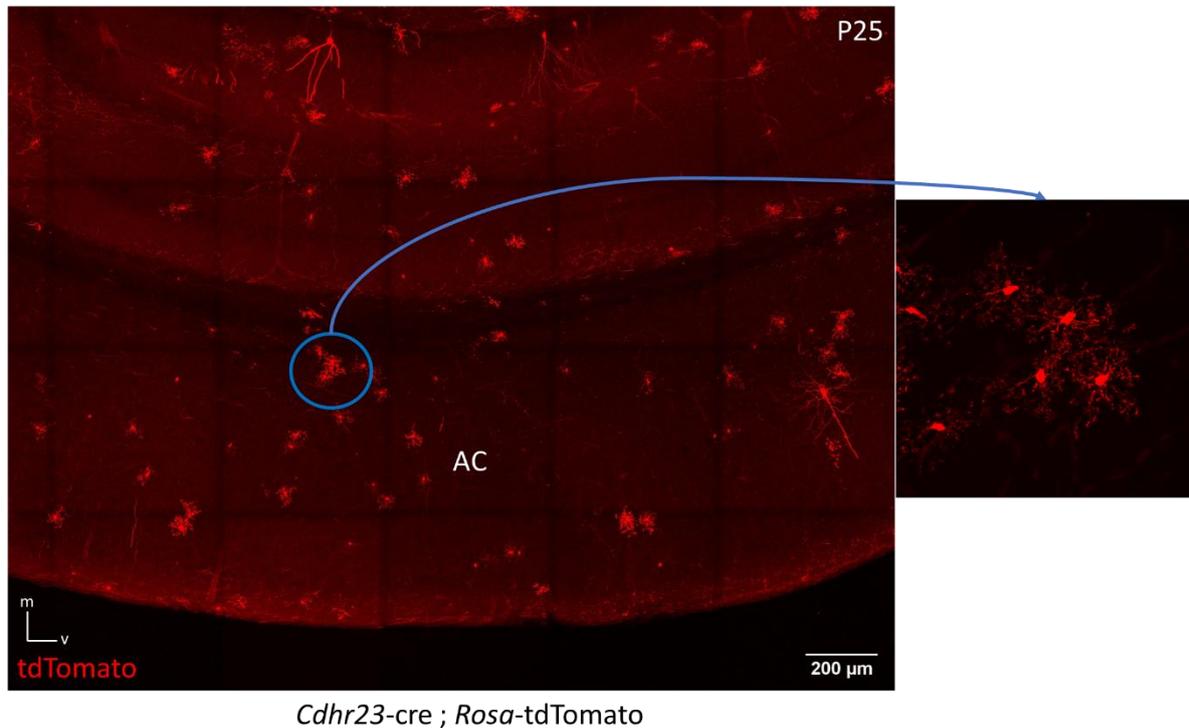


Figure 60 : Expression de la cre-recombinase via le marqueur tdTomato dans le cortex auditif

Tranche coronale de cortex auditif (AC) provenant de souris *Cdhr23cre ; Rosa-tdTomato* (P25). La plupart des cellules marquées n'ont pas la forme de neurones inhibiteurs (encadré à droite). Adapté d'images réalisées par Marianne Clémot.

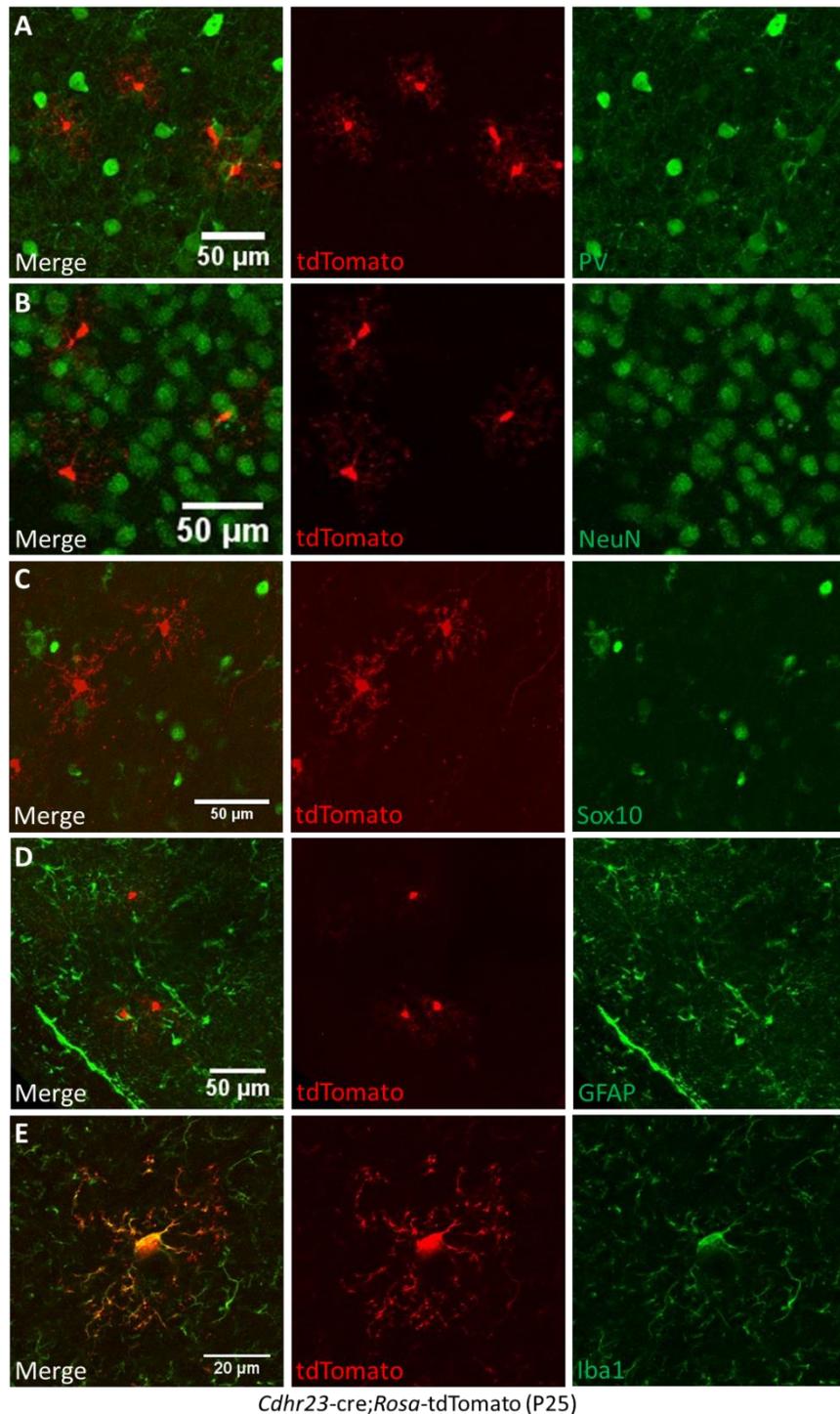


Figure 61 : *Cdhr23* est exprimé par la microglie dans le cortex auditif.

Coupes de cortex auditifs provenant de souris *Cdhr23cre ; Rosa-tdTomato* (P25). A) Immunomarquage dirigé contre PV. B) Immunomarquage dirigé contre NeuN, marqueur neuronal. C) Immunomarquage dirigé contre Sox10, marqueur d'oligodendrocytes. D) Immunomarquage dirigé contre GFAP, marqueur d'astrocytes. E) Immunomarquage dirigé contre Iba1, marqueur de la microglie. Zoom : 25x (A, B, C et D), 63x (E) ; échelle : 50 μm (A, B, C et D), 20 μm (E). Images réalisées par Monica Dias Morais et Marianne Clémot.

Ces résultats remettent donc en question l'hypothèse d'une expression de *Cdhr23* restreinte à l'AC et à des précurseurs d'interneurones à PV au cours du développement. De plus, le lien entre la réduction du nombre d'interneurones à PV chez les souris *Cdhr23* cKO et le rôle de *Cdhr23* au cours du développement embryonnaire semble bien plus complexe qu'envisagé. En effet, les cellules microgliales font partie du système immunitaire : ce sont des macrophages résidents du système nerveux central, acteurs majeurs des mécanismes d'homéostasie (Bohlen et al. 2019). Leur origine embryonnaire est distincte des neurones inhibiteurs. La microglie ne se forme ni au même moment ni au même endroit que les interneurones au cours du développement : elles sont d'origine extra-embryonnaires. Chez la souris, les cellules microgliales sont issues de progéniteurs hématopoïétiques primitifs présents dans le sac vitellin entre le 7ème et le 8ème jour de gestation, qui migrent dans tout l'embryon après mise en place de la circulation sanguine au 8,5/9ème jour de gestation. Elles ne persistent que dans le système nerveux central à l'âge adulte (Ginhoux et al. 2010; Colonna et Butovsky 2017).

2. L'expression de *Cdhr23* n'est pas restreinte au néocortex chez les souris *Cdhr23cre*

Si dans le néocortex, l'expression de *Cdhr23* ne semble pas restreinte à la partie auditive du cortex cérébral, nous avons été surpris de trouver aussi de nombreuses régions sous-corticales marquées chez la souris *Cdhr23^{Cre/+} : Rosa-tdTomato* (**Figure 62, A à C**), régions qui n'avaient pas été mises en évidence dans la précédente étude de notre équipe (Libé-Philippot et al., 2017).

La cre-recombinase est ainsi retrouvée dans des noyaux du système auditif central. En particulier, les cellules principales glycinergiques du MNTB et des neurones du colliculus inférieur sont marqués. Du côté du colliculus inférieur, les neurones exprimant *Cdhr23* ne coexpriment pas la PV (**Figure 62E**). La cre-recombinase est également exprimée dans de nombreux autres noyaux du tronc cérébral qui ne sont pas directement liés à l'audition, comme les ganglions de la base (striatum, globus pallidus, substantia nigra, noyau sous-thalamique), le colliculus supérieur, le cervelet ou encore la zona incerta qui a des connexions avec le système auditif et le système sensoriel (Xiyue Wang et al. 2020). Certaines de ces régions, comme la substantia nigra, ou le colliculus supérieur sont connues pour être impliquées dans les mécanismes de crises audiogènes (voir Introduction **IV**)**B.3**).

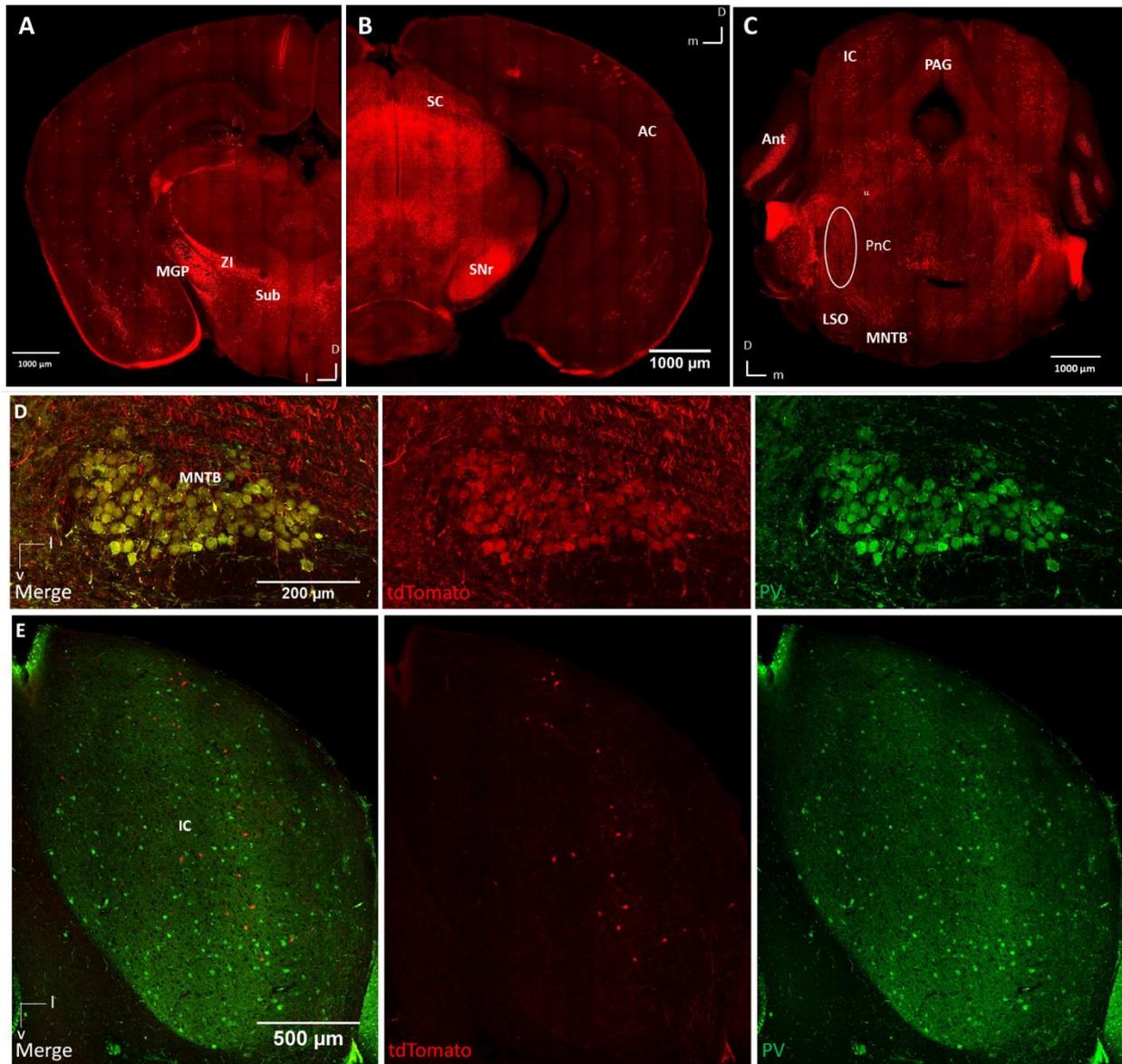


Figure 62 : *Cdhr23* est exprimé dans des neurones et des fibres de nombreuses régions sous-corticales auditives et non auditives.

(A-C) Coupes coronales de cerveaux de souris *Cdhr23cre* ; *Rosa-tdTomato* à P20 en trois endroits le long de l'axe antéro-postérieur. Le cortex auditif est visible en B. *Cdhr23* est retrouvé dans des nombreuses régions auditives visible en C : colliculus inférieur (IC), olive supérieure latérale (LSO), noyau médian du corps trapézoïde (MNTB). Cependant, de nombreux noyaux sous-corticaux intervenant dans les mécanismes des crises audiogènes sont aussi marqués en A (MGP : globus pallidus médial ; Sub : noyau thalamique sousmédial) en B (SC : colliculus supérieur ; SNr : substance nigra réticulée) et en C (PAG : substance grise périaqueducale ; PnC noyau pontique réticulé, région traversée par de très nombreuses fibres -cercle blanc). Notons qu'un fort marquage dans le zona incerta (ZI) et le cervelet (Ant) sont visibles en A et C respectivement.

(D-E) Immunomarquage dirigé contre la parvalbumine chez une souris *Cdhr23cre* ; *Rosa-tdTomato* à P25 dans le MNTB (D) et le colliculus inférieur (E). Les cellules exprimant *Cdhr23* ne sont pas des interneurones à parvalbumine dans le colliculus.

Adapté d'images réalisées par Monica Dias Morais et Marianne Clemot.

l : latéral ; v : ventral ; m : médial ; d : dorsal.

3. *Pcdh15* est exprimé dans des oligodendrocytes et leurs progéniteurs

L'étude de la lignée *Cdhr23^{Cre/+} : Rosa-tdTomato* suggère que *Cdhr23* est exprimé bien au-delà de l'AC et dans plusieurs types cellulaires différents au cours du développement, contrairement à ce que la 1^{ère} étude de notre équipe semblait montrer. Comme cette 1^{ère} étude suggérait que *Cdhr23* est coexprimé avec *Pcdh15*, nous avons donc cherché à confirmer cette hypothèse en étudiant la lignée *Pcdh15^{Cre/+} : Rosa-tdTomato*.

Malheureusement, les deux lignées fondatrices indépendantes d'animaux *Pcdh15cre* que nous avons reçu n'exprimaient la cre-recombinase ni dans le cerveau ni dans la cochlée alors même que *pcdh15* est indispensable au développement et au fonctionnement des cellules ciliées (Kazmierczak et al. 2007). Cette absence d'expression est probablement due à une insertion (de type BAC) dans une zone fermée du génome (voir Matériel et Méthodes I). Il a donc fallu trouver d'autres moyens d'explorer l'expression de *Pcdh15*.

a. L'ARNm de *Pcdh15* est retrouvé dans des oligodendrocytes du néocortex

Mon équipe a donc utilisé une technique de détection *in situ* de l'ARN messager (ARNm) afin de vérifier dans quels types cellulaires est exprimé *Pcdh15*. Cette technique permet de détecter spécifiquement et simultanément l'expression de l'ARNm de plusieurs gènes cibles sur une même tranche de cerveau. Dans le cortex de souris C57Bl6, l'ARNm de *Pcdh15* a été détecté à E17 et P20 au niveau du néocortex principalement dans des cellules de la glie, les oligodendrocytes, identifiés grâce au gène *Sox10* (**Figure 63A-B**) et à P20 dans un faible nombre de neurones à PV (**Figure 63C**). L'ARNm de *Pcdh15* n'est pas retrouvé uniquement dans l'AC, mais dans une grande partie du néocortex. Cette expression de *Pcdh15* dans une sous-population d'oligodendrocytes a été confirmée par un post-doctorant de l'équipe, Philippe Jean, en utilisant une technique d'analyse du transcriptome sur cellule unique (« *single cell genomics* »), qui permet d'identifier les 2 000 à 3 000 principaux gènes exprimés dans des cellules individuelles d'un tissu donné (**Figure 63D**). Son expression spatiale (l'ARNm de *Pcdh15* est-il retrouvé dans des noyaux sous-corticaux ?) et temporelle au cours du développement embryonnaire reste encore à explorer. Néanmoins, ces résultats sont inattendus, tant d'après l'étude initiale de Libé-Philippot (PNAS. 2017) que d'après nos résultats concernant le gène *Cdhr23*.

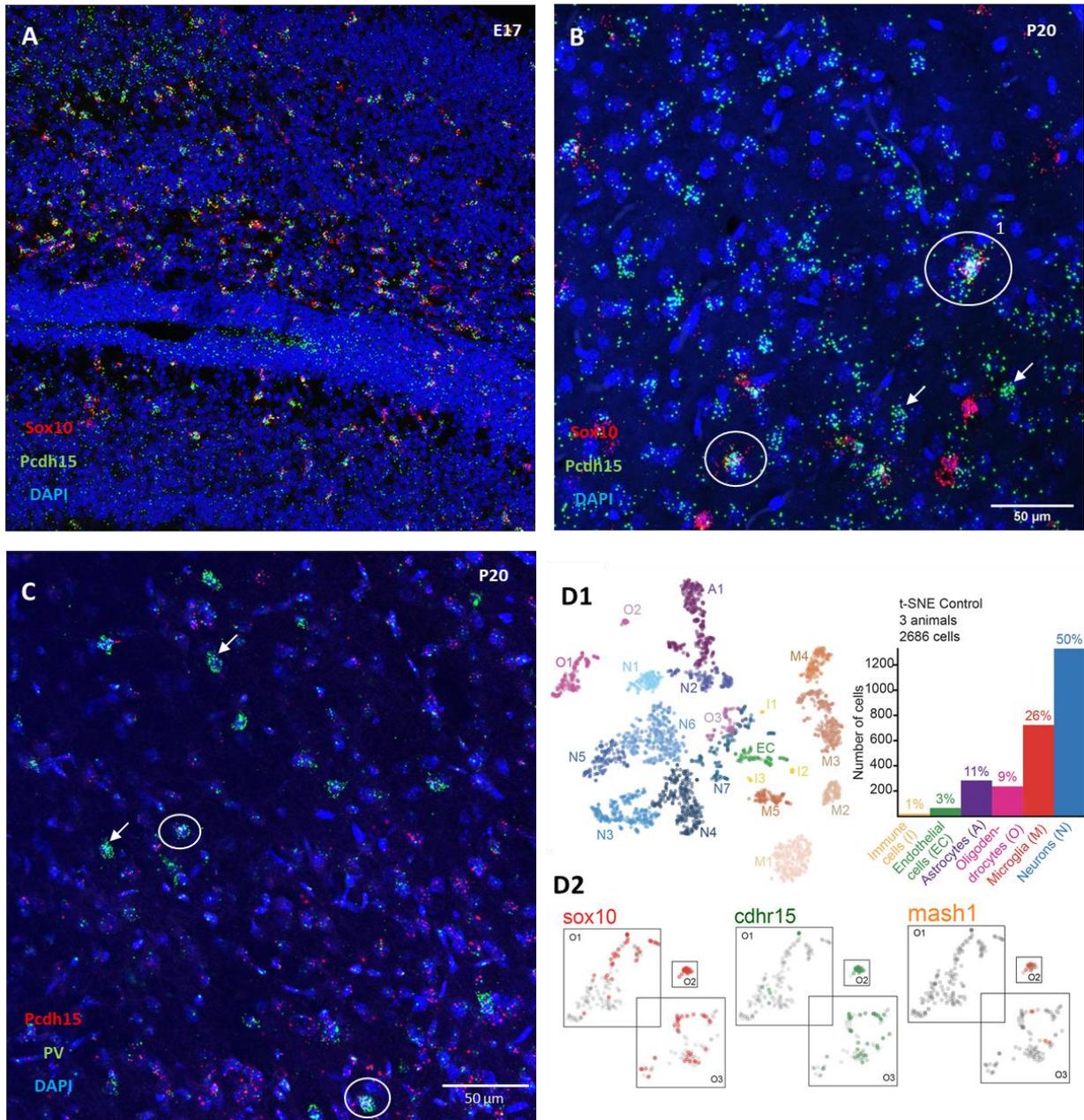


Figure 63 : *Pcdh15* est retrouvé dans des oligodendrocytes et des interneurones à parvalbumine de souris C57Bl6/J par hybridation *in situ* de l'ARNm et par l'analyse du transcriptome sur cellule unique

(A-B) En rouge le marqueur d'oligodendrocyte *Sox10*, en vert *Pcdh15* et en bleu le marqueur nucléaire DAPI chez un embryon à E17 (A) et dans le cortex d'une souris à P20 (B). Les cercles montrent des oligodendrocytes exprimant *Pcdh15*, les flèches des cellules n'exprimant que *Pcdh15* et qui pourraient être des interneurones à parvalbumine (voir C). C) Cortex d'une souris à P20. En rouge *Pcdh15*, en vert la parvalbumine (PV), en bleu le marqueur nucléaire DAPI. Les cercles indiquent des neurones à parvalbumine exprimant *Pcdh15*, les flèches des interneurones à parvalbumine n'exprimant pas *Pcdh15*. De nombreuses cellules expriment uniquement *Pcdh15* et pourraient être des oligodendrocytes (voir B). (D1) Gauche : Projection *t-sne* des données de séquençage ARN sur cellules uniques dans le cortex auditif la souris à P40. Les cellules sont projetées en fonction de leur transcriptome et clustérisées par type cellulaire. Droite : Histogramme des proportions relatives des différents types cellulaires caractérisés. (D2) Zoom-in des clusters des oligodendrocytes (O1, O2 et O3), montrant l'expression de *Sox10* (rouge), *Pdh15* (vert) et *Mash1* (jaune).

Adapté d'images réalisées par Monica Dias Morais et Philippe Jean.

b. L'isoforme CD2 de *pcdh15* est majoritairement exprimé dans le néocortex des souris

Pcdh15 possède trois isoformes (CD1, CD2 et CD3), qui diffèrent uniquement au niveau de leur domaine cytoplasmique. Dans la cochlée en développement, ces trois isoformes sont redondantes. En revanche, dans la cochlée mature, seule CD2 est indispensable au maintien des *tip-links* et au fonctionnement de la MET. Chez les souris comme chez l'humain, l'inactivation de CD2 en particulier provoque une surdité profonde (Pepermans et al. 2014). Tirant profit de la spécificité de la technique d'hybridation *in situ* de l'ARNm, nous avons élaboré des sondes permettant de détecter les trois isoformes afin d'explorer leur expression dans le cerveau murin. Dans le cortex de souris C57Bl6/J à P25, l'ARNm de l'isoforme CD2 est fortement exprimé, alors que les ARNm de CD1 et CD3 sont très faiblement exprimés (**Figure 64**). Ainsi, l'isoforme CD2 de *Pcdh15* semble avoir dans la cochlée mature comme dans le cortex, un rôle prépondérant par rapport aux deux autres isoformes. Il sera intéressant d'une part d'appliquer la technique d'hybridation *in situ* de l'ARNm à différents stades de développement embryonnaire et péri-natal avec les sondes des trois isoformes et d'autre part de développer des modèles murins présentant une inactivation spécifique de chaque isoforme afin de confirmer l'importance de CD2 par rapport aux deux autres.

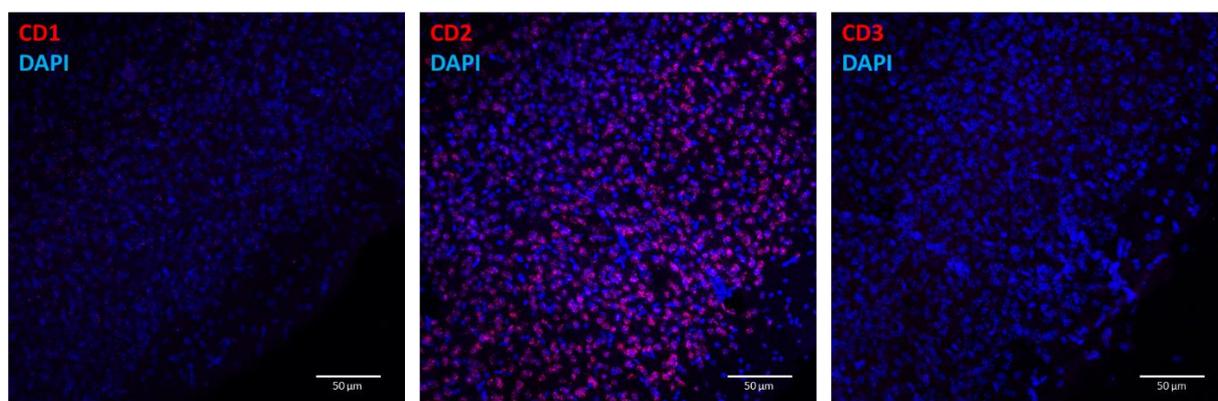


Figure 64 : Expression des trois isoformes de *Pcdh15* dans le cortex de souris C57Bl6/J
L'hybridation *in situ* de chaque isoforme de *Pcdh15* (en rouge) montre que la forme CD2 est très majoritairement exprimée par rapport aux formes CD1 et CD3 dans le cortex auditif à P20. Images réalisées par Monica Dias Morais.

Discussion

I) *Cdhr23* et *Pcdh15* ne sont pas restreints au cortex auditif en développement : quels sont leurs rôles dans le développement des interneurones à parvalbumine du cortex auditif ?

A l'origine, ce travail de thèse s'appuyait sur l'étude du rôle de *Cdhr23* et *Pcdh15* au cours du développement embryonnaire et post-embryonnaire, publiée par mon laboratoire de thèse en 2017 (Libé-Philippot et al. 2017). Cette étude suggérait que ces deux gènes étaient coexprimés dans une sous-population de progéniteurs de neurones à parvalbumine destinés dès leur formation au cortex auditif uniquement, et envisageait l'existence d'un « code d'adhésion » permettant l'adressage de populations de progéniteurs d'interneurones à des aires corticales fonctionnelles spécifiques. Au cours de ma thèse, l'étude de nouveaux modèles murins a remis en question ces hypothèses. En premier lieu, nous avons observé que *Cdhr23* semble être exprimé dans l'ensemble du cortex, principalement par des cellules de la microglie ainsi que par des neurones de nombreux noyaux sous-corticaux chez les souris *Cdhr23cre*. En second lieu, nous avons montré que l'ARNm de *Pcdh15* est principalement retrouvé dans des oligodendrocytes corticaux chez les souris C57Bl6. Ces résultats suggèrent donc que *Cdhr23* et *Pcdh15* ne seraient pas coexprimés dans des progéniteurs d'interneurones à parvalbumine, et ne seraient pas spécifiques d'une aire fonctionnelle (le cortex auditif). Les résultats décrits dans Libé-Philippot et al. (2017) et ceux obtenus au cours de ma thèse sont-ils contradictoires et incompatibles ?

A. *Cdhr23* est exprimé dans le cortex et dans plusieurs noyaux sous-corticaux

1. *Cdhr23*, microglie et interneurones

Le système nerveux est constitué de deux grands groupes de cellules : les neurones d'un côté, et un ensemble de cellules assurant principalement l'homéostasie cérébrale, les cellules gliales. Parmi ces dernières, les cellules de la microglie forment un sous-groupe à part. Elles constituent la première ligne de défense du système nerveux contre les pathogènes et sont aussi impliquées dans le contrôle de l'inflammation et la réparation tissulaire (Nayak et al. 2014). Leur origine embryonnaire est cependant distincte des autres types de cellules gliales ainsi que des neurones. En effet, la microglie ne se forme ni au même moment ni au même endroit que les interneurones au cours du développement : elle est même extra-embryonnaire. Chez la souris, les cellules microgliales sont issues de progéniteurs hématopoïétiques primitifs présents

dans le sac vitellin entre le 7^{ème} et le 8^{ème} jour de gestation et migrent dans tout l'embryon après la mise en place de la circulation sanguine au 8,5/9^{ème} jour de gestation. Elles ne persistent que dans le système nerveux central à l'âge adulte (Ginhoux et al. 2010; Colonna et Butovsky 2017). Pour atteindre le système nerveux central, les cellules microgliales primitives colonisent le système nerveux central suivant les mêmes voies de migration tangentielle (Mosser et al. 2017) que les progéniteurs neuraux naissant dans les éminences ganglionnaires. Il est donc possible que les marquages anticorps anti-cdhr23 effectués par Libé-Philippot et al. (2017) au cours du développement aient mis en évidence non pas des progéniteurs d'interneurones en migration depuis la MGE vers le cortex mais des cellules de la microglie. Cependant, cette hypothèse ne peut expliquer à elle seule l'intensité du marquage dans l'étude de Libé-Philippot et al. (2017) puisque le début migration de la microglie est plus précoce (E10 ; Mosser et al. 2017) que celles des progéniteurs neuraux (à partir de E12,5 ; Kelsom et Lu 2013) et la répartition dans tout le néocortex de cellules microgliales à P14,5 est plus large et moins dense malgré dans zones de regroupement dans le striatum (Squarzoni et al. 2014).

Comme le suggère sa présence très précoce dans l'embryon (avant les autres types de cellules gliales) ainsi que les multiples interactions dynamiques avec l'ensemble des cellules nerveuses (neurones et glie) (Mosser et al. 2017), la microglie intervient dans de nombreux mécanismes physiologiques au cours du développement embryonnaire et post-natal du système nerveux central et est nécessaire à son fonctionnement chez l'adulte. Les cellules microgliales participent à la neurogénèse au cours du développement (Cunningham et al. 2013) et chez l'adulte (Sierra et al. 2010), au développement des circuits corticaux (Squarzoni et al. 2014) et à leur réorganisation synaptique au cours de la maturation (Paolicelli et al. 2011) ou encore à la régulation de l'activité synaptique (Wake et al. 2009; Y.-J. Liu et al. 2021). De nombreuses questions demeurent quant aux différents mécanismes d'action de la microglie chez l'embryon. Mosser et ses collègues (2017) pointent l'extrême plasticité des cellules microgliales ainsi que leur constante variation phénotypique, et suggèrent que ce type de cellules est impliqué dans différents mécanismes selon leur position dans l'encéphale. Toutes ces caractéristiques rendent très complexe l'étude de la microglie au cours du développement du système nerveux central. Toutefois, un rôle majeur de la microglie se révèle ici particulièrement intéressant : les cellules de la microglie participent à un mécanisme indispensable au développement, la **mort cellulaire programmée**, notamment en phagocytant les cellules en apoptose. La mort cellulaire programmée est un processus d'autodestruction des cellules surnuméraires ou dysfonctionnelles. Elle est déclenchée par des signaux externes ou internes, et survient quasiment tout au long du développement embryonnaire et post-natal dans tous les organes,

participant à leur morphogénèse et leur fonctionnement (Fuchs et Steller 2011). Dans le système nerveux central, les interneurons (mais aussi toutes les cellules gliales) sont soumis à une intense mort cellulaire programmée au cours du développement, en particulier post-natal. Ce phénomène est absolument nécessaire au développement normal du système nerveux central. Par exemple, il permet d'éliminer les cellules surnuméraires et favorise probablement l'établissement de l'équilibre excitation-inhibition des réseaux neuronaux (Wong et Marín 2019). Il est décrit que de 10 à 40 % des interneurons disparaîtraient pendant les deux premières semaines de vie (Southwell et al. 2012). Parmi les signaux externes déclenchant la mort cellulaire, les interactions avec d'autres neurones et des cellules gliales (dont la microglie) semblent très importants (Mosser et al. 2017). La disparition des interneurons à parvalbumine montrée dans l'étude de Libé-Philippot et al. (2017) pourrait donc être la conséquence d'une altération des interactions microglie-interneurones (à parvalbumine) limitant la migration et la maturation d'une partie de interneurons, provoquant ainsi leur élimination précoce. De manière alternative, il est possible que des interneurons expriment bien *Cdhr23* au cours du développement embryonnaire mais que ceux-ci disparaissent massivement après la naissance par mort cellulaire programmée sans que cela soit lié à un processus pathologique. Ainsi, des données analysant le transcriptome des cellules (« *single cell transcriptomics* ») rassemblées dans le cadre du projet *The Human Atlas Protein* (**Figure 65**) suggèrent que *Cdhr23* est exprimé fortement dans des cellules de la microglie, mais aussi de manière significative dans une population d'interneurones (The Human Protein Atlas proteineatlas.org; Sjöstedt et al. 2020). Or, si notre modèle murin *Cdhr23*cre permet d'observer les types cellulaires exprimant ou ayant exprimé *Cdhr23* à un instant précis du développement (âge choisi pour l'observation), il ne nous permet pas de vérifier si certains types cellulaires l'ont exprimé avant de disparaître à la suite d'une mort cellulaire programmée. Afin de comprendre davantage le rôle central de *Cdhr23*, il sera donc nécessaire d'observer l'expression de la cre-recombinase tout au long du développement embryonnaire et post-natal (observation effectuée à P20 dans notre étude) et de comparer ces observations aux résultats des marquages anticorps anti-cdhr23 effectués par Libé-Philippot et al. (2017).

Dans tous les cas, l'origine du déficit en interneurons à parvalbumine décrite dans Libé-Philippot et al. (2017) semble être bien plus complexe qu'envisagée. Et, plus généralement, les rôles exacts de *Cdhr23* au cours du développement et chez l'adulte restent encore à élucider.

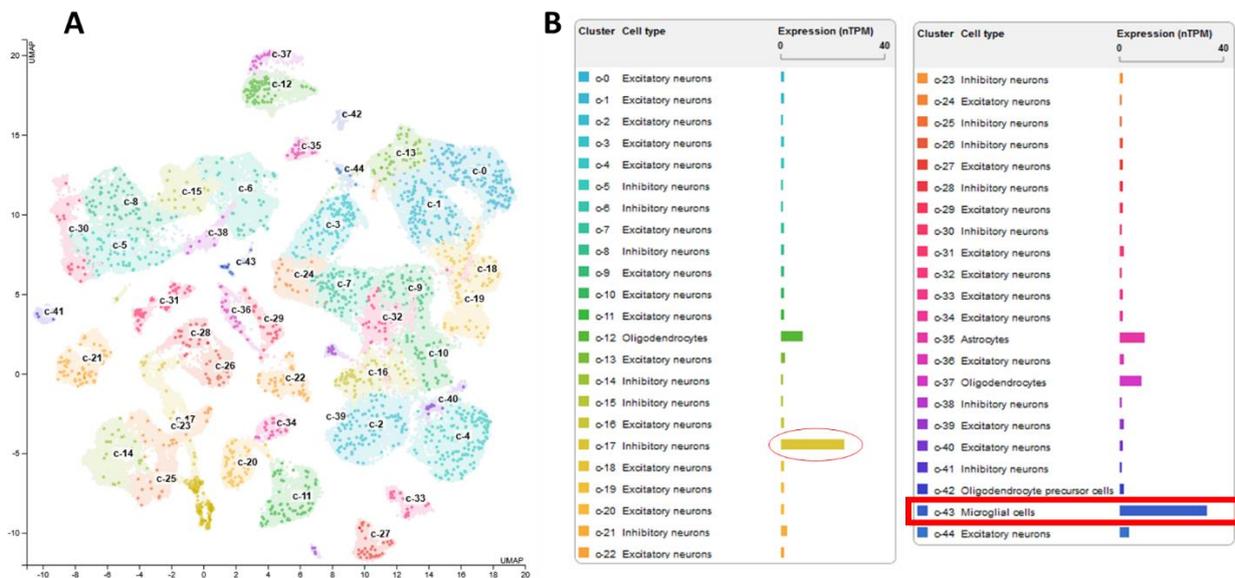


Figure 65 : Données transcriptomiques issues du site The Human Atlas Protein
(A) Projection UMAP des données de séquençage ARN sur cellule unique issue du cerveau chez l'humain. Les cellules sont projetées en fonction de leur transcriptome et clustérisées par type cellulaire.
(B) Expression de *CDH23* (nTPM) dans les différents types cellulaires caractérisés.

2. *Cdhr23* et crises audiogènes : une origine sous-corticale ?

Nos derniers travaux ont mis en évidence que l'expression de *Cdhr23* n'est pas restreinte au cortex : de nombreuses régions du tronc cérébral semblent aussi l'exprimer (voir Résultats **II**D.2). L'étude publiée dans PNAS et le travail de thèse associé (Libé-Philippot 2017) n'écartaient pas formellement la possibilité d'une expression sous-corticale de ces deux gènes. Les données suggéraient que l'expression embryonnaire de *Cdhr23* et *Pcdh15* était restreinte à certaines éminences ganglionnaires, aux voies de migration des interneurons et au cortex auditif entre E13,5 et P7. Plusieurs facteurs peuvent expliquer que *Cdhr23* et *Pcdh15* n'ont pas été détecté avant E13.5 et après P7 en dehors du prosencéphale : une expression plus tardive dans les régions auditives sous corticales ou plus précoce le long du tube neural, une expression de moindre intensité dans ces zones, ou encore l'expression de différents épitopes extracellulaires. L'utilisation du modèle murin *Cdhr23*cre suggère qu'au moins un de ses facteurs est présent chez les souris *Cdhr23* cKO.

Les différentes régions sous-corticales dans lesquelles une expression de *Cdhr23* a été mise en évidence sont des zones d'intégration multimodale, impliquées dans la coordination motrice, les émotions, le langage ou la prise de décision (Simonyan 2019). Certaines de ces structures, notamment les ganglions de la base, sont aussi impliqués dans l'initiation et la

propagation des crises d'épilepsie focale (Park et al. 2019), dont les crises audiogènes sont un cas particulier. Une récente étude rapporte une expression de *Cdh23* dans ces mêmes zones (Balan et al. 2021) en utilisant une méthode d'hybridation *in situ* de l'ARNm. L'obtention de données concordantes, indépendantes et issues de deux techniques différentes conforte l'hypothèse d'une expression à la fois corticale et sous-corticale de *cdhr23* chez la souris. Les crises audiogènes observées chez les modèles murins *Cdhr23* cKO ou *Cdhr23*^{+/-} pourraient ainsi être la conséquence directe de défauts fonctionnels sous-corticaux et non pas du cortex auditif comme initialement envisagée. Cette hypothèse est particulièrement plausible car *Cdhr23* est retrouvé dans de nombreuses régions impliquées dans la génération et la propagation des crises audiogènes, notamment le colliculus inférieur (voir Introduction **IV**)**B.3**).

Pour explorer cette hypothèse, nous avons entrepris de comparer la lignée de souris *Cdhr23*^{Cre/+} : *Rosa*-tdTomato, avec la lignée *Nkx2.1*^{Cre/+} : *Rosa*-tdTomato utilisée pour obtenir le modèle murin *Cdhr23* cKO étudié dans Libé-Philippot et al. (2017) et par moi-même. Chez ces souris *Cdhr23* cKO, le gène *Cdhr23* a été inactivé dans tous les cellules exprimant le facteur de transcription *Nkx2.1*. Ainsi, la comparaison des régions du cerveaux et des types de cellules exprimant la cre-recombinase entre les lignées *Cdhr23*^{Cre/+} : *Rosa*-tdTomato, avec la lignée *Nkx2.1*^{Cre/+} : *Rosa*-tdTomato nous permettra de déterminer quels sont les circuits neuronaux impliqués dans le phénotype des souris *Cdhr23* cKO (susceptibles aux crises audiogènes et présentant une baisse du nombre d'interneurones à parvalbumine dans l'AC). Afin d'être la plus précise possible, cette comparaison doit se faire à différents stades du développement embryonnaire et post-natal. Une telle caractérisation spatiale et temporelle de *Nkx2.1* n'a jamais été entreprise. Le travail est donc double : explorer et comparer l'expression spatiale, temporelle et cellulaire des deux gènes : *Cdhr23* et *Nkx2.1*.

Bien que cela dépasse largement le cadre de mes travaux, une étude préliminaire a été effectuée dans notre équipe en 2021 par Julia Torras, étudiante en Master1 : elle a répertorié les régions exprimant *Nkx2.1* et *Cdhr23* à P20 (**Figure 66** et **Annexe 3**). Elle a mis en évidence plusieurs régions communes, qui sont impliquées dans les crises d'épilepsies (et les crises audiogènes) mais aussi des régions associées à la coordination motrice ou la prise de décision, suggérant que *Cdhr23* pourrait bien avoir un rôle dans plusieurs circuits neuronaux différents.

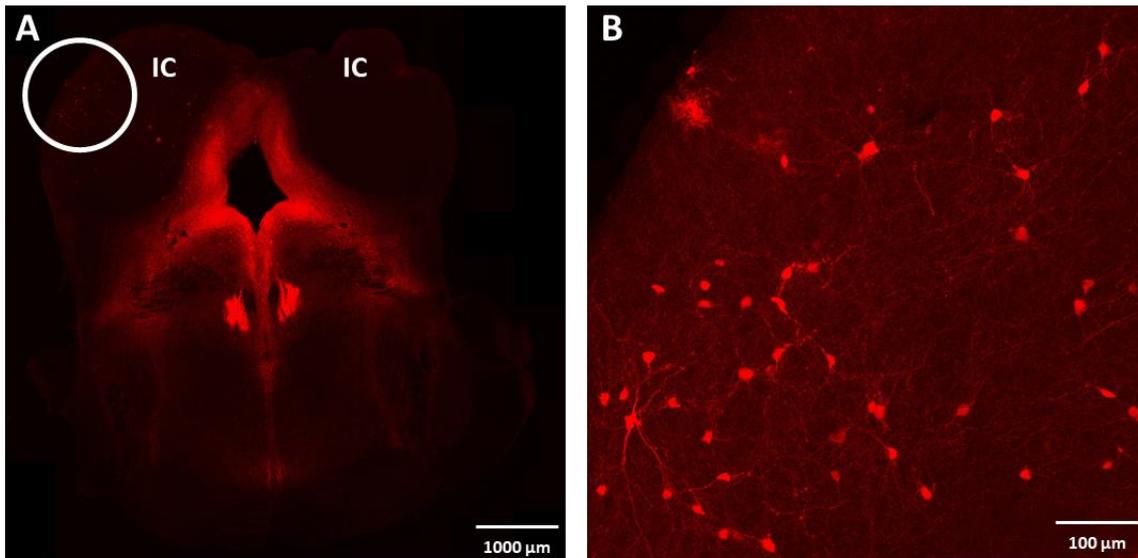


Figure 66 : Expression de *Nkx2.1* dans le colliculus inférieur

(A) Tranche coronale de cerveau au niveau du colliculus inférieur (IC) provenant de souris *Nkx2.1-cre ; Rosa-tdTomato* (P20). (B) Zoom sur les cellules entourées en blanc en A. Adapté d'images réalisées par Julia Torras.

B. *Pcdh15*, oligodendrocytes, et interneurones

1. *Pcdh15* dans le développement embryonnaire : un marqueur d'oligodendrocytes ou d'interneurones ?

Même si le rôle de *Cdhr23* n'est pas clairement défini aujourd'hui, l'étude de Libé-Philippot et al. (2017) et les travaux présentés ici semblent plus faciles à réconcilier dans le cas de *Pcdh15*. En effet, en utilisant deux techniques différentes (l'hybridation *in situ* de l'ARNm et l'analyse du transcriptome), nous avons mis en évidence une expression de *Pcdh15* principalement dans des oligodendrocytes, un autre grand type de cellules gliales (avec la microglie et les astrocytes) et dans quelques interneurones corticaux dont des neurones à parvalbumine (**Figure 63**).

Les oligodendrocytes sont des cellules de support des neurones dont la première fonction est de former la gaine de myéline autour des axones, permettant une augmentation importante de la vitesse de conduction de l'influx nerveux. Ils ont pour origine les oligodendrocytes immatures, appelés progéniteurs d'oligodendrocytes (OPC, *Oligodendrocyte Progenitor Cells*), qui sont présents au cours du développement embryonnaire et persistent en grande quantité chez l'adulte, où ils constituent 2 à 9 % du total des cellules du système nerveux central (Boshans et al. 2020). Les OPCs forment une population cellulaire hétérogène chez la

souris juvénile comme l'adulte, et assurent plusieurs fonctions, dont le renouvellement de la myéline ou la régulation synaptique (Doretto et al. 2011; Boulanger et Messier 2017).

A la différence de la microglie, une partie des OPC et les progéniteurs d'interneurones sont issues des mêmes régions embryonnaires, chez les rongeurs comme les primates, et certaines populations sont issues des mêmes progéniteurs neuraux (Benamer et al. 2020). Dans leur étude, Kessaris et al. (2006) ont choisi d'utiliser le système Cre-lox chez la souris pour suivre l'évolution spatiale et temporelle des OPCs au cours du développement embryonnaire. Ils montrent que les OPCs se forment et migrent dans l'embryon en trois « vagues » successives issues de trois régions différentes depuis la partie ventrale jusqu'à la partie dorsale du prosencéphale. La première vague d'OPC se forme majoritairement dans la MGE et l'aire pré-optique embryonnaire à E11.5-E12.5, sous le contrôle du promoteur du gène *Nkx2.1*. Elle migre ensuite vers le néocortex au même moment et par les mêmes voies de migration que les progéniteurs d'interneurones à parvalbumine. Une deuxième vague apparaît à partir de E14.5 dans les éminences latérale et caudale à partir de progéniteurs exprimant le gène *Gsx2* et migre aussi vers le néocortex. L'éminence caudale est aussi le lieu de formation d'une importante population d'interneurones exprimant la *reeline* ou le peptide vasoactif intestinal VIP (Miyoshi et al. 2010b). La troisième vague d'OPCs se forme au stage périnatal, au niveau du cortex en développement (le pallium), à partir de progéniteurs exprimant *Emx1* et envahit ensuite les couches corticales par migration radiaire. Cette dernière vague présente donc moins de caractéristiques en commun avec les interneurones, alors que les deux premières sont étroitement liées aux interneurones pendant le développement embryonnaire. La **Figure 67** illustre le développement des 3 vagues d'OPCs associées à celui des interneurones.

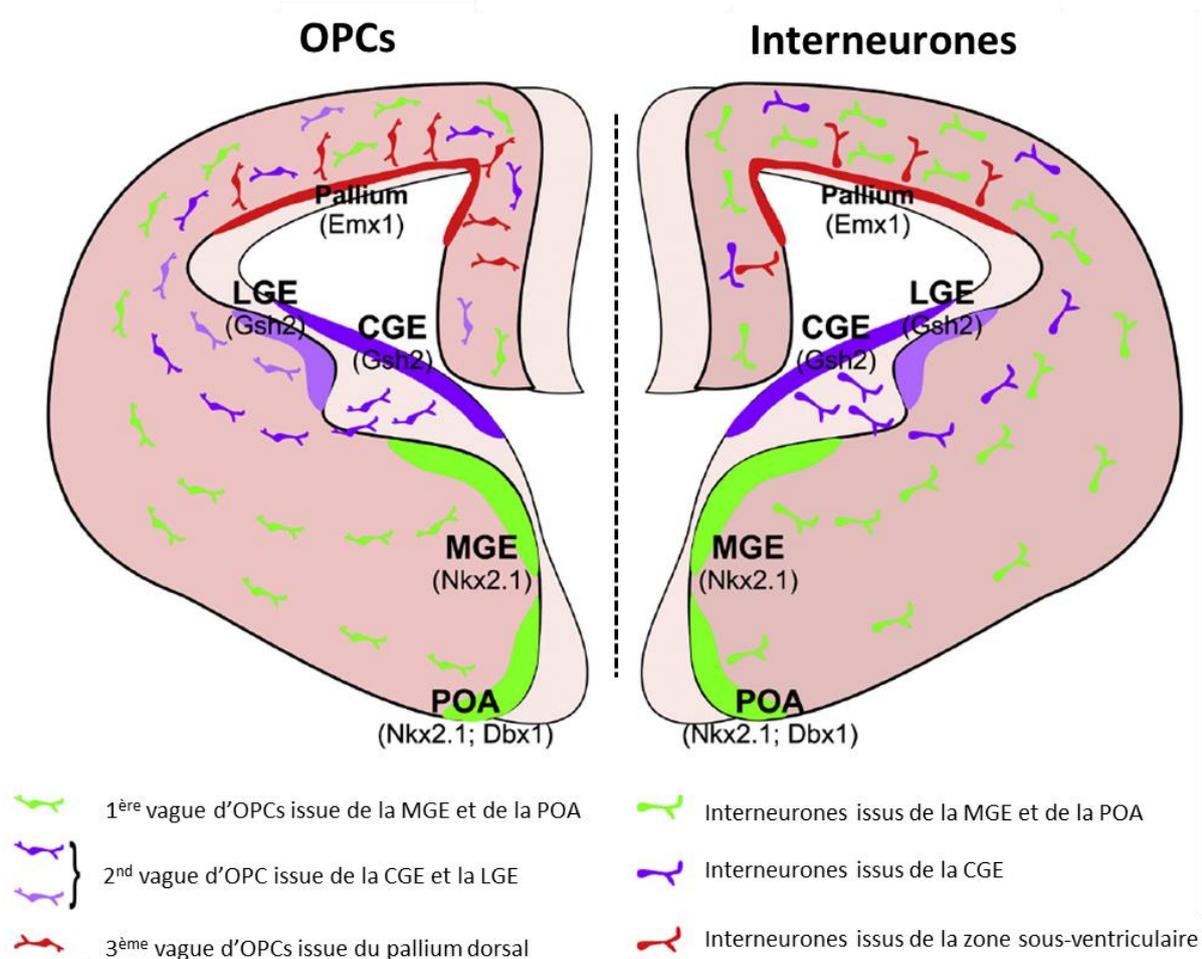


Figure 67 : Illustration des origines communes des OPCs et interneurones au cours du développement

Représentation schématique d'une coupe coronale du cortex au cours du développement embryonnaire montrant que les OPCs et les interneurones partagent une origine commune.

A gauche, les trois vagues d'OPCs. La première, représentée en vert, est issue de l'éminence ganglionnaire médiale (MGE) et l'aire pré-optique (POA) exprimant les gènes *Nkx2.1* et *Dbx1*. La deuxième vague, représentée en violet, est issue des éminences latérale (LGE) et caudale (CGE) et exprime le gène *Gsh2*. Ces deux vagues migrent vers le cortex en même temps que les interneurones. La troisième vague, représentée en rouge, est issue du cortex directement (pallium dorsal).

A droite, le développement précoce des interneurones, qui se fait en partie à partir des mêmes régions et sous le contrôle de mêmes gènes.

Adapté de Benamer et al. 2020.

Les deuxième et troisième vagues sont à l'origine des oligodendrocytes myélinisant les axones de neurones (Benamer et al. 2020). A l'inverse, les OPCs de la première vague étant massivement éliminés par mort cellulaire programmée au cours des deux premières semaines de vie (Kessaris et al. 2006), leur rôle est encore méconnu. Orduz et ses collègues (2019) ont mis en évidence que l'apoptose massive des OPCs et des interneurones issus de la MGE est indispensable à la régulation des interactions entre interneurones et OPCs de même origine, mais aussi à la régulation de la densité des oligodendrocytes et donc à la myélinisation. De plus,

une étude plus récente (Lepiemme et al. 2022) a mis en évidence que chez la souris les OPCs issus de la MGE (qui migrent jusqu'au cortex le long des vaisseaux sanguins) contrôlent la migration des interneurons depuis la MGE vers le cortex par une interaction répulsive, empêchant les interneurons en migration d'interagir avec les vaisseaux sanguins et les maintenant ainsi dans une zone de migration donnée (Lepiemme et al. 2022). L'inactivation de cette première vague entraîne une accumulation de la plupart des interneurons (caractérisés par le gène *Dlx5,6*) dans le striatum à E16,5 (voir la figure S3 dans Lepiemme et al. 2022) ainsi qu'une diminution du nombre d'interneurons à calbindine dans le cortex peu avant la naissance. Si les interneurons à calbindine forment une sous-population d'interneurons à somatostatine (Hladnik et al. 2014), qui diffèrent donc des interneurons à parvalbumine, l'accumulation de progéniteurs exprimant *Dlx5,6* suggère que l'ensemble des interneurons issus de la MGE (soit 70 % du total des interneurons) ou au moins ceux exprimant *Nkx2.1* (soit 60 % d'entre eux, Wamsley et Fishell 2017) est affecté. Enfin, il a été démontré que les oligodendrocytes dérivés de la MGE interagissent préférentiellement avec les interneurons à parvalbumine de même origine : Orduz et al. (2019) ont montré qu'une partie des OPCs de la première vague persistent chez l'adulte et forment de nombreuses connexions synaptiques préférentiellement avec les interneurons à parvalbumine. Plus largement, dans le cortex de souris adultes, une grande partie des OPC (40 %) est appariée avec un interneurone GABAergique et semblent participer activement au mécanisme de modulation de l'activité synaptique de ce neurone (Boulanger et Messier 2017).

Dans la précédente étude de notre équipe, il avait été conclu que *Pcdh15* était principalement exprimé dans des progéniteurs d'interneurons à parvalbumine en développement. Cette étude s'appuyait sur l'utilisation de souris *Nkx2.1^{+cre}*. Or, le gène *Nkx2.1* est un marqueur des progéniteurs d'interneurons et de cellules gliales naissant dans la MGE entre E10.5 et E16.5, et est donc commun à la fois aux interneurons, aux OPCs (Kessar et al. 2006; Butt et al. 2008; Kelsom et Lu 2013; Wamsley et Fishell 2017) et même aux astrocytes (Minocha et al. 2017). De plus, nos récents résultats de l'expression cellulaire de l'ARNm de *Pcdh15* sont en accord avec les données rassemblées dans le cadre du projet *The Human Atlas Protein* (**Figure 68**) confirmant la présence majoritaire de *Pcdh15* dans des OPCs, chez l'humain comme chez la souris (The Human Protein Atlas proteinatlas.org; Sjöstedt et al. 2020) ou de récents travaux *in vitro* chez l'humain identifiant *PCDH15* comme un marqueur tardif d'OPC indispensable à leur prolifération (Huang et al. 2020).

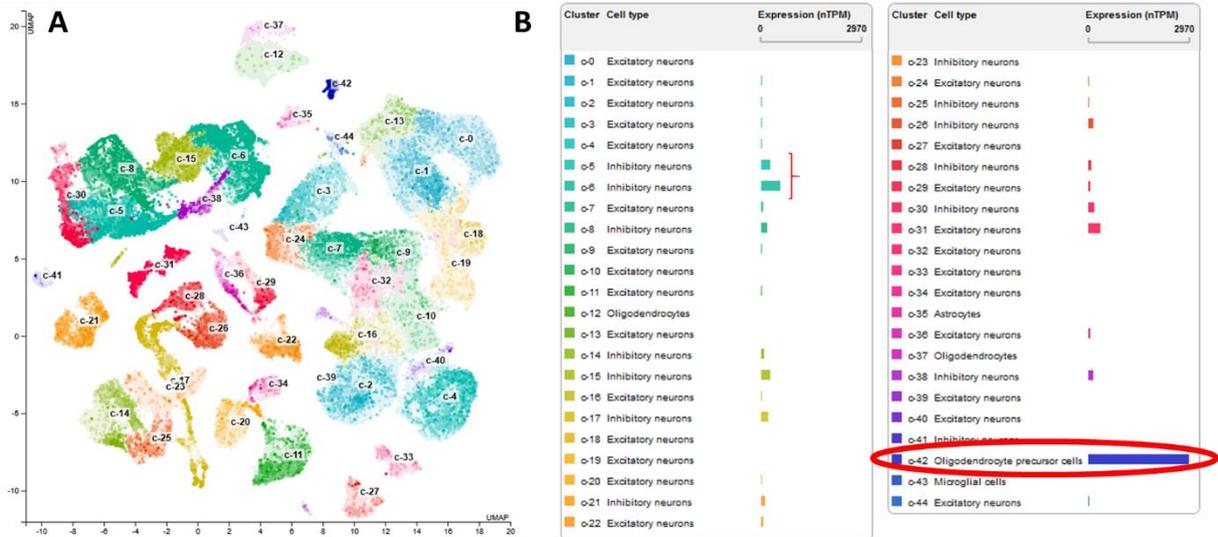


Figure 68 : Données transcriptomiques issues du site The Human Atlas Protein
 (A) Projection UMAP des données de séquençage ARN sur cellule unique issue du cerveau chez l'humain. Les cellules sont projetées en fonction de leur transcriptome et clustérisées par type cellulaire.
 (B) Expression de *PCDH15* (nTPM) dans les différents types cellulaires caractérisés.

Ainsi, nos récents résultats et les dernières avancées scientifiques suggèrent que nous avons préalablement mis en évidence non pas une expression de *Pcdh15* uniquement dans des progéniteurs d'interneurones issues de la MGE, mais majoritairement dans des OPCs de la 1^{ère} vague de développement et dans certains progéniteurs d'interneurones issus de la même région. Ces deux populations forment préférentiellement d'intenses connexions synaptiques au cours du développement (Orduz et al. 2015) et sont indispensables à la maturation du cortex (Orduz et al. 2019). *Pcdh15* pourrait donc être un marqueur commun de deux sous-populations d'OPCs et de progéniteurs d'interneurones en interaction au cours du développement embryonnaire et chez l'adulte et serait nécessaire à cette interaction ainsi qu'à la maturation d'une partie des interneurones à parvalbumine.

2. Perspectives

a. Caractérisation spatio-temporelle de l'expression de *Pcdh15*

L'identification des cellules exprimant *Pcdh15* s'est basée sur la détection de l'ARNm du gène *Sox10*. Or, *Sox10* est un gène exprimé à tous les stades de développement des oligodendrocytes et est nécessaire à leur différenciation terminale en cellules myélinisantes (Kessaris et al. 2008; Kuhn et al. 2019). Il ne nous permet donc pas de déterminer si *Pcdh15* est exprimé dans des OPCs, des oligodendrocytes matures ou les deux, d'autant plus que *Pcdh15* a été identifié dans une partie seulement des cellules exprimant *Sox10*. Il nous faudrait

donc utiliser d'autres marqueurs, notamment les gènes *Pdgfr- α* ou *NG2*, spécifiques des OPCs (Kuhn et al. 2019) pour approfondir nos résultats. Cette étape serait importante : les OPCs et les oligodendrocytes matures n'ont pas le même rôle dans le cortex mature, et une expression préférentielle de *Pcdh15* à l'un de ces deux stages impliquerait différents rôles de ce gène. En effet, les OPC assurent le renouvellement des oligodendrocytes matures et modulent l'activité synaptique d'interneurones, tandis que les oligodendrocytes matures assurent la conduction rapide de l'influx nerveux (via la gaine de myéline) et l'homéostasie des neurones. De plus, il serait intéressant de suivre l'expression de *Pcdh15* via l'hybridation *in situ* de l'ARNm au cours du temps, depuis la naissance des interneurones et OPCs issues de la MGE (E10.5-E12.5) jusqu'à l'âge adulte. En effectuant des co-marquages avec d'autres gènes comme *Pdgfr- α* , marquant les OPCs, et *Dlx5,6*, spécifique des interneurones issus de la MGE (Kelsom et Lu 2013), cette analyse permettrait de déterminer plus finement la proportion de *Pcdh15* exprimée dans ces types cellulaires au cours du développement. Enfin, à P25, une fraction des cellules exprimant *Pcdh15* identifié par hybridation *in situ* de l'ARNm n'exprime pas *Sox10*, probablement des interneurones, mais il faudrait utiliser conjointement les sondes ARNm des trois gènes *Sox10*, *Pcdh15* et *PV* pour s'en assurer.

b. Caractérisation du rôle moléculaire de *Pcdh15*

Si nos récents travaux, corrélés à la littérature scientifique récente, nous permettent de conclure que *Pcdh15* est exprimé dans un groupe d'oligodendrocytes et d'interneurones issus de la même région embryonnaire, il sera nécessaire de comprendre quel rôle la protéine pcdh15 occupe au cours du développement embryonnaire. Notre équipe a mis en évidence *in vitro* des défauts de polarité dans des progéniteurs de neurones issus de la MGE d'embryons murins *Pcdh15^{-/-}* suggérant que l'absence d'une partie des interneurones à parvalbumine P27 résultant de l'inactivation de *Pcdh15* viendrait principalement de défauts de migration de leurs progéniteurs. De plus, *Pcdh15* fait partie d'une famille de molécules d'adhésion, les protocadhérines, connue pour promouvoir des mécanismes d'adhésion ou de répulsion cellulaire en interagissant avec elles-mêmes ou de nombreuses molécules membranaires et cytoplasmiques, pouvant ainsi moduler (c'est-à-dire soit promouvoir, soit inhiber) le développement de l'arbre dendritique et les connexions synaptiques (Peek et al. 2017). En particulier, certaines protocadhérines sont connues pour entraîner une auto-répulsion des dendrites d'un même neurone participant ainsi à un mécanisme de reconnaissance du « soi » par ce neurone (Lefebvre et al. 2012). Enfin, chez l'humain, des études comme (Huang et al.

2020) ont montré que *PCDH15* promeut la répulsion des cellules filles après division cellulaire d'un OPC, empêchant ainsi leur accumulation locale et favorisant la prolifération des OPCs. Ces résultats suggèrent donc que *Pcdh15* pourrait avoir plusieurs rôles au cours du développement des oligodendrocytes et des interneurons, d'abord en favorisant leur dispersion après leur formation dans les éminences ganglionnaires, en contrôlant la polarité des progéniteurs en migration, puis en intervenant dans la formation des synapses OPC-interneurons.

C. *Cdhr23* et *Pcdh15* sont-ils coexprimés dans l'encéphale ?

L'étude de Libé-Philippot suggérait une co-expression de ces deux gènes au cours du développement embryonnaire et lors de la première semaine de vie dans une population de progéniteurs d'interneurons à parvalbumine. L'inactivation de *Cdhr23* ou *Pcdh15* entraînait l'absence de près de la moitié des interneurons à parvalbumine à P27. Dans notre étude présentée ici, l'analyse de l'expression de la cre-recombinase chez le modèle murin *Cdhr23^{cre}* a été effectuée à P20, et l'hybridation *in situ* de l'ARNm de *Pcdh15* a été réalisée à P25 et à E17. Or, nous l'avons déjà évoqué plus haut, une grande partie des interneurons et des cellules gliales est soumise à une mort cellulaire programmée une fois leur migration terminée, au cours des deux premières semaines de vie. L'avancée de nos travaux ne permet donc pas, pour l'instant, de contredire ou d'appuyer l'hypothèse d'une co-expression dans un même type cellulaire au cours du développement embryonnaire. Comme les cellules de la glie et les interneurons en développement sont en interaction dès leur naissance dans les éminences ganglionnaires et comme leur migration, leur maturation et leur fonctionnement sont étroitement liés tout au long du développement, il est tout à fait envisageable que ces deux gènes soient exprimés dans une même population d'OPC et de progéniteurs d'interneurons entre E13.5 et la première semaine de vie. Ce type de population, qui pourrait disparaître presque entièrement ensuite, ne serait donc pas ou peu visible chez la souris *Cdhr23^{+cre}, Rosa-tdTomato*, bien qu'indispensable pour le développement d'une partie des interneurons à parvalbumine. L'hybridation *in situ* de l'ARNm de *Pcdh15* chez la souris *Cdhr23^{+cre}* au cours du développement embryonnaire pourrait permettre de vérifier cette hypothèse.

En revanche, nous avons la certitude que ces deux gènes sont exprimés seuls dans différents types de cellules gliales. Nos travaux démontrent qu'une partie des oligodendrocytes et/ou des OPC corticaux continue d'exprimer *Pcdh15* au moins jusqu'à P20, tandis que *Cdhr23* n'est retrouvé presque exclusivement que dans des cellules de la microglie du cortex, suggérant que chez l'adulte, ces deux gènes ne sont pas coexprimés dans une même population. Il est

possible qu'au cours du développement cela soit aussi le cas : *Cdhr23* serait exprimé par la microglie, *Pcdh15* par des OPCs. Les récentes études pointent le rôle indispensable de ces deux types de cellules gliales dans la migration des interneurons ainsi que l'établissement des circuits corticaux. Dans l'état actuel de nos travaux, une hypothèse plausible est donc que *Cdhr23* et *Pcdh15* soient les supports moléculaires d'interactions entre trois types cellulaires : la microglie, les oligodendrocytes et les interneurons. Ces cellules interagissent au cours du développement afin d'assurer la migration conjointe de progéniteurs neuronaux puis la maturation et le fonctionnement des microcircuits chez l'adulte. Il est également décrit que les problèmes d'interactions entre ces types de cellules sont étroitement liés au développement de troubles mentaux (Peferoen et al. 2014; Bar et Barak 2019), ce qui pourrait être l'une des explications aux liens mis en évidence entre *CDHR23*, *PCDH15* et divers troubles neuropsychiatriques chez l'humain comme Alzheimer, l'autisme ou la schizophrénie (Domanico et al. 2015; Hohman et al. 2016; Lord et Cruchaga 2014; Sorte et al. 2013; Noor et al. 2014; Dammeyer 2012)

La caractérisation spatiale et temporelle de l'expression de ces deux gènes depuis l'embryon jusqu'à P20 et à l'âge adulte devra donc être finement réalisée afin de mieux comprendre leur interaction au cours du développement. Pour ce faire, il faudra éviter l'utilisation d'anticorps contre les épitopes extracellulaires de *cdhr23* et *pcdh15*, technique utilisée dans Libé-Philippot et al. (2017). L'hybridation *in situ* de l'ARNm pourra être privilégiée pour son excellente spécificité.

II) Quels sont les rôles dans le fonctionnement du système auditif des interneurones dépendant de *Cdhr23* et *Pcdh15* au cours du développement ?

L'un des objectifs de mon étude était de comprendre le rôle des interneurones à PV dont le développement dépend de *Cdhr23* et *Pcdh15* dans le traitement des sons par le cortex auditif. J'ai pour cela enregistré l'activité neuronale de plusieurs relais des voies auditives centrales *in vivo* des modèles murins *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO, chez des animaux anesthésiés et des animaux vigiles respectivement.

A. Des modèles aux seuils auditifs préservés

Ces modèles murins d'inactivation conditionnelle des gènes *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO ne devaient pas présenter de déficits auditifs périphériques, puisque l'expression de ces deux gènes, essentielle au fonctionnement de l'oreille, devait être bloquée uniquement dans des progéniteurs neuronaux corticaux. Par l'enregistrement des ABRs, j'ai pu montrer que les souris *Cdhr23* cKO et les souris *Pcdh15* cKO avaient effectivement des seuils auditifs équivalents aux souris CTRL₂₃ et CTRL₁₅ (**Figure 37** et **Figure 54** respectivement). Le système auditif périphérique n'est donc pas atteint par la délétion centrale de *Cdhr23* et *Pcdh15*, montrant ainsi le bon fonctionnement de la construction génétique.

Cependant, cette inactivation conditionnelle des deux gènes étudiés est permise grâce au promoteur du gène *Nkx2.1*. Comme mentionné précédemment, c'est un gène exprimé essentiellement dans la MGE et l'aire pré-optique au cours du développement embryonnaire et qui contrôle, entre autres, le développement précoce des interneurones à PV du cortex. L'hypothèse d'une expression restreinte de *Cdhr23* et *Pcdh15* proposée par mon laboratoire de thèse justifiait l'utilisation du promoteur de *Nkx2.1* pour inactiver ces deux gènes uniquement dans les progéniteurs neuronaux issus de la MGE. Or, au cours de mon travail de thèse, il est apparu évident que *Cdhr23* et *Pcdh15* ont une expression spatiale et temporelle bien plus larges qu'envisagé. En particulier, nous avons montré que *Cdhr23* est exprimé dans de nombreuses régions sous-corticales, ce que de récentes études rapportent aussi (The Human Protein Atlas » protein.org; Sjöstedt et al. 2020; Balan et al. 2021). De plus, le gène *Nkx2.1* est lui aussi exprimé dans d'autres régions du cerveau après la naissance (« Allen Brain Atlas », mouse.brain-map.org ; Lein et al. 2007; Magno et al. 2009). Certains noyaux sous-corticaux expriment les deux gènes *Nkx2.1* et *Cdhr23*. Parmi eux, l'IC, l'un des principaux noyaux auditifs (**Figure 66**). Ainsi, puisque l'inactivation de *Cdhr23* chez les souris *Cdhr23* cKO n'est pas restreinte au

cortex en développement et a sans doute lieu dans d'autres régions du cerveau, dont certaines liées à l'audition, les seuils auditifs *centraux* auraient pu être modifiés sans être la conséquence de déficits périphériques. J'ai pu montrer à l'aide des réponses neuronales à des sons purs d'intensité variable, que les seuils auditifs dans le colliculus inférieur des souris *Cdhr23* cKO anesthésiées étaient comparables entre les souris CTRL₂₃ et *Cdh23* cKO.

De plus, le déficit d'inhibition corticale de ces souris aurait pu entraîner une baisse (amélioration) des seuils de réponse du cortex comme c'est le cas lorsqu'il y a un blocage massif de toute inhibition (Wang et al. 2002) ou bien une augmentation de ces seuils comme lors d'une baisse d'inhibition chronique (détérioration ; Seybold *et al.*, 2012) mais les seuils auditifs corticaux des souris *Cdh23* cKO se sont révélées comparables à ceux des souris CTRL₂₃.

Je n'ai pas pu calculer les seuils centraux des souris *Pcdh15* cKO. Il sera intéressant de le faire notamment si *Pcdh15* est retrouvé dans les noyaux auditifs et régions exprimant aussi *Nkx2.1*.

B. L'inactivation de *Cdhr23* entraîne des défauts fonctionnels dans le cortex auditif et le colliculus inférieur.

Afin d'optimiser l'étude de ces deux modèles, qui pouvaient être initialement considérés comme « interchangeables » puisque ces deux gènes étaient alors considérés comme des marqueurs d'une même population de progéniteurs d'interneurons (Libé-Philippot et al. 2017), je me suis d'abord intéressé au modèle *Cdhr23* cKO, disponible dès le début de ma thèse, en utilisant le système d'enregistrement de l'activité neuronale sur souris anesthésiées qui était disponible dès mon arrivée. J'ai pu comparer de nombreuses caractéristiques des réponses spontanées et évoquées des neurones du cortex auditif et du colliculus inférieur afin de caractériser plus précisément le rôle de la sous-population de neurones inhibiteurs associés à *Cdh23*.

1. L'activité spontanée et évoquée sont modifiées dans le cortex auditif et le colliculus inférieur

Concernant l'activité spontanée et selon l'hypothèse de Bender et ses collègues (Bender et al. 2016), les neurones pyramidaux corticaux possèdent un taux de décharge spontanée maintenu à un faible niveau par les interneurons qui eux, au contraire, présentent un taux élevé de décharge spontanée. Ce mécanisme permettrait de réduire le taux d'erreur des microcircuits corticaux auditifs, c'est-à-dire de réduire la probabilité de considérer un évènement ponctuel spontané comme un évènement évoqué par un son et d'augmenter ainsi la sensibilité des neurones excitateurs aux stimuli sonores préférentiels. Mes résultats (**Figure 38**) ont montré

que le taux de décharge spontanée dans l'AC est augmenté par l'absence d'une partie des interneurons chez les souris *Cdhr23* cKO, en accord avec cette hypothèse. Néanmoins, cette augmentation de l'activité spontanée est surtout présente chez les souris après P35 (**Figure 40**), donc après la période de susceptibilité aux crises audiogènes. Ce résultat est surprenant étant donné que les crises audiogènes sont une manifestation d'une hyperactivité neuronale : on se serait d'abord attendu à observer une augmentation de l'activité spontanée lors de la période de susceptibilité, ou à une augmentation de l'activité spontanée, ce qui n'est le cas. De manière tout aussi surprenante, l'activité neuronale en réponse à un son pur ou à stimulus de type « crise audiogène » (son pur continu pendant 1 minute) n'est pas augmentée chez les souris *Cdhr23* cKO par rapport aux souris CTRL₂₃ dans l'AC, mais elle l'est dans l'IC, et là encore surtout après la période de susceptibilité aux crises audiogènes (**Figure 45**). Cette augmentation retrouvée dans l'IC est cependant cohérente avec notre récente identification de ce noyau auditif comme zone exprimant *Cdhr23* et *Nkx2.1* (voir Résultats **II**)**D.2, Figure 66 et Annexe 3**). Il est possible que les souris *Cdhr23* cKO présentent des défauts dans l'IC en plus de défauts corticaux, et que ces défauts sous-corticaux participent à la genèse et la propagation des crises audiogènes de manière bien plus importante que l'AC.

2. Réduction des champs récepteurs et sensibilité au bruit : un avantage pour la discrimination de sons purs ?

A partir de stimulations par des sons purs, j'ai obtenu les STRFs permettant de caractériser la réponse des neurones à des stimuli bande étroite. La comparaison entre les neurones de l'AC et de l'IC m'a permis de reproduire des résultats connus dans la littérature, comme par exemple les durées de décharge plus longues dans l'IC par rapport à l'AC (Joachimsthaler et al. 2014). Ceci s'explique par le modèle de décharge des neurones des deux aires. Les neurones de l'IC sont majoritairement « steady-state » (ils déchargent tant que le stimulus est présent) et ceux de l'AC plus souvent phasiques (ils ne déchargent qu'au début du stimulus surtout chez un animal anesthésié) (Gourévitch et Eggermont 2007). Dans le cortex auditif, les STRFs des neurones des souris *Cdhr23* cKO présentent une réduction de leur aire. Plusieurs études (Wang et al. 2002; Gaucher et al. 2013) ont pourtant montré qu'un blocage pharmacologique de l'inhibition GABAergique provoque une augmentation de la largeur de bande des neurones. La réduction de l'inhibition chez les souris *Cdhr23* cKO aurait donc pu produire un résultat similaire. Cependant, la souris *Cdhr23* cKO est un modèle d'inhibition chronique : le déficit d'inhibition est présent dès la mise en place des circuits corticaux et notamment pendant les périodes critiques du développement où la plasticité neuronale est

maximale. Dans cette configuration, Seybold et ses collègues (2012) ont obtenu une réduction de la largeur de bande des neurones lors d'une inhibition chronique de l'ensemble des interneurons à somatostatine, qui représente 30 % du total des interneurons corticaux. Même s'il a été montré que les champs récepteurs des interneurons à parvalbumine et à somatostatine n'ont pas les mêmes propriétés, les interneurons à PV ayant par exemple des largeurs de bande plus larges que les interneurons à somatostatine (Li et al. 2015), l'absence d'une sous-population d'interneurons à PV reproduit cet effet en réponse à des sons purs. Cette différence entre réduction aiguë et réduction chronique de l'inhibition vient sans doute de mécanismes de plasticité homéostatique qui ont le temps de se mettre en place et compenser l'hyperactivité neuronale lors d'une réduction chronique (Linden 2012). Mais contrairement à Seybold et al. (2012), je n'ai pas mis en évidence d'augmentation (*i.e* détérioration) des seuils auditifs corticaux, ce qui suggère que la population d'interneurons à PV absente chez les souris *Cdhr23* cKO n'est pas impliquée dans l'établissement de ces seuils.

De plus, les interneurons à PV produisent une inhibition *feedforward* (ou inhibition anticipatrice) qui permet un contrôle rapide des entrées ascendantes provenant du thalamus (Li et al. 2015) et participent à l'amélioration de la précision temporelle des réponses aux stimuli sonores (Wehr et Zador 2003; Moore et Wehr 2013). Une absence de tout ou partie des interneurons à PV pourrait donc modifier certaines propriétés temporelles des réponses neuronales aux sons purs, ce que mes résultats montrent : chez les souris *Cdhr23* cKO, pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes, les durées de réponse et les latences (données non présentées ici) sont augmentées. J'ai retrouvé cette augmentation de la durée de réponse des neurones des souris *Cdhr23* cKO lors de la présentation de trains de clicks (**Figure 43**), des bruits blancs à large bande excitant bien plus les circuits auditifs que des sons purs. Notons enfin que l'utilisation de la grille d'électrode (**Figure 32**) pour identifier la tonotopie corticale m'a permis d'enregistrer essentiellement dans l'aire primaire AI. En revanche, pour les implantations dans les zones répondant aux hautes fréquences (supérieures à 20 kHz), la grille ne me permettait pas de définir clairement la frontière avec l'aire primaire AAF et il est donc possible que des neurones enregistrés soient issus d'AAF. Dans l'AC murin, les champs récepteurs des aires AAF et AI présentent des différences principalement temporelles (latence et durée de réponse plus grande dans AI) mais aussi spectrales (bande de fréquence plus large dans AI) (Linden et al. 2003b). Il sera intéressant de déterminer d'une part si des neurones d'AAF contribuent aux résultats présentés ci-dessus ; d'autre part si les mêmes effets sont retrouvés dans AAF ; enfin de voir si l'absence d'une partie des interneurons à PV modifie les

relations entre ces deux aires, AAF modulant les réponses dans A1 sans que l'inverse ne soit vérifié (Carrasco et Lomber 2009).

Enfin, des défauts d'inhibition *feedforward* pourraient être masqués lors d'une stimulation par des sons purs, qui n'exciteraient pas suffisamment les microcircuits thalamocorticaux pour les mettre en évidence. Pour tester cette hypothèse, nous avons ajouté un bruit blanc constant de 60 dB SPL aux sons purs utilisés pour obtenir les STRFs. L'ajout du bruit permet de renforcer l'excitation des voies auditives, tout en évaluant la capacité des circuits corticaux à extraire les informations pertinentes dans un environnement bruyant, capacité pour laquelle les interneurons à parvalbumine sont nécessaires (Christensen et al. 2019; Lakunina et al. 2022). Dans l'AC sain, l'ajout d'un bruit de fond diminue la réponse des neurones corticaux (Teschner et al. 2016; Christensen et al. 2019), ce qui se traduit ici par une réduction de l'aire des champs récepteurs. Si nous avons bien reproduit ce résultat pour les deux groupes (**Figure 41**), cet effet est plus important chez les souris *Cdhr23* cKO par rapport aux souris CTRL₂₃ : les réponses des neurones des souris *Cdhr23* cKO sont plus sensibles à l'ajout d'un bruit. Christensen et al. (2019) ont montré que l'activation optogénétique des interneurons à PV dans l'AC de souris vigile reproduisait l'impact d'un bruit blanc sur les réponses à des sons purs, et que l'activation de ces interneurons et l'ajout simultané d'un bruit de fond agissaient en synergie. D'après cette étude, les souris *Cdhr23* cKO ayant un déficit en interneurons à PV, on aurait pu retrouver une diminution des effets du bruit chez ces dernières par rapport aux souris CTRL, ce qui n'est pas le cas. Quelle serait la conséquence de cette sensibilité au bruit des souris *Cdhr23* cKO ? De manière contre-intuitive, Christensen et al. (2019) ont aussi montré que le bruit (et l'activation optogénétique des interneurons à PV), en réduisant la largeur de bande des neurones de l'aire A1 de l'AC, augmentait la capacité des souris à discriminer deux sons purs de fréquences proches. L'impact du bruit sur les STRFs étant exacerbé chez les souris *Cdhr23* cKO, il est possible que ces dernières présentent une meilleure capacité de discrimination des sons purs, à moins qu'un effet seuil existe au-delà duquel l'effet du bruit s'inverse. Cette hypothèse pourra être testée grâce à notre système d'études comportementales Audiobox via un paradigme de type *Go/No-Go*, ou bien en utilisant le paradigme d'inhibition du réflexe de sursaut avec des sons purs pour s'affranchir d'un potentiel effet des interneurons à PV sur l'apprentissage reposant sur la discrimination fréquentielle (Aizenberg et al. 2015).

3. Une perte de précision temporelle des neurones du cortex auditif qui n'a pas d'influence sur la perception des sons

La capacité (moyenne) des neurones à suivre des stimuli rapides décroît progressivement tout au long de la voie auditive principale (Joris et al. 2004), principalement en raison d'une augmentation de l'adaptation neuronale (baisse de la réponse à des stimuli répétés). J'ai retrouvé cette propriété dans mes résultats : alors que les neurones de l'IC sont capables de suivre de manière constante des trains de clicks à des cadences de 2 à 32/s, ceux de l'AC présentent une atténuation de leur réponse dès le deuxième click quelle que soit la cadence utilisée (**Figure 42A-B**). La chute du verrouillage de phase pour la cadence de 64/s dans l'IC (**Figure 42B**), retrouvée chez toutes les souris indépendamment de leur génotype, est néanmoins surprenante, puisque des neurones de l'IC sont théoriquement capables de répondre à chaque click même à des cadences de plus de 200 clicks par seconde (Joris et al. 2004), mais peut s'expliquer par une diminution de la proportion de neurones capables de suivre ces cadences. Dans l'AC, chez les souris *Cdhr23* cKO, cette atténuation est bien retrouvée, et semble être égale pour tous les clicks d'une cadence donnée. Natan et al. (2015; 2017) ont montré en utilisant l'optogénétique sur des animaux vigiles que les interneurones à PV inhibent de la même manière lors d'une succession de sons purs, sans être affectés par ce mécanisme d'adaptation, contrairement aux interneurones à somatostatine, ce que mes résultats reproduisent avec l'utilisation de sons à large bande. Cependant, la perte d'une partie des interneurones à PV chez les souris *Cdhr23* cKO ne suffit pas à augmenter significativement le taux de décharge des neurones excitateurs de l'AC comme c'est le cas lors de l'inhibition de l'ensemble des interneurones à PV (Natan et al. 2015; 2017). Cela peut être dû à des compensations au cours du développement déjà évoquées plus haut, au fait qu'assez d'interneurones à PV sont encore présents pour contrôler le taux de décharge des neurones excitateurs au cours de ce mécanisme ou encore aux différences méthodologiques entre ces études et mes travaux. Si le taux de décharge des neurones des souris *Cdhr23* cKO n'est pas augmenté, j'ai observé un allongement de la durée de réponse aux clicks. Cela peut s'expliquer par le type d'inhibition exercée par les interneurones à PV, c'est-à-dire l'inhibition *feedforward*, qui permet la mise en place d'une fenêtre temporelle favorisant l'activité simultanée des neurones excitateurs (Li et al. 2015). La perte d'une partie des interneurones à PV entraîne probablement une augmentation de la fenêtre temporelle de sommation des potentiels excitateurs post-synaptiques et donc de la possibilité de formation de potentiels d'action qui ne seraient pas totalement compensée par le reste des interneurones.

Ensuite, la réponse des neurones de l'AC des souris *Cdh23* cKO a été moins atténuée pour les cadences de clicks les plus faibles. Cet effet est aussi retrouvé lors de l'utilisation de sons purs : mes résultats *Cdhr23* cKO montrent une réduction de l'effet de *forward suppression* (**Figure 44**). Ce résultat est surprenant en regard de l'étude de Phillips et al. (2017), qui a montré que l'inactivation optogénétique des interneurons à PV augmentait l'effet de *forward suppression*, tandis qu'une diminution de la *forward suppression* suivait l'inactivation d'interneurones à somatostatine. Cependant, là encore, d'importantes différences méthodologiques existent. En particulier, j'ai obtenu ces résultats électrophysiologiques sur des animaux anesthésiés : il faudra explorer ce mécanisme de *forward suppression* chez des souris *Cdhr23* cKO éveillées. Néanmoins, comment expliquer cette moindre adaptation pour de grands intervalles interstimuli ? Selon l'hypothèse de Wehr et Zador (2005), l'adaptation pour des intervalles interstimuli supérieurs à 100 ms implique probablement une dépression synaptique. L'origine de la réduction des mécanismes de dépression synaptique et les conséquences comportementales que cela pourrait avoir chez les souris *Cdhr223* cKO reste à explorer. L'adaptation neuronale est considérée comme un mécanisme permettant d'ignorer des informations redondantes et de faciliter la détection de modifications de l'environnement. On peut imaginer qu'accorder une même importance à chaque occurrence d'un même stimulus répété peut entraîner une augmentation du stress provoquée par les sons d'un environnement donné et réduire la capacité à percevoir un son inattendu et à y associer le bon comportement. A contrario, une diminution de la *forward suppression* pourrait faciliter la détection des *gaps* dans un bruit blanc puisqu'une augmentation de la réponse corticale après un *gap* augmente la capacité de détection de ce *gap* (Weible et al. 2014b).

Enfin, malgré les modifications des réponses neuronales par rapport aux souris CTRL₂₃, la perte en interneurons à parvalbumine n'a pas eu de conséquence sur les capacités de discrimination temporelles des souris *Cdhr23* cKO. Notamment, je n'ai pas mis en évidence une meilleure capacité de détection des *gaps* comme aurait pu le suggérer la réduction de l'adaptation neuronale. Je n'ai effectué des tests que sur des cohortes de souris pleinement adultes, plutôt âgées (2 à 4 mois), contrairement aux expériences électrophysiologiques menées avant P45, ce qui peut expliquer l'absence de différences entre les souris *Cdhr23* cKO et les souris CTRL₂₃. Il sera donc essentiel d'étudier la perception des sons chez des souris *Cdhr23* cKO plus jeunes, notamment pendant la période critique du développement.

4. Les réponses neuronales changent au cours du développement

La susceptibilité des souris *Cdhr23* cKO aux crises audiogènes est maximale autour de P20 puis décline jusqu'à totalement disparaître après P35, suggérant que la plasticité des circuits auditifs compense l'hyperactivité neuronale à l'origine de ces crises. J'ai analysé les données obtenues en fonction de deux groupes d'âges, avant P35 (pendant la période de susceptibilité aux crises audiogènes) et après P35, afin d'étudier si les conséquences de la perte en interneurons à PV variaient selon l'âge. Mon hypothèse était que les défauts fonctionnels mis en évidence chez les souris *Cdhr23* cKO seraient majorés chez les animaux les plus jeunes, et peu ou pas présents chez les plus âgés. Mes résultats ont plutôt montré que la diminution importante du nombre d'interneurons à PV n'avait pas la même conséquence sur l'activité des neurones auditifs en fonction de l'âge. Avant P35, les défauts observés touchent les caractéristiques temporelles des réponses neuronales, et davantage les caractéristiques fréquentielles après P35. Comment comprendre ces résultats ? Tout d'abord, l'enregistrement de l'activité neuronale chez les souris les plus jeunes est plus complexe que les souris âgées, en particulier pour les souris *Cdhr23* cKO. La petite taille des animaux, la souplesse du crâne qui n'est pas encore totalement solidifié, ou encore des réactions plus variables à l'anesthésie rendent l'étape de chirurgie plus difficile et augmentent le risque d'endommager les zones d'intérêt. Ainsi, les résultats électrophysiologiques souffrent probablement d'une plus grande variabilité chez les souris les plus jeunes par rapport à celle plus âgées et devront être confirmés en augmentant par exemple le nombre d'animaux testés. Ensuite, l'AC possède différentes périodes critiques (voir Introduction **II**)C.2.b) qui se succèdent de manière séquentielle et il est possible d'en manipuler une (la retarder ou l'avancer) sans modifier les suivantes (Nakamura et al. 2020). Or, ces périodes critiques sont sous le contrôle de l'inhibition (Takesian et al. 2018a). En particulier, manipuler soit l'activité, soit le nombre d'interneurons à PV corticaux pendant le développement post-natal permet de contrôler le début et la fin de ces périodes critiques (Bhumika et al. 2020) et même d'en reproduire les caractéristiques chez la souris adulte (Cisneros-Franco et Villers-Sidani 2019; Rupert et Shea 2022). Il n'est donc pas surprenant de retrouver chez les souris *Cdhr23* cKO des différences d'activité évoquée dans l'AC entre les deux groupes d'âge. Cependant, il est troublant de voir qu'après P35 les caractéristiques les plus modifiées chez ces souris soient les caractéristiques spectrales, car l'une des premières périodes critiques chez les rongeurs concerne justement les réponses aux sons purs (à la fin de la 2^{ème} semaine post-natale ; de Villers-Sidani et al. 2007), tandis que certaines caractéristiques temporelles mûrissent jusqu'à la 4^{ème} semaine post-natale (Chang et

al. 2005). Chez les souris *Cdhr23* cKO, les différences observées entre les caractéristiques de l'activité neuronale après P35 par rapport à celles avant P35 pourraient donc souligner une désorganisation des différentes périodes critiques, ou même une réactivation de certaines d'entre elles provoquée par l'absence d'une partie des interneurons à PV (Cisneros-Franco et Villers-Sidani 2019).

5. La cre-recombinase perturbe-t-elle le fonctionnement des circuits neuronaux ?

L'utilisation du système Cre-lox est un puissant outil largement utilisé en neurosciences et permettant le contrôle spatiotemporel de l'expression de gènes d'intérêt. Cependant, plusieurs études ont montré que l'expression de la cre-recombinase peut avoir un effet délétère sur les cellules qui l'expriment (Schmidt-Supprian et Rajewsky 2007). En particulier, Kim et al. (2013) ont montré que l'expression chez les souris *Emx1*-cre et *Dlx5/6*-cre d'une cre-recombinase dans des neurones excitateurs et inhibiteurs, respectivement, augmentait la sensibilité des souris aux crises convulsives induites pharmacologiquement, sans qu'elles présentent pourtant de problème comportemental ou de santé. Afin de m'assurer de l'absence de modifications induites par la seule expression de la cre-recombinase lors de l'utilisation de mes modèles murins conditionnel, j'ai utilisé deux groupes d'animaux contrôles, l'un n'exprimant que les séquences lox (souris CTRL₂₃), l'autre uniquement la cre-recombinase (souris CTRLcre). J'ai montré que les neurones des souris CTRLcre présentaient parfois des réponses aux sons différentes par rapport aux souris CTRL₂₃ et *Cdhr23* cKO, souvent intermédiaire aux deux autres groupes. Cela suggère que la cre-recombinase modifie l'activité des neurones l'exprimant, ainsi que le traitement des sons par l'AC et participerait donc au phénotype des souris *Cdhr23* cKO sans totalement l'expliquer. Ces résultats devront cependant être reproduits et confirmés, en augmentant le nombre d'animaux CTRLcre étudiés et en réduisant le nombre de facteurs confondants entre ces trois groupes par exemple. En effet, les souris CTRLcre ne provenaient pas des mêmes portées que les souris CTRL et *Cdhr23* cKO, ni du même élevage au sein de l'Institut Pasteur et je n'ai pas pu, en raison de la crise sanitaire et du déménagement de notre laboratoire à l'Institut de l'Audition, faire reproduire ces trois groupes au même endroit. Notons que la production de ces trois groupes dans une même portée est compliquée par la possibilité de recombinaison dans la lignée germinale lorsque la cre est apportée par la femelle.

C. L'inactivation de *Pcdh15* : un possible allongement de la période critique de développement ?

J'ai utilisé la lignée murine *Pcdh15* cKO pour mettre en place le système d'enregistrement sur souris vigiles de mon laboratoire d'accueil. Sur ces animaux vigiles, j'ai pu enregistrer l'activité extracellulaire des neurones de l'AC uniquement, et seulement chez des souris âgées de plus de 6 semaines. J'ai cependant profité de mes travaux de développement de systèmes d'études des déficits centraux chez la souris (voir 0) pour mesurer les CAEPs chez des souris *Pcdh15* cKO et CTRL₁₅ anesthésiées au moment où la susceptibilité aux crises audiogènes est la plus forte (P20) et j'ai aussi profité de l'installation récente d'un système de mesure du réflexe de sursaut à l'Institut de l'Audition pour étudier l'évolution de la perception des *gaps* chez ces souris pendant et après la période de susceptibilité aux crises audiogènes. Cela m'a permis d'obtenir des données fonctionnelles et comportementales chez des animaux plus jeunes, apportant ainsi des informations sur l'impact au cours du développement et chez l'adulte de la réduction de l'inhibition chez les souris *Pcdh15* cKO.

1. Réponses à un son pur et influence du bruit

Mes résultats n'ont pas mis en évidence de modification importante des STRFs chez les souris *Pcdh15* cKO par rapport aux souris CTRL₁₅ (**Figure 46**). Alors qu'on aurait pu s'attendre à obtenir des effets similaires aux souris *Cdhr23* cKO, seuls deux paramètres sont modifiés : les neurones des souris *Pcdh15* cKO ont des largeurs de bandes plus faibles et un ratio activité évoquée sur activité spontanée plus important que les souris CTRL₁₅. En revanche, les neurones corticaux des souris *Pcdh15* cKO sont moins sensibles à l'ajout d'un bruit blanc lors de la présentation de sons purs que ceux des souris CTRL₁₅ (**Figure 48**). Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus sur les souris *Cdhr23* cKO, et donc plus proches de ceux obtenus par Christensen et al. (2019) et déjà discutés ci-dessus. Il est donc possible que les souris *Pcdh15* cKO présentent des difficultés à extraire des informations pertinentes dans un environnement bruyant.

2. Les neurones des souris *Pcdh15* cKO répondent plus fortement à des sons large bande

Si la réponse neuronale à des sons purs est peu modifiée chez les souris *Pcdh15* cKO, mes résultats montrent une augmentation de la réponse à des sons large bande comme les clicks (**Figure 49**), à certains sons complexes comme des vocalisations (**Figure 53**), ou encore à des *gaps* dans un bruit blanc continu (**Figure 51**). De plus, la durée de réponse à ces stimuli est

allongée, comme pour les souris *Cdhr23* cKO. Chez ces dernières cependant, le taux de décharge des neurones corticaux en réponse à ce type de stimuli n'est pas modifié, notamment lors d'une succession de clicks, contrairement à ce qu'on aurait pu attendre d'après certaines études (Natan et al. 2015; 2017). Pour expliquer cette différence entre mes données issues des souris *Cdhr23* cKO et ces études, j'ai proposé ci-dessus l'hypothèse qu'assez d'interneurones à PV étaient encore présents pour contrôler l'excitation de neurones pyramidaux. Les résultats obtenus chez les souris *Pcdh15* cKO m'amènent à proposer une autre hypothèse : chez un modèle murin « chronique », la perte en interneurones à PV entraînerait une désinhibition des circuits corticaux lors d'une stimulation massive par des sons large bande chez des animaux vigiles, et ce phénomène peut être masqué par l'anesthésie chez les souris *Cdhr23* cKO. Notons que chez les souris *Pcdh15* cKO, la mesure des CAEPs montre une diminution de l'amplitude de la réponse corticale. Ce résultat est là encore surprenant puisque les CAEPs ont été enregistrés au moment où la susceptibilité aux crises audiogènes est la plus forte. Il n'est pas impossible que les souris *Pcdh15* cKO soient plus sensibles à l'anesthésie que les souris CTRL₁₅ et il faudra effectuer des enregistrements électrophysiologiques sur des jeunes souris vigiles pour s'en assurer.

3. Le développement de la perception des *gaps* est altéré chez les souris *Pcdh15* cKO

L'un des résultats les plus intéressants obtenu avec les souris *Pcdh15* cKO concerne leur capacité à détecter des *gaps* dans un bruit blanc continu (**Figure 59**). Les neurones corticaux des souris *Pcdh15* cKO répondent, chez des animaux adultes vigiles, de manière plus forte aux *gaps* que ceux des souris CTRL₁₅, ce qui pourrait entraîner une augmentation de la capacité des souris à détecter un *gap* (Weible et al. 2014). Pour tester la capacité des souris à percevoir des *gaps*, j'ai utilisé le paradigme d'inhibition du réflexe de sursaut : dans un bruit blanc continu, un bref silence quelques instants avant un son fort diminue le sursaut provoqué par ce dernier. Ce paradigme ne nécessite aucun apprentissage, contrairement aux tests de discriminations de type *Go/No-Go* que j'ai réalisés sur des souris adultes, et peut donc être appliqué à n'importe quel moment du développement. J'ai donc testé si la perception des *gaps* évoluait au cours de la période critique du développement. Chez les souris CTRL₁₅, le réflexe de sursaut est d'abord accentué pour des *gaps* courts (<10 ms) et peu atténué pour des *gaps* plus longs chez des animaux jeunes. L'atténuation quelle que soit la durée du *gap* se développe progressivement entre P19 et P44. Ce résultat est en accord avec une récente étude (Kaylegian et al. 2019) qui mentionne pour la première fois chez la souris ce développement progressif de la capacité à

détecter des *gaps*, déjà mis en évidence chez le rat (Friedman et al. 2004) et l'humain (Smith et al. 2006). En revanche, la facilitation du réflexe de sursaut en présence d'un *gap* court (< 10 ms) chez les jeunes souris (P19-P26) n'est pas discutée par Kaylegian et al. (2019) qui montrent pourtant un phénomène similaire à ce que j'ai pu observer, phénomène qui ne semble pas avoir lieu chez le rat (Friedman et al. 2004). La théorie sur laquelle s'appuie le paradigme d'inhibition du réflexe de sursaut par un *gap* affirme que si un *gap* est perçu par l'animal en bonne santé quelques instants avant le son *pulse*, le sursaut sera atténué, tandis que si l'animal ne perçoit pas le *gap*, le sursaut sera aussi fort qu'en l'absence de *gap*. La facilitation du sursaut chez des jeunes souris suggère qu'elles sont capables de le percevoir, mais que le circuit associé à la modulation du réflexe n'est pas mature.

En revanche, chez les souris *Pcdh15* cKO, je n'ai pas observé cette facilitation du réflexe de sursaut chez les jeunes (P19-P26) : l'amplitude du sursaut en réponse au son *pulse* reste la même qu'en absence de *gaps*. De plus, cette amplitude est quasiment identique dans les intervalles d'âges [P19-P26] et [P28-P44] pour des *gaps* courts (≤ 10 ms). Pour des *gaps* de plus de 25 ms cependant, l'atténuation du réflexe s'est bien accentuée entre les deux groupes d'âges. Des études ont montré que l'AC était nécessaire pour détecter les *gaps* les plus brefs (≤ 50 ms) ce qui n'est pas le cas pour les *gaps* plus long (75-100 ms) (Ison et al. 1991; Threlkeld et al. 2008). De plus, l'inactivation des interneurons à PV maintient ou ramène l'AC à un état de plasticité importante similaire à celui pendant les périodes critiques du développement (Cisneros-Franco et Villers-Sidani 2019; Rupert et Shea 2022). Ainsi, il est possible que l'absence d'une partie des interneurons à PV chez les souris *Pcdh15* cKO retarde la fermeture de la période critique de développement nécessaire à la perception de certaines propriétés temporelles telles que la détection des *gaps*. De plus, une réduction de l'inhibition corticale chez l'animal jeune entraîne une dérégulation de la plasticité corticale chez le rat âgé (Cisneros-Franco et al. 2018). Si je n'ai pas exploré les conséquences de la perte d'une partie des interneurons à PV chez les souris *Pcdh15* cKO âgées, il se pourrait donc que ces souris, en plus de présenter un retard de maturation de certaines caractéristiques de réponses neuronales, soient plus rapidement et plus fortement affectées par des déficits auditifs centraux liés à l'âge. Enfin, les souris *Pcdh15* cKO pourraient être rendues beaucoup plus sensibles à une exposition passive à un son pur (qui induit une surreprésentation neurale seulement en période critique ou après conditionnement chez l'adulte) ou à un bruit continu pendant le développement (qui permet de maintenir la période critique au-delà de sa durée normale).

D. Les interneurones à parvalbumine dépendant de *Cdhr23* et *Pcdh15* forment-ils bien une même sous-population ?

La remise en question de certains résultats sur lesquels reposaient l'étude fonctionnelle que j'ai conduite (voir Résultats **II**D, Discussion **DA-C**) sur les souris *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO et les différences de résultats entre ces deux lignées que j'ai obtenus conduisent à se poser au moins une question : est-ce bien la même sous-population d'interneurones à PV qui est absente dans ces deux lignées et dans une même proportion ? Une première étape pour tenter d'y répondre sera de reproduire les comptages du nombre d'interneurones à PV chez ces deux lignées, en augmentant le nombre d'animaux, afin de mettre en évidence de possibles différences entre elles. De plus, il serait pertinent de ne pas se limiter à l'AC, et de s'intéresser plus en détails à d'autres types d'interneurones, aux cellules gliales et à d'autres aires corticales sensorielles. Bien qu'aucune modification du nombre d'interneurones à PV n'ait été mise en évidence précédemment, mes résultats remettent en question une restriction de cette réduction à l'AC. Ce travail est en cours en utilisant le logiciel NeuroInfo Studio (MbfBiosciences) qui permet entre autres l'identification précise des différentes aires cérébrales sur plusieurs tranches d'un même cerveau et réduit donc les erreurs d'identification des zones d'intérêt.

Ensuite, l'un des intérêts initiaux des souris *Cdhr23* cKO et *Pcdh15* cKO résidait dans l'apparente origine corticale des crises audiogènes. Concernant *Cdhr23*, les résultats électrophysiologiques, ainsi que l'étude de l'expression de *Cdhr23* grâce à la lignée murine *Cdhr23cre*, suggèrent une implication de l'IC dans les crises, et nous avons déjà évoqué que des défauts fonctionnels de l'IC peuvent à eux seuls expliquer une susceptibilité aux crises audiogènes (voir Introduction **IV**B.3). L'utilisation de l'optogénétique avec la lignée murine *Cdhr23cre* pourrait permettre de comprendre si l'IC joue bien un rôle dans les crises des souris *Cdhr23* cKO. Concernant *Pcdh15*, les données quant à une expression sous-corticale sont encore manquantes, mais l'inactivation dans l'AC de l'expression de ce gène est suffisante pour induire des crises audiogènes (Libé-Philippot et al. 2017). Ainsi, pour *Pcdh15*, l'origine corticale des crises audiogènes est possible.

III) Perspectives : un rôle de *Cdhr23* et *Pcdh15* dans les maladies neuropsychiatriques ?

J'ai entamé ce travail de thèse à la suite d'une étude de mon laboratoire de thèse (Libé-Philippot et al. 2017) qui montrait que l'inactivation, même mono-allélique, de deux gènes de surdité, *Cdhr23* et *Pcdh15*, entraînait une réduction importante du nombre d'interneurones à PV dans l'AC. Cette réduction de l'inhibition, dont les conséquences sur le traitement des informations auditives par l'AC est encore inconnue, pourrait être à l'origine de l'altération de la perception auditive chez certains patients sourds malgré leurs implants cochléaires (Wu et al. 2015). De plus, cette réduction de l'inhibition soulève la possibilité que chez des personnes porteuses d'une mutation mono-allélique d'un de ces deux gènes, qui ne présentent aucun défaut auditif périphérique (mutation récessive), des troubles auditifs centraux puissent avoir été ignorés. J'ai donc cherché à comprendre l'impact de ce défaut d'inhibition corticale sur le traitement des informations auditives par l'AC. Mes résultats montrent que, chez la souris, la perte d'une partie des interneurones à PV dans l'AC n'entraîne pas de défaut majeur de traitement de l'information auditive. Les altérations spectrales et temporelles mises en évidence chez la souris n'ont pas de conséquence comportementale à l'âge adulte bien que mes résultats suggèrent un retard dans la maturation de l'AC lié au gène *Pcdh15* dans le traitement de certaines caractéristiques temporelles comme la perception des *gaps*. D'après ces résultats, on peut raisonnablement penser que si une telle perte d'inhibition existe chez l'humain, elle n'aura pas d'impact majeur chez les patients. Cependant, *CDHR23* et *PCDH15* sont associés à différentes troubles psychiatriques tels que la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie, l'autisme ou les troubles bipolaires (Domanico et al. 2015; Hohman et al. 2016; Lord et Cruchaga 2014; Sorte et al. 2013; Noor et al. 2014; Dammeyer 2012). L'hypothèse développée par mon laboratoire de thèse suggérait que ces deux gènes de surdité étaient exprimés par des progéniteurs d'interneurones à PV dont ils contrôlaient la migration et leur maturation dans l'AC. Le lien entre *CDHR23*, *PCDH15* et des maladies neuropsychiatriques pourrait donc être cette perte en interneurones à PV dans l'AC, qui, en altérant le fonctionnement du système auditif central, pourrait favoriser l'apparition ou aggraver ces pathologies et certains de leurs symptômes. Mes résultats amènent à repenser ce lien.

Je n'ai pas mis en évidence de déficit auditif central majeur chez les souris *Cdhr23* cKO. En particulier, ces souris ont montré d'aussi bonnes performances que les souris CTRL₂₃ dans les tâches psychoacoustiques auxquelles elles ont été soumises. Cependant, les souris *Cdhr23* cKO n'avaient pas la même manière d'effectuer ces tâches (voir Résultats **II**)C.1). Cela pourrait

être lié à des modifications d'autres circuits, notamment ceux liés à l'attention et l'anxiété, car j'ai mis en évidence une expression de *Cdhr23* bien au-delà de l'AC. De plus, mes données suggèrent que *Cdhr23* est principalement exprimé dans des cellules de la microglie. Au regard de l'importance de la microglie pour le système nerveux central, il n'est pas surprenant que des dysfonctionnements de la microglie soient de plus en plus évoqués comme étant des acteurs majeurs, voire à l'origine, de certaines pathologies neurologiques (Mosser et al. 2017), comme la maladie d'Alzheimer (Hansen et al. 2018). Ainsi, les troubles neurologiques associés à *CDHR23*, tel qu'Alzheimer (Hohman et al. 2016; Lord et Cruchaga 2014; Tang et al. 2020), pourraient être favorisés non pas par des défauts spécifiques au système auditif central, mais par un rôle de *CDHR23* dans la microglie corticale.

Finalement, c'est chez les souris *Pcdh15* cKO que j'ai mis en évidence un défaut de perception auditive qui pourrait expliquer à lui seul les troubles de la perception de la parole persistant chez des patients porteurs de mutations pathologiques de *PCDH15* ayant des implants cochléaires (Wu et al. 2015) ou chez des patients atteints de troubles psychiatriques (Sorte et al. 2013; Noor et al. 2014; Fromer et al. 2014). En effet, la perception des *gaps* est un phénomène important impliqué dans la compréhension du langage. Chez les souris *Pcdh15* cKO, le développement de la perception des *gaps* est altéré. Néanmoins j'ai aussi pu mettre en évidence que *Pcdh15* n'est pas uniquement exprimé dans des progéniteurs d'interneurons à PV. Il semblerait même que la principale population exprimant ce gène soit constituée d'oligodendrocytes et leurs progéniteurs, et que cette expression ne soit pas restreinte à l'AC mais répartie dans l'ensemble du néocortex. Or, les oligodendrocytes interagissent fortement avec les neurones excitateurs et inhibiteurs, dont ils forment la gaine de myéline, et certains ont la même origine embryonnaire (la MGE) que les interneurons à PV. Des altérations de ces cellules ou de leur interactions avec les neurones sont liées à des troubles psychiatriques comme la schizophrénie (Benamer 2020). Il est donc possible que le gène *PCDH15* soit impliqué dans des pathologies neuropsychiatriques à la fois via son rôle dans le système auditif et via des altérations d'autres régions corticales.

Ainsi, mes travaux suggèrent fortement que deux gènes de surdité, *CDHR23* et *PCDH15*, ont un rôle dans le développement et le fonctionnement du système nerveux central bien au-delà du système auditif. Il est possible que d'autres gènes de surdité, associés chez la souris à une susceptibilité aux crises audiogènes, possèdent un rôle similaire. Il faudra explorer cette hypothèse afin d'optimiser les techniques de réhabilitation auditive mais aussi de mieux comprendre les maladies neuropsychiatriques.

Références

- Ahmed, Z. M., S. Riazuddin, S. L. Bernstein, Z. Ahmed, S. Khan, A. J. Griffith, R. J. Morell, T. B. Friedman, S. Riazuddin, et E. R. Wilcox. 2001. « Mutations of the Protocadherin Gene PCDH15 Cause Usher Syndrome Type 1F ». *American Journal of Human Genetics* 69 (1): 25-34. <https://doi.org/10.1086/321277>.
- Ahmed, Zubair M., Richard Goodyear, Saima Riazuddin, Ayala Lagziel, P. Kevin Legan, Martine Behra, Shawn M. Burgess, et al. 2006. « The Tip-Link Antigen, a Protein Associated with the Transduction Complex of Sensory Hair Cells, Is Protocadherin-15 ». *Journal of Neuroscience* 26 (26): 7022-34. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1163-06.2006>.
- Aizenberg, Mark, Laetitia Mwilambwe-Tshilobo, John J. Briguglio, Ryan G. Natan, et Maria N. Geffen. 2015. « Bidirectional Regulation of Innate and Learned Behaviors That Rely on Frequency Discrimination by Cortical Inhibitory Neurons ». *PLOS Biology* 13 (12): e1002308. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002308>.
- Alagramam, K. N., H. Yuan, M. H. Kuehn, C. L. Murcia, S. Wayne, C. R. Srisailpathy, R. B. Lowry, et al. 2001. « Mutations in the Novel Protocadherin PCDH15 Cause Usher Syndrome Type 1F ». *Human Molecular Genetics* 10 (16): 1709-18.
- Alford, B. R., et R. J. Ruben. 1963. « Physiological, Behavioral and Anatomical Correlates of the Development of Hearing in the Mouse ». *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology* 72 (1): 237-47. <https://doi.org/10.1177/000348946307200119>.
- Alvarado, Juan Carlos, Verónica Fuentes-Santamaría, et José M. Juiz. 2021. « Frailty Syndrome and Oxidative Stress as Possible Links Between Age-Related Hearing Loss and Alzheimer's Disease ». *Frontiers in Neuroscience* 15: 816300. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.816300>.
- Anomal, Renata Figueiredo, Etienne de Villers-Sidani, Juliana Alves Brandão, Rebecca Diniz, Marcos R. Costa, et Rodrigo N. Romcy-Pereira. 2015. « Impaired Processing in the Primary Auditory Cortex of an Animal Model of Autism ». *Frontiers in Systems Neuroscience* 9: 158. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00158>.
- Antunes, Flora M., et Manuel S. Malmierca. 2014. « An Overview of Stimulus-Specific Adaptation in the Auditory Thalamus ». *Brain Topography* 27 (4): 480-99. <https://doi.org/10.1007/s10548-013-0342-6>.
- Arnal, Luc H., Adeen Flinker, Andreas Kleinschmidt, Anne-Lise Giraud, et David Poeppel. 2015. « Human Screams Occupy a Privileged Niche in the Communication Soundscape ». *Current biology : CB* 25 (15): 2051-56. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.06.043>.
- Arnal, Luc H., Andreas Kleinschmidt, Laurent Spinelli, Anne-Lise Giraud, et Pierre Mégevand. 2019. « The Rough Sound of Salience Enhances Aversion through Neural Synchronisation ». *Nature Communications* 10 (1): 3671. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11626-7>.
- Assad, John A., Gordon M.G. Shepherd, et David P. Corey. 1991. « Tip-Link Integrity and Mechanical Transduction in Vertebrate Hair Cells ». *Neuron* 7 (6): 985-94. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90343-X](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90343-X).
- Avan, Paul, Sébastien Le Gal, Vincent Michel, Typhaine Dupont, Jean-Pierre Hardelin, Christine Petit, et Elisabeth Verpy. 2019. « Otogelin, Otogelin-like, and Stereocilin Form Links Connecting Outer Hair Cell Stereocilia to Each Other and the Tectorial Membrane ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (51): 25948-57. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902781116>.
- Bahloul, Amel, Vincent Michel, Jean-Pierre Hardelin, Sylvie Nouaille, Sylviane Hoos, Anne Houdusse, Patrick England, et Christine Petit. 2010. « Cadherin-23, myosin VIIa and harmonin, encoded by Usher syndrome type I genes, form a ternary complex and

- interact with membrane phospholipids ». *Human Molecular Genetics* 19 (18): 3557-65. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq271>.
- Bahloul, Amel, Elise Pepermans, Bertrand Raynal, Nicolas Wolff, Florence Cordier, Patrick England, Sylvie Nouaille, et al. 2017. « Conformational Switch of Harmonin, a Submembrane Scaffold Protein of the Hair Cell Mechano-electrical Transduction Machinery ». *FEBS Letters* 591 (15): 2299-2310. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12729>.
- Baizer, Joan S., Senthilvelan Manohar, Nicholas A. Paolone, Nadav Weinstock, et Richard J. Salvi. 2012. « Understanding Tinnitus: The Dorsal Cochlear Nucleus, Organization and Plasticity ». *Brain Research* 1485 (novembre): 40-53. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.03.044>.
- Balan, Shabeesh, Tetsuo Ohnishi, Akiko Watanabe, Hisako Ohba, Yoshimi Iwayama, Manabu Toyoshima, Tomonori Hara, et al. 2021. « Role of an Atypical Cadherin Gene, *Cdh23* in Prepulse Inhibition, and Implication of *CDH23* in Schizophrenia ». *Schizophrenia Bulletin*, n° sbab007 (février). <https://doi.org/10.1093/schbul/sbab007>.
- Bandyopadhyay, Sharba, Shihab A Shamma, et Patrick O Kanold. 2010. « Dichotomy of Functional Organization in the Mouse Auditory Cortex ». *Nature Neuroscience* 13 (3): 361-68. <https://doi.org/10.1038/nn.2490>.
- Bar, Ela, et Boaz Barak. 2019. « Microglia Roles in Synaptic Plasticity and Myelination in Homeostatic Conditions and Neurodevelopmental Disorders ». *Glia* 67 (11): 2125-41. <https://doi.org/10.1002/glia.23637>.
- Barkat, Tania Rinaldi, Daniel B Polley, et Takao K Hensch. 2011. « A critical period for auditory thalamocortical connectivity ». *Nature neuroscience* 14 (9): 1189-94. <https://doi.org/10.1038/nn.2882>.
- Bartheld, Christopher S. von, Jami Bahney, et Suzanaerculano-Houzel. 2016. « The Search for True Numbers of Neurons and Glial Cells in the Human Brain: A Review of 150 Years of Cell Counting ». *The Journal of comparative neurology* 524 (18): 3865-95. <https://doi.org/10.1002/cne.24040>.
- Batrel, Charlène. 2014. « Nouvelle méthode d'exploration fonctionnelle du nerf auditif ». Médecine humaine et pathologie, Université Montpellier I.
- Békésy, Georg von. 1928. « Zur Theorie des Hörens; die Schwingungsform der Basilarmembran ». *Phys Zeits*, 1928, sect. 29:793–810.
- Békésy, Georg von, et Ernest Glen Wever. 1960. *Experiments in Hearing*. New York: McGraw-Hill.
- Belyantseva, I. A., E. T. Boger, et T. B. Friedman. 2003. « Myosin XVa Localizes to the Tips of Inner Ear Sensory Cell Stereocilia and Is Essential for Staircase Formation of the Hair Bundle ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (24): 13958-63. <https://doi.org/10.1073/pnas.2334417100>.
- Benamer, Najate, Marie Vidal, et Maria Cecilia Angulo. 2020. « The Cerebral Cortex Is a Substrate of Multiple Interactions between GABAergic Interneurons and Oligodendrocyte Lineage Cells ». *Neuroscience Letters* 715 (janvier): 134615. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134615>.
- Ben-Ari, Yehezkel. 2002. « Excitatory Actions of Gaba during Development: The Nature of the Nurture ». *Nature Reviews Neuroscience* 3 (9): 728-39. <https://doi.org/10.1038/nrn920>.
- Bender, David A., Ruiye Ni, et Dennis L. Barbour. 2016. « Spontaneous activity is correlated with coding density in primary auditory cortex ». *Journal of Neurophysiology* 116 (6): 2789-98. <https://doi.org/10.1152/jn.00474.2016>.
- Bhumika, Stitipragyan, Mari Nakamura, Patricia Valerio, Magdalena Solyga, Henrik Lindén, et Tania R. Barkat. 2020. « A Late Critical Period for Frequency Modulated Sweeps in

- the Mouse Auditory System ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 30 (4): 2586-99. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz262>.
- Bi, Danlei, Lang Wen, Zujun Wu, et Yong Shen. 2020. « GABAergic Dysfunction in Excitatory and Inhibitory (E/I) Imbalance Drives the Pathogenesis of Alzheimer's Disease ». *Alzheimer's & Dementia* 16 (9): 1312-29. <https://doi.org/10.1002/alz.12088>.
- Bizley, J. K. 2017. « Chapter 26 - Audition ». In *Conn's Translational Neuroscience*, édité par P. Michael Conn, 579-98. San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802381-5.00042-7>.
- Bohlen, Christopher J., Brad A. Friedman, Borislav Dejanovic, et Morgan Sheng. 2019. « Microglia in Brain Development, Homeostasis, and Neurodegeneration ». *Annual Review of Genetics* 53 (1): 263-88. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043515>.
- Bonnet, C., M. Louha, N. Loundon, N. Michalski, E. Verpy, L. Smagghe, J.-P. Hardelin, et al. 2013. « Biallelic Nonsense Mutations in the Otogelin-like Gene (OTOGL) in a Child Affected by Mild to Moderate Hearing Impairment ». *Gene* 527 (2): 537-40. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.06.044>.
- Bork, J. M., L. M. Peters, S. Riazuddin, S. L. Bernstein, Z. M. Ahmed, S. L. Ness, R. Polomeno, et al. 2001. « Usher Syndrome 1D and Nonsyndromic Autosomal Recessive Deafness DFNB12 Are Caused by Allelic Mutations of the Novel Cadherin-like Gene CDH23 ». *American Journal of Human Genetics* 68 (1): 26-37. <https://doi.org/10.1086/316954>.
- Boshans, Linda L., Amin Sherifat, et Akiko Nishiyama. 2020. « The Effects of Developmental and Current Niches on Oligodendrocyte Precursor Dynamics and Fate ». *Neuroscience Letters* 715 (janvier): 134593. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134593>.
- Boucher, Sophie, Fabienne Wong Jun Tai, Sedigheh Delmaghani, Andrea Lelli, Amrit Singh-Estivalet, Typhaine Dupont, Magali Niasme-Grare, et al. 2020. « Ultrarare Heterozygous Pathogenic Variants of Genes Causing Dominant Forms of Early-Onset Deafness Underlie Severe Presbycusis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (49): 31278-89. <https://doi.org/10.1073/pnas.2010782117>.
- Boulanger, Jenna J., et Claude Messier. 2017. « Oligodendrocyte Progenitor Cells Are Paired with GABA Neurons in the Mouse Dorsal Cortex: Unbiased Stereological Analysis ». *Neuroscience* 362 (octobre): 127-40. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.08.018>.
- Bowl, Michael R., Michelle M. Simon, Neil J. Ingham, Simon Greenaway, Luis Santos, Heather Cater, Sarah Taylor, et al. 2017. « A Large Scale Hearing Loss Screen Reveals an Extensive Unexplored Genetic Landscape for Auditory Dysfunction ». *Nature Communications* 8 (1): 886. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00595-4>.
- Bregestovski, Piotr, et Christophe Bernard. 2012. « Excitatory GABA: How a Correct Observation May Turn Out to be an Experimental Artifact ». *Frontiers in Pharmacology* 3. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2012.00065>.
- Brosch, M, et C E Schreiner. 1997. « Time Course of Forward Masking Tuning Curves in Cat Primary Auditory Cortex ». *Journal of Neurophysiology* 77 (2): 923-43.
- Brownell, W. E., C. R. Bader, D. Bertrand, et Y. de Ribaupierre. 1985. « Evoked Mechanical Responses of Isolated Cochlear Outer Hair Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 227 (4683): 194-96.
- Browning, R. A. 1986. « VII. Neuroanatomical Localization of Structures Responsible for Seizures in the GEPR: Lesion Studies ». *Life Sciences* 39 (10): 857-67. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90367-X](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90367-X).

- Butt, Simon J. B., Vitor H. Sousa, Marc V. Fuccillo, Jens Hjerling-Leffler, Goichi Miyoshi, Shioko Kimura, et Gord Fishell. 2008. « The Requirement of Nkx2-1 in the Temporal Specification of Cortical Interneuron Subtypes ». *Neuron* 59 (5): 722-32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.07.031>.
- Caberlotto, Elisa, Vincent Michel, Isabelle Foucher, Amel Bahloul, Richard J. Goodyear, Elise Pepermans, Nicolas Michalski, Isabelle Perfettini, Olinda Alegria-Prévot, Sébastien Chardenoux, Marcio Do Cruzeiro, et al. 2011. « Usher Type 1G Protein sans Is a Critical Component of the Tip-Link Complex, a Structure Controlling Actin Polymerization in Stereocilia ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (14): 5825-30. <https://doi.org/10.1073/pnas.1017114108>.
- Caberlotto, Elisa, Vincent Michel, Isabelle Foucher, Amel Bahloul, Richard J. Goodyear, Elise Pepermans, Nicolas Michalski, Isabelle Perfettini, Olinda Alegria-Prévot, Sébastien Chardenoux, Marcio Do Cruzeiro, et al. 2011. « Usher Type 1G Protein sans Is a Critical Component of the Tip-Link Complex, a Structure Controlling Actin Polymerization in Stereocilia ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (14): 5825-30. <https://doi.org/10.1073/pnas.1017114108>.
- Cai, Dongqin, Rongrong Han, Miaomiao Liu, Fenghua Xie, Ling You, Yi Zheng, Limin Zhao, et al. 2017. « A Critical Role of Inhibition in Temporal Processing Maturation in the Primary Auditory Cortex ». *Cerebral Cortex*, 1-15. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx057>.
- Calvin, S.Hall. 1947. « Genetic Differences in Fatal Audiogenic Seizures :Between Two Inbred Strains of House Mice ». *Journal of Heredity* 38 (1): 3-6. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a105647>.
- Campagnola, Luke, et Paul B. Manis. 2014. « A Map of Functional Synaptic Connectivity in the Mouse Anteroventral Cochlear Nucleus ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34 (6): 2214-30. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4669-13.2014>.
- Carrasco, Andres, et Stephen G. Lomber. 2009. « Differential Modulatory Influences between Primary Auditory Cortex and the Anterior Auditory Field ». *Journal of Neuroscience* 29 (26): 8350-62. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6001-08.2009>.
- « CDH23 protein expression summary - The Human Protein Atlas ». s. d. Consulté le 4 juin 2022. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000107736-CDH23>.
- Celio, M R. 1986. « Parvalbumin in most gamma-aminobutyric acid-containing neurons of the rat cerebral cortex ». *Science (New York, N.Y.)* 231 (4741): 995-97.
- Chan, Dylan K., et A. J. Hudspeth. 2005. « Ca²⁺ Current-Driven Nonlinear Amplification by the Mammalian Cochlea in Vitro ». *Nature Neuroscience* 8 (2): 149-55. <https://doi.org/10.1038/nn1385>.
- Chang, E. F, et M. M Merzenich. 2003. « Environmental noise retards auditory cortical development ». *Science* 300 (5618): 498-502.
- Chang, Edward F, Shaowen Bao, Kazuo Imaizumi, Christoph E Schreiner, et Michael M Merzenich. 2005. « Development of spectral and temporal response selectivity in the auditory cortex. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (45): 16460-65.
- Charizopoulou, Nikoletta, Andrea Lelli, Margit Schraders, Kausik Ray, Michael S. Hildebrand, Arabandi Ramesh, C. R. Srikumari Srisailapathy, et al. 2011. « Gipc3 Mutations Associated with Audiogenic Seizures and Sensorineural Hearing Loss in Mouse and Human ». *Nature Communications* 2 (février): 201. <https://doi.org/10.1038/ncomms1200>.

- Chauhan, Shravani, Praveen Tripathi, Priyanka Goyal, et Deepak Kumar. 2014. « Bipolar Disorder in Pendred Syndrome: A Case Report of Two Siblings ». *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry* 48 (9): 879-80. <https://doi.org/10.1177/0004867414526793>.
- Chiba, Shuichi, Tadahiro Numakawa, Midori Ninomiya, Misty C. Richards, Chisato Wakabayashi, et Hiroshi Kunugi. 2012. « Chronic Restraint Stress Causes Anxiety- and Depression-like Behaviors, Downregulates Glucocorticoid Receptor Expression, and Attenuates Glutamate Release Induced by Brain-Derived Neurotrophic Factor in the Prefrontal Cortex ». *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 39 (1): 112-19. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.05.018>.
- Chklovskii, Dmitri B., et Alexei A. Koulakov. 2004. « MAPS IN THE BRAIN: What Can We Learn from Them? » *Annual Review of Neuroscience* 27 (1): 369-92. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144226>.
- Christensen, Rasmus Kordt, Henrik Lindén, Mari Nakamura, et Tania Rinaldi Barkat. 2019. « White Noise Background Improves Tone Discrimination by Suppressing Cortical Tuning Curves ». *Cell Reports* 29 (7): 2041-2053.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.10.049>.
- Cisneros-Franco, J. Miguel, Lydia Ouellet, Brishna Kamal, et Etienne de Villers-Sidani. 2018. « A Brain without Brakes: Reduced Inhibition Is Associated with Enhanced but Dysregulated Plasticity in the Aged Rat Auditory Cortex ». *ENeuro* 5 (4): ENEURO.0051-18.2018. <https://doi.org/10.1523/ENeuro.0051-18.2018>.
- Cisneros-Franco, J. Miguel, et Étienne de Villers-Sidani. 2019. « Reactivation of Critical Period Plasticity in Adult Auditory Cortex through Chemogenetic Silencing of Parvalbumin-Positive Interneurons ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (52): 26329-31. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913227117>.
- Clause, Amanda, Gunsoo Kim, Mandy Sonntag, Catherine J. C. Weisz, Douglas E. Vetter, Rudolf Rübsamen, et Karl Kandler. 2014. « The Precise Temporal Pattern of Prehearing Spontaneous Activity Is Necessary for Tonotopic Map Refinement ». *Neuron* 82 (4): 822-35. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.001>.
- Cohen-Salmon, M., A. El-Amraoui, M. Leibovici, et C. Petit. 1997. « Otogelin: A Glycoprotein Specific to the Acellular Membranes of the Inner Ear ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 (26): 14450-55. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.26.14450>.
- Colonna, Marco, et Oleg Butovsky. 2017. « Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration ». *Annual Review of Immunology* 35 (1): 441-68. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358>.
- Corey, D. P., et A. J. Hudspeth. 1979. « Ionic Basis of the Receptor Potential in a Vertebrate Hair Cell ». *Nature* 281 (5733): 675-77.
- Corti, Alfonso. 1851. *Recherches sur l'organe de l'ouïe des mammifères*. <https://catalog.hathitrust.org/Record/010847573>.
- Cunningham, Christopher L., Verónica Martínez-Cerdeño, et Stephen C. Noctor. 2013. « Microglia Regulate the Number of Neural Precursor Cells in the Developing Cerebral Cortex ». *Journal of Neuroscience* 33 (10): 4216-33. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3441-12.2013>.
- Dabdoub, Alain, Bernd Fritsch, Arthur N. Popper, et Richard R. Fay, éd. 2016. *The Primary Auditory Neurons of the Mammalian Cochlea*. Vol. 52. Springer Handbook of Auditory Research. New York, NY: Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3031-9>.

- Dammeyer, Jesper. 2012. « Children with Usher syndrome: mental and behavioral disorders ». *Behavioral and Brain Functions* 8 (1): 16. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-8-16>.
- Davies, Patricia, Wen-Pin Chang, et William Gavin. 2010. « Middle and late latency ERP components discriminate between adults, typical children, and children with sensory processing disorders ». *Frontiers in Integrative Neuroscience* 4. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnint.2010.00016>.
- Dávila, José Carlos, M. Ángeles Real, Luis Olmos, Isabel Legaz, Loreta Medina, et Salvador Guirado. 2005. « Embryonic and Postnatal Development of GABA, Calbindin, Calretinin, and Parvalbumin in the Mouse Claustral Complex ». *Journal of Comparative Neurology* 481 (1): 42-57. <https://doi.org/10.1002/cne.20347>.
- Davis, Robin L., et Robert A. Crozier. 2016. « The Electrophysiological Signature of Spiral Ganglion Neurons ». In *The Primary Auditory Neurons of the Mammalian Cochlea*, 85-116. Springer Handbook of Auditory Research. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3031-9_4.
- De Sarro, Giovambattista, Emilio Russo, Rita Citraro, et Brian S. Meldrum. 2017. « Genetically Epilepsy-Prone Rats (GEPRs) and DBA/2 Mice: Two Animal Models of Audiogenic Reflex Epilepsy for the Evaluation of New Generation AEDs | Elsevier Enhanced Reader ». *Epilepsy & Behavior* 71 (Part B): 165-73. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.06.030>.
- De Vis, Chenae, Kristin M. Barry, et Wilhelmina H. A. M. Mulders. 2022. « Hearing Loss Increases Inhibitory Effects of Prefrontal Cortex Stimulation on Sound Evoked Activity in Medial Geniculate Nucleus ». *Frontiers in Synaptic Neuroscience* 14. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnsyn.2022.840368>.
- DeFelipe, Javier. 2011. « The Evolution of the Brain, the Human Nature of Cortical Circuits, and Intellectual Creativity ». *Frontiers in Neuroanatomy* 5. <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00029>.
- Deiters, O. 1860. « Untersuchungen über die Schnecke der Vögel ». *Arch Anat Physiol Wiss Med*, n° 409-460.
- Delprat, Benjamin, Vincent Michel, Richard Goodyear, Yasuhiro Yamasaki, Nicolas Michalski, Aziz El-Amraoui, Isabelle Perfettini, et al. 2005. « Myosin XVa and Whirlin, Two Deafness Gene Products Required for Hair Bundle Growth, Are Located at the Stereocilia Tips and Interact Directly ». *Human Molecular Genetics* 14 (3): 401-10. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi036>.
- Denk, W., J. R. Holt, G. M. Shepherd, et D. P. Corey. 1995. « Calcium Imaging of Single Stereocilia in Hair Cells: Localization of Transduction Channels at Both Ends of Tip Links ». *Neuron* 15 (6): 1311-21. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90010-1).
- Deransart, C, B. -T Lê-Pham, E Hirsch, Ch Marescaux, et A Depaulis. 2001. « Inhibition of the Substantia Nigra Suppresses Absences and Clonic Seizures in Audiogenic Rats, but Not Tonic Seizures: Evidence for Seizure Specificity of the Nigral Control ». *Neuroscience* 105 (1): 203-11. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00165-8).
- Destexhe, Alain, et Claude Bedard. 2013. « Local field potential ». *Scholarpedia* 8 (8): 10713. <https://doi.org/10.4249/scholarpedia.10713>.
- Dice, Lee R. 1935. « Inheritance of Waltzing and of Epilepsy in Mice of the Genus *Peromyscus* ». *Journal of Mammalogy* 16 (1): 25-35. <https://doi.org/10.2307/1374527>.
- Domanico, Daniela, Serena Fragiotta, Alessandro Cutini, Pier Luigi Grenga, et Enzo Maria Vingolo. 2015. « Psychosis, Mood and Behavioral Disorders in Usher Syndrome: Review of the Literature ». *Medical Hypothesis, Discovery and Innovation in Ophthalmology* 4 (2): 50-55.
- Donaldson, H.H. 1924. *Memoirs of the Wistar Institute of Anatomy and Biology*. Philadelphia.

- Doretto, Sandrine, Monica Malerba, Maria Ramos, Taruna Ikrar, Chisato Kinoshita, Claudia De Mei, Emanuele Tirota, Xiangmin Xu, et Emiliana Borrelli. 2011. « Oligodendrocytes as Regulators of Neuronal Networks during Early Postnatal Development ». *PLoS ONE* 6 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019849>.
- Dornn, Anja L., Kexin Yuan, Alison J. Barker, Christoph E. Schreiner, et Robert C. Froemke. 2010. « Developmental sensory experience balances cortical excitation and inhibition ». *Nature* 465 (7300): 932-36. <https://doi.org/10.1038/nature09119>.
- Doucet, J. R., et D. K. Ryugo. 1997. « Projections from the Ventral Cochlear Nucleus to the Dorsal Cochlear Nucleus in Rats ». *The Journal of Comparative Neurology* 385 (2): 245-64.
- Dulac, Olivier, Mathieu Milh, et Gregory L. Holmes. 2013. « Chapter 47 - Brain maturation and epilepsy ». In *Handbook of Clinical Neurology*, édité par Olivier Dulac, Maryse Lassonde, et Harvey B. Sarnat, 111:441-46. Pediatric Neurology Part I. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52891-9.00047-6>.
- Duque, Daniel, et Manuel S. Malmierca. 2015. « Stimulus-Specific Adaptation in the Inferior Colliculus of the Mouse: Anesthesia and Spontaneous Activity Effects ». *Brain Structure and Function* 220 (6): 3385-98. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0862-1>.
- Ebermann, Inga, Jennifer B. Phillips, Max C. Liebau, Robert K. Koenekoop, Bernhard Schermer, Irma Lopez, Ellen Schäfer, et al. 2010. « PDZD7 Is a Modifier of Retinal Disease and a Contributor to Digenic Usher Syndrome ». *The Journal of Clinical Investigation* 120 (6): 1812-23. <https://doi.org/10.1172/JCI39715>.
- Ebermann, Inga, Hendrik P. N. Scholl, Peter Charbel Issa, Elvir Becirovic, Jürgen Lamprecht, Bernhard Jurklics, José M. Millán, Elena Aller, Diana Mitter, et Hanno Bolz. 2007. « A Novel Gene for Usher Syndrome Type 2: Mutations in the Long Isoform of Whirlin Are Associated with Retinitis Pigmentosa and Sensorineural Hearing Loss ». *Human Genetics* 121 (2): 203-11. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0304-0>.
- El Hachem, Nabil. 2012. « La trompe d'Eustache : physiologie, physiopathologie et rôle dans la genèse de l'otite moyenne ». *Kinésithérapie, la Revue* 12 (132): 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.kine.2012.09.006>.
- El-Amraoui, Aziz, Martine Cohen-Salmon, Christine Petit, et Marie-Christine Simmler. 2001. « Spatiotemporal Expression of Otogelin in the Developing and Adult Mouse Inner Ear ». *Hearing Research* 158 (1): 151-59. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(01\)00312-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(01)00312-4).
- Elgoyhen, A Belén, et Paul A. Fuchs. 2010. *Efferent Innervation and Function*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199233397.013.0010>.
- Elston, Guy N. 2003. « Cortex, Cognition and the Cell: New Insights into the Pyramidal Neuron and Prefrontal Function ». *Cerebral Cortex* 13 (11): 1124-38. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhg093>.
- Faingold, C. L. 1999. « Neuronal Networks in the Genetically Epilepsy-Prone Rat ». *Advances in Neurology* 79: 311-21.
- Faingold, Carl L. 2012. « Brainstem Networks: Reticulo-Cortical Synchronization in Generalized Convulsive Seizures ». In *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*, édité par Jeffrey L. Noebels, Massimo Avoli, Michael A. Rogawski, Richard W. Olsen, et Antonio V. Delgado-Escueta, 4th éd. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98187/>.
- Farley, Brandon J., Elena Morozova, Jessica Dion, Bin Wang, Brian D. Harvey, Davide Gianni, Brian Wipke, Diego Cadavid, Marion Wittmann, et Mihaly Hajos. 2019. « Evoked Potentials as a Translatable Biomarker to Track Functional Remyelination ». *Molecular and Cellular Neuroscience* 99 (septembre): 103393. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2019.103393>.

- Faux, Clare, Sonja Rakic, William Andrews, et Joanne M. Britto. 2012. « Neurons on the Move: Migration and Lamination of Cortical Interneurons ». *Neurosignals* 20 (3): 168-89. <https://doi.org/10.1159/000334489>.
- Fedotova, Irina B., Natalia M. Surina, Georgy M. Nikolaev, Alexandre V. Revishchin, et Inga I. Poletaeva. 2021. « Rodent Brain Pathology, Audiogenic Epilepsy ». *Biomedicines* 9 (11): 1641. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111641>.
- Felix, Richard A., Anna K. Magnusson, et Albert S. Berrebi. 2015. « The Superior Paraolivary Nucleus Shapes Temporal Response Properties of Neurons in the Inferior Colliculus ». *Brain Structure and Function* 220 (5): 2639-52. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0815-8>.
- Felix, Richard A., Katrin Vonderschen, Albert S. Berrebi, et Anna K. Magnusson. 2013. « Development of On-off Spiking in Superior Paraolivary Nucleus Neurons of the Mouse ». *Journal of Neurophysiology* 109 (11): 2691-2704. <https://doi.org/10.1152/jn.01041.2012>.
- Fettiplace, Robert. 2016. « Is TMC1 the Hair Cell Mechanotransducer Channel? » *Biophysical Journal* 111 (1): 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.05.032>.
- . 2017. « Hair Cell Transduction, Tuning, and Synaptic Transmission in the Mammalian Cochlea ». In *Comprehensive Physiology*, 1197-1227. American Cancer Society. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160049>.
- Fettiplace, Robert, et Kyunghye X. Kim. 2014. « The Physiology of Mechano-electrical Transduction Channels in Hearing ». *Physiological Reviews* 94 (3): 951-86. <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2013>.
- Flecknell, Paul. 2016. « Chapter 1 - Basic Principles of Anaesthesia ». In *Laboratory Animal Anaesthesia (Fourth Edition)*, édité par Paul Flecknell, 1-75. Boston: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800036-6.00001-6>.
- Flores, Emma N., Anne Duggan, Thomas Madathany, Ann K. Hogan, Freddie G. Márquez, Gagan Kumar, Rebecca P. Seal, Robert H. Edwards, M. Charles Liberman, et Jaime García-Añoveros. 2015. « A Non-Canonical Pathway from Cochlea to Brain Signals Tissue-Damaging Noise ». *Current Biology* 25 (5): 606-12. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.01.009>.
- Franken, Tom P., Philip X. Joris, et Philip H. Smith. 2018. « Principal cells of the brainstem's interaural sound level detector are temporal differentiators rather than integrators ». Édité par Catherine Emily Carr. *eLife* 7 (juin): e33854. <https://doi.org/10.7554/eLife.33854>.
- Friedman, Daniel, Lawrence S. Honig, et Nikolaos Scarmeas. 2011. « Seizures and Epilepsy in Alzheimer's Disease ». *CNS Neuroscience & Therapeutics* 18 (4): 285-94. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2011.00251.x>.
- Friedman, Jennifer T., Ann M. Peiffer, Matthew G. Clark, April A. Benasich, et R. Holly Fitch. 2004. « Age and Experience-Related Improvements in Gap Detection in the Rat ». *Developmental Brain Research* 152 (2): 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2004.06.007>.
- Frings, Hubert, et Mable Frings. 1952. « Acoustical Determinants of Audiogenic Seizures in Laboratory Mice ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 24 (2): 163-69. <https://doi.org/10.1121/1.1906873>.
- Fromer, Menachem, Andrew J. Pocklington, David H. Kavanagh, Hywel J. Williams, Sarah Dwyer, Padhraig Gormley, Lyudmila Georgieva, et al. 2014. « De Novo Mutations in Schizophrenia Implicate Synaptic Networks ». *Nature* 506 (7487): 179-84. <https://doi.org/10.1038/nature12929>.
- Frye, G. D., T. J. McCown, et G. R. Breese. 1983. « Characterization of Susceptibility to Audiogenic Seizures in Ethanol-Dependent Rats after Microinjection of Gamma-

- Aminobutyric Acid (GABA) Agonists into the Inferior Colliculus, Substantia Nigra or Medial Septum ». *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 227 (3): 663-70.
- Fuchs, Yaron, et Hermann Steller. 2011. « Programmed Cell Death in Animal Development and Disease ». *Cell* 147 (4): 742-58. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.033>.
- Gaese, B H, et J Ostwald. 2001. « Anesthesia Changes Frequency Tuning of Neurons in the Rat Primary Auditory Cortex ». *Journal of Neurophysiology* 86 (2): 1062-66.
- Gale, Karen. 1989. « GABA in Epilepsy: The Pharmacologic Basis ». *Epilepsia* 30 (s3): S1-11. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1989.tb05825.x>.
- Gaucher, Quentin, Chloé Huetz, Boris Gourévitch, et Jean-Marc Edeline. 2013. « Cortical Inhibition Reduces Information Redundancy at Presentation of Communication Sounds in the Primary Auditory Cortex ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33 (26): 10713-28. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0079-13.2013>.
- « Gene Detail :: Allen Brain Atlas: Mouse Brain ». s. d. Consulté le 30 juin 2022. <http://mouse.brain-map.org/gene/show/21628>.
- Ginhoux, Florent, Melanie Greter, Marylene Leboeuf, Sayan Nandi, Peter See, Solen Gokhan, Mark F. Mehler, et al. 2010. « Fate Mapping Analysis Reveals That Adult Microglia Derive from Primitive Macrophages ». *Science* 330 (6005): 841-45. <https://doi.org/10.1126/science.1194637>.
- Glennon, Erin, Mario A. Svirsky, et Robert C. Froemke. 2020. « Auditory Cortical Plasticity in Cochlear Implant Users ». *Current Opinion in Neurobiology* 60 (février): 108-14. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.11.003>.
- Godey, B., D. Schwartz, J. B de Graaf, P. Chauvel, et C. Liegeois-Chauvel. 2001. « Neuromagnetic source localization of auditory evoked fields and intracerebral evoked potentials: a comparison of data in the same patients ». *Clin Neurophysiol* 112 (10): 1850-59.
- Gómez-Nieto, Ricardo, Sebastián Hormigo, et Dolores E. López. 2020. « Prepulse Inhibition of the Auditory Startle Reflex Assessment as a Hallmark of Brainstem Sensorimotor Gating Mechanisms ». *Brain Sciences* 10 (9): 639. <https://doi.org/10.3390/brainsci10090639>.
- Goodyear, R. J., P. K. Legan, M. B. Wright, W. Marcotti, A. Oganessian, S. A. Coats, C. J. Booth, et al. 2003. « A Receptor-like Inositol Lipid Phosphatase Is Required for the Maturation of Developing Cochlear Hair Bundles ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (27): 9208-19.
- Goodyear, R., et G. Richardson. 1992. « Distribution of the 275 KD Hair Cell Antigen and Cell Surface Specialisations on Auditory and Vestibular Hair Bundles in the Chicken Inner Ear ». *Journal of Comparative Neurology* 325 (2): 243-56. <https://doi.org/10.1002/cne.903250208>.
- Goodyear, Richard J., Andy Forge, P. Kevin Legan, et Guy P. Richardson. 2010. « Asymmetric Distribution of Cadherin 23 and Protocadherin 15 in the Kinocilial Links of Avian Sensory Hair Cells ». *The Journal of Comparative Neurology* 518 (21): 4288-97. <https://doi.org/10.1002/cne.22456>.
- Goodyear, Richard J., Walter Marcotti, Corné J. Kros, et Guy P. Richardson. 2005. « Development and Properties of Stereociliary Link Types in Hair Cells of the Mouse Cochlea ». *The Journal of Comparative Neurology* 485 (1): 75-85. <https://doi.org/10.1002/cne.20513>.
- Gourévitch, B., et J. J Eggermont. 2007. « Spatial representation of neural responses to natural and altered conspecific vocalizations in cat auditory cortex ». *J Neurophysiol* 97 (1): 144-58.

- Graven, Stanley N., et Joy V. Browne. 2008. « Auditory Development in the Fetus and Infant ». *Newborn and Infant Nursing Reviews* 8 (4): 187-93.
<https://doi.org/10.1053/j.nainr.2008.10.010>.
- Griffiths, Timothy D., et Jason D. Warren. 2004. « What Is an Auditory Object? » *Nature Reviews Neuroscience* 5 (11): 887-92. <https://doi.org/10.1038/nrn1538>.
- Grimsley, Jasmine M. S., Saloni Sheth, Neil Vallabh, Calum A. Grimsley, Jyoti Bhattal, Maeson Latsko, Aaron Jasnow, et Jeffrey J. Wenstrup. 2016. « Contextual Modulation of Vocal Behavior in Mouse: Newly Identified 12 KHz “Mid-Frequency” Vocalization Emitted during Restraint ». *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 10.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00038>.
- Grothe, Benedikt, Michael Pecka, et David McAlpine. 2010. « Mechanisms of Sound Localization in Mammals ». *Physiological Reviews* 90 (3): 983-1012.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2009>.
- Guinan, John J. 2011. « Physiology of the Medial and Lateral Olivocochlear Systems ». In *Auditory and Vestibular Efferents*, 39-81. Springer Handbook of Auditory Research. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7070-1_3.
- . 2012. « How Are Inner Hair Cells Stimulated? Evidence for Multiple Mechanical Drives ». *Hearing Research* 292 (1-2): 35-50.
<https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.08.005>.
- Guo, Wei, Anna R Chambers, Keith N Darrow, Kenneth E Hancock, Barbara G Shinn-Cunningham, et Daniel B Polley. 2012. « Robustness of cortical topography across fields, laminae, anesthetic states, and neurophysiological signal types ». *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 32 (27): 9159-72.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0065-12.2012>.
- Hackett, Troy A. 2015. « Chapter 2 - Anatomic organization of the auditory cortex ». In *Handbook of Clinical Neurology*, édité par Michael J. Aminoff, François Boller, et Dick F. Swaab, 129:27-53. The Human Auditory System. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62630-1.00002-0>.
- Hackett, Troy A., Tania Rinaldi Barkat, Barbara MJ. O’Brien, Takao K. Hensch, et Daniel B. Polley. 2011. « Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit ». *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31 (8): 2983-95. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5333-10.2011>.
- Haile, Lydia M, Kaloyan Kamenov, Paul Svitil Briant, Aislyn U Orji, Jaimie D Steinmetz, Amir Abdoli, Mohammad Abdollahi, et al. 2021. « Hearing Loss Prevalence and Years Lived with Disability, 1990–2019: Findings from the Global Burden of Disease Study 2019 ». *The Lancet* 397 (10278): 996-1009. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00516-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00516-X).
- Hakizimana, Pierre, et Anders Fridberger. 2021. « Inner Hair Cell Stereocilia Are Embedded in the Tectorial Membrane ». *Nature Communications* 12 (1): 2604.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22870-1>.
- Han, Yoon K., Hania Köver, Michele N. Insanally, John H. Semerdjian, et Shaowen Bao. 2007. « Early Experience Impairs Perceptual Discrimination ». *Nature Neuroscience* 10 (9): 1191-97. <https://doi.org/10.1038/nn1941>.
- Hansen, David V., Jesse E. Hanson, et Morgan Sheng. 2018. « Microglia in Alzheimer’s Disease ». *The Journal of Cell Biology* 217 (2): 459-72.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201709069>.
- Hébert, Sylvie, Philippe Fournier, et Arnaud Noreña. 2013. « The Auditory Sensitivity Is Increased in Tinnitus Ears ». *Journal of Neuroscience* 33 (6): 2356-64.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3461-12.2013>.

- Hector, Audrey, et Jonathan Brouillette. 2021. « Hyperactivity Induced by Soluble Amyloid- β Oligomers in the Early Stages of Alzheimer's Disease ». *Frontiers in Molecular Neuroscience* 13. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2020.600084>.
- Heffner, Henry, et Bruce Masterton. 1980. « Hearing in Glires: Domestic rabbit, cotton rat, feral house mouse, and kangaroo rat ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 68 (6): 1584-99. <https://doi.org/10.1121/1.385213>.
- Heil, Peter, et Adam J. Peterson. 2015. « Basic Response Properties of Auditory Nerve Fibers: A Review ». *Cell and Tissue Research* 361 (1): 129-58. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2177-9>.
- Heine, Chyrisse, et Robyn O'Halloran. 2015. « Central Auditory Processing Disorder: A Systematic Search and Evaluation of Clinical Practice Guidelines ». *Journal of Evaluation in Clinical Practice* 21 (6): 988-94. <https://doi.org/10.1111/jep.12494>.
- Heinke, Wolfgang, et Stefan Koelsch. 2005. « The Effects of Anesthetics on Brain Activity and Cognitive Function ». *Current Opinion in Anesthesiology* 18 (6): 625-31. <https://doi.org/10.1097/01.aco.0000189879.67092.12>.
- Herrmann, Björn, et Blake E. Butler. 2021. « Hearing Loss and Brain Plasticity: The Hyperactivity Phenomenon ». *Brain Structure and Function* 226 (7): 2019-39. <https://doi.org/10.1007/s00429-021-02313-9>.
- Hladnik, Ana, Domagoj Džaja, Sanja Darmopil, Nataša Jovanov-Milošević, et Zdravko Petanjek. 2014. « Spatio-Temporal Extension in Site of Origin for Cortical Calretinin Neurons in Primates ». *Frontiers in Neuroanatomy* 8. <https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00050>.
- Hohman, Timothy J., William S. Bush, Lan Jiang, Kristin D. Brown-Gentry, Eric S. Torstenson, Scott M. Dudek, Shubhabrata Mukherjee, et al. 2016. « Discovery of Gene-Gene Interactions across Multiple Independent Data Sets of Late Onset Alzheimer Disease from the Alzheimer Disease Genetics Consortium ». *Neurobiology of Aging* 38 (février): 141-50. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.10.031>.
- Holt, Jeffrey R., Susan K. H. Gillespie, D. William Provance, Kavita Shah, Kevan M. Shokat, David P. Corey, John A. Mercer, et Peter G. Gillespie. 2002. « A Chemical-Genetic Strategy Implicates Myosin-1c in Adaptation by Hair Cells ». *Cell* 108 (3): 371-81. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00629-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00629-3).
- Horton, Jonathan C. 2006. « Ocular Integration in the Human Visual Cortex ». *Canadian Journal of Ophthalmology* 41 (5): 584-93. [https://doi.org/10.1016/S0008-4182\(06\)80027-X](https://doi.org/10.1016/S0008-4182(06)80027-X).
- Horton, Jonathan C., et Daniel L. Adams. 2005. « The Cortical Column: A Structure without a Function ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 360 (1456): 837-62. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1623>.
- Houser, Carolyn R. 2014. « Do Structural Changes in GABA Neurons Give Rise to the Epileptic State? » *Advances in experimental medicine and biology* 813: 151-60. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8914-1_12.
- Hoz, Livia de, et Israel Nelken. 2014. « Frequency Tuning in the Behaving Mouse: Different Bandwidths for Discrimination and Generalization ». *PloS One* 9 (3): e91676. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091676>.
- Hua, Yunfeng, Xu Ding, Haoyu Wang, Fangfang Wang, Yan Lu, Jakob Neef, Yunge Gao, Tobias Moser, et Hao Wu. 2021. « Electron Microscopic Reconstruction of Neural Circuitry in the Cochlea ». *Cell Reports* 34 (1): 108551. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108551>.
- Huang, Wei, Aparna Bhaduri, Dmitry Velmeshev, Shaohui Wang, Li Wang, Catherine A. Rottkamp, Arturo Alvarez-Buylla, David H. Rowitch, et Arnold R. Kriegstein. 2020.

- « Origins and Proliferative States of Human Oligodendrocyte Precursor Cells ». *Cell* 182 (3): 594-608.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.027>.
- Hubel, D. H., et T. N. Wiesel. 1968. « Receptive Fields and Functional Architecture of Monkey Striate Cortex ». *J Physiol* 195 (1): 215-43.
- Hudspeth, A. J. 1982. « Extracellular Current Flow and the Site of Transduction by Vertebrate Hair Cells ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 2 (1): 1-10.
- . 1989. « How the Ear's Works Work ». *Nature* 341 (6241): 397-404. <https://doi.org/10.1038/341397a0>.
- Hudspeth, A. J., et D. P. Corey. 1977. « Sensitivity, Polarity, and Conductance Change in the Response of Vertebrate Hair Cells to Controlled Mechanical Stimuli ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (6): 2407-11. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.6.2407>.
- Hudspeth, A J, et R Jacobs. 1979. « Stereocilia mediate transduction in vertebrate hair cells (auditory system/cilium/vestibular system). » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76 (3): 1506-9.
- Ibañez, V., M. P. Deiber, et C. Fischer. 1989. « Middle Latency Auditory Evoked Potentials in Cortical Lesions. Critical of Interhemispheric Asymmetry ». *Archives of Neurology* 46 (12): 1325-32.
- Illing, Robert-Benjamin, K. Suzanne Kraus, et Steffen A. Michler. 2000. « Plasticity of the Superior Olivary Complex ». *Microscopy Research and Technique* 51 (4): 364-81. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20001115\)51:4<364::AID-JEMT6>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20001115)51:4<364::AID-JEMT6>3.0.CO;2-E).
- Isaacson, Jeffrey S., et Massimo Scanziani. 2011. « How Inhibition Shapes Cortical Activity ». *Neuron* 72 (2): 231-43. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.027>.
- Ison, J. R., K. O'Connor, G. P. Bowen, et A. Bocirnea. 1991. « Temporal Resolution of Gaps in Noise by the Rat Is Lost with Functional Decortication ». *Behavioral Neuroscience* 105 (1): 33-40. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.105.1.33>.
- Issa, John B., Benjamin D. Haeffele, Amit Agarwal, Dwight E. Bergles, Eric D. Young, et David T. Yue. 2014. « Multiscale Optical Ca²⁺ Imaging of Tonal Organization in Mouse Auditory Cortex ». *Neuron* 83 (4): 944-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.009>.
- Italiano, Domenico, Pasquale Striano, Emilio Russo, Antonio Leo, Edoardo Spina, Federico Zara, Salvatore Striano, et al. 2016. « Genetics of reflex seizures and epilepsies in humans and animals ». *Epilepsy Research* 121 (mars): 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.01.010>.
- Ito, Tetsufumi, et Douglas Oliver. 2012. « The basic circuit of the IC: tectothalamic neurons with different patterns of synaptic organization send different messages to the thalamus ». *Frontiers in Neural Circuits* 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2012.00048>.
- Jayakody, Dona M. P., Peter L. Friedland, Ralph N. Martins, et Hamid R. Sohrabi. 2018. « Impact of Aging on the Auditory System and Related Cognitive Functions: A Narrative Review ». *Frontiers in Neuroscience* 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2018.00125>.
- Jia, Yanyan, Yimeng Zhao, Tsukasa Kusakizako, Yao Wang, Chengfang Pan, Yuwei Zhang, Osamu Nureki, Motoyuki Hattori, et Zhiqiang Yan. 2020. « TMC1 and TMC2 Proteins Are Pore-Forming Subunits of Mechanosensitive Ion Channels ». *Neuron* 105 (2): 310-321.e3. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.10.017>.
- Joachimsthaler, Bettina, Michaela Uhlmann, Frank Miller, Günter Ehret, et Simone Kurt. 2014. « Quantitative Analysis of Neuronal Response Properties in Primary and

- Higher-Order Auditory Cortical Fields of Awake House Mice (*Mus Musculus*) ». *European Journal of Neuroscience* 39 (6): 904-18. <https://doi.org/10.1111/ejn.12478>.
- Johnson, D. H. 1980. « The Relationship between Spike Rate and Synchrony in Responses of Auditory-Nerve Fibers to Single Tones ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 68 (4): 1115-22.
- Johnson, Jeanne M. 2009. « Late Auditory Event-Related Potentials in Children with Cochlear Implants: A Review ». *Developmental Neuropsychology* 34 (6): 701-20. <https://doi.org/10.1080/87565640903265152>.
- Joris, P. X., C. E. Schreiner, et A. Rees. 2004. « Neural Processing of Amplitude-Modulated Sounds ». *Physiological Reviews* 84 (2): 541-77. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2003>.
- Juczewski, Konrad, Jonathan A. Koussa, Andrew J. Kesner, Jeong O. Lee, et David M. Lovinger. 2020. « Stress and Behavioral Correlates in the Head-Fixed Method: Stress Measurements, Habituation Dynamics, Locomotion, and Motor-Skill Learning in Mice ». *Scientific Reports* 10 (1): 12245. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69132-6>.
- Kaas, John H. 2011. « The Evolution of Auditory Cortex : The Core Areas ». In *The Auditory Cortex*. Springer US. [//www.springer.com/fr/book/9781441900739](http://www.springer.com/fr/book/9781441900739).
- Kachar, B., W. E. Brownell, R. Altschuler, et J. Fex. 1986. « Electrokinetic Shape Changes of Cochlear Outer Hair Cells ». *Nature* 322 (6077): 365-68. <https://doi.org/10.1038/322365a0>.
- Kandel, Eric R. 2013. *Principles of neural science* (version 5th). 5th éd. New York: McGraw-Hill.
- Kandler, Karl, Amanda Clause, et Jihyun Noh. 2009. « Tonotopic Reorganization of Developing Auditory Brainstem Circuits ». *Nature Neuroscience* 12 (6): 711-17. <https://doi.org/10.1038/nn.2332>.
- Kane, Eileen Cohen. 1974. « Synaptic Organization in the Dorsal Cochlear Nucleus of the Cat: A Light and Electron Microscopic Study ». *Journal of Comparative Neurology* 155 (3): 301-29. <https://doi.org/10.1002/cne.901550303>.
- Kanner, Andres M., Helen Scharfman, Nathalie Jette, Evdokia Anagnostou, Christophe Bernard, Carol Camfield, Peter Camfield, et al. 2017. « Epilepsy as a Network Disorder (1): What Can We Learn from Other Network Disorders Such as Autistic Spectrum Disorder and Mood Disorders? » *Epilepsy & Behavior* 77 (décembre): 106-13. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.09.014>.
- Kasabov, Nikola K., éd. 2014. « The Allen Brain Atlas ». In *Springer Handbook of Bio-/Neuro-Informatics*. Springer Handbooks. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. [//www.springer.com/gp/book/9783642305733](http://www.springer.com/gp/book/9783642305733).
- Kaur, S., R. Lazar, et R. Metherate. 2004. « Intracortical pathways determine breadth of subthreshold frequency receptive fields in primary auditory cortex ». *J Neurophysiol* 91 (6): 2551-67.
- Kaylegian, Katherine, Amanda J. Stebritz, Aldis P. Weible, et Michael Wehr. 2019. « 5XFAD Mice Show Early Onset Gap Detection Deficits ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 11. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00066>.
- Kazmierczak, Piotr, Hirofumi Sakaguchi, Joshua Tokita, Elizabeth M. Wilson-Kubalek, Ronald A. Milligan, Ulrich Müller, et Bechara Kachar. 2007. « Cadherin 23 and Protocadherin 15 Interact to Form Tip-Link Filaments in Sensory Hair Cells ». *Nature* 449 (7158): 87-91. <https://doi.org/10.1038/nature06091>.
- Kelsom, Corey, et Wange Lu. 2013. « Development and specification of GABAergic cortical interneurons ». *Cell & Bioscience* 3 (avril): 19. <https://doi.org/10.1186/2045-3701-3-19>.

- Kennedy, H. J., A. C. Crawford, et R. Fettiplace. 2005. « Force Generation by Mammalian Hair Bundles Supports a Role in Cochlear Amplification ». *Nature* 433 (7028): 880-83. <https://doi.org/10.1038/nature03367>.
- Kennedy, Helen J., Michael G. Evans, Andrew C. Crawford, et Robert Fettiplace. 2003. « Fast Adaptation of Mechanoelectrical Transducer Channels in Mammalian Cochlear Hair Cells ». *Nature Neuroscience* 6 (8): 832-36. <https://doi.org/10.1038/nn1089>.
- Kessarlis, Nicoletta, Matthew Fogarty, Palma Iannarelli, Matthew Grist, Michael Wegner, et William D. Richardson. 2006. « Competing Waves of Oligodendrocytes in the Forebrain and Postnatal Elimination of an Embryonic Lineage ». *Nature Neuroscience* 9 (2): 173-79. <https://doi.org/10.1038/nn1620>.
- Kessarlis, Nicoletta, Nigel Pringle, et William D Richardson. 2008. « Specification of CNS glia from neural stem cells in the embryonic neuroepithelium ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363 (1489): 71-85. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.2013>.
- Kiang, N. Y., J. M. Rho, C. C. Northrop, M. C. Liberman, et D. K. Ryugo. 1982. « Hair-Cell Innervation by Spiral Ganglion Cells in Adult Cats ». *Science (New York, N.Y.)* 217 (4555): 175-77.
- Kim, Tae Hwan, Kay Richards, Julian Heng, Steven Petrou, et Christopher A. Reid. 2013. « Two lines of transgenic mice expressing cre-recombinase exhibit increased seizure susceptibility ». *Epilepsy Research* 104 (1): 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2012.10.005>.
- King, Andrew, et Victoria Bajo. 2013. « Cortical modulation of auditory processing in the midbrain ». *Frontiers in Neural Circuits* 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2012.00114>.
- Kirst, Christoph, Sophie Skriabine, Alba Vieites-Prado, Thomas Topilko, Paul Bertin, Gaspard Gerschenfeld, Florine Verny, et al. 2020. « Mapping the Fine-Scale Organization and Plasticity of the Brain Vasculature ». *Cell* 180 (4): 780-795.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.028>.
- Knipper, Marlies, Wibke Singer, Kerstin Schwabe, Gisela E. Hagberg, Yiwen Li Hegner, Lukas Rüttiger, Christoph Braun, et Rüdiger Land. 2022. « Disturbed Balance of Inhibitory Signaling Links Hearing Loss and Cognition ». *Frontiers in Neural Circuits* 15. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncir.2021.785603>.
- Kohrman, David C., Guoqiang Wan, Luis Cassinotti, et Gabriel Corfas. 2020. « Hidden Hearing Loss: A Disorder with Multiple Etiologies and Mechanisms ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 10 (1): a035493. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a035493>.
- Kozlov, Andrei S., Thomas Risler, et A. J. Hudspeth. 2007. « Coherent Motion of Stereocilia Assures the Concerted Gating of Hair-Cell Transduction Channels ». *Nature Neuroscience* 10 (1): 87-92. <https://doi.org/10.1038/nn1818>.
- Kral, Andrej, Peter Baumhoff, et Robert K. Shepherd. 2013. « Integrative Neuronal Functions in Deafness ». In *Deafness*, 151-87. Springer Handbook of Auditory Research. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/2506_2013_6.
- Kral, Andrej, Michael F. Dorman, et Blake S. Wilson. 2019. « Neuronal Development of Hearing and Language: Cochlear Implants and Critical Periods ». *Annual Review of Neuroscience* 42 (1): 47-65. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-080317-061513>.
- Kral, Andrej, et Gerard M. O'Donoghue. 2010. « Profound Deafness in Childhood ». *New England Journal of Medicine* 363 (15): 1438-50. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0911225>.

- Kral, Andrej, et Sarah L. Pallas. 2011. « Development of the Auditory Cortex ». In *The Auditory Cortex*, édité par Jeffery A. Winer et Christoph E. Schreiner, 443-63. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0074-6_21.
- Krom, Aaron J., Amit Marmelshtein, Hagar Gelbard-Sagiv, Ariel Tankus, Hanna Hayat, Daniel Hayat, Idit Matot, et al. 2020. « Anesthesia-induced loss of consciousness disrupts auditory responses beyond primary cortex ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (21): 11770-80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1917251117>.
- Kros, C. J., A. Rusch, et Guy Peel Richardson. 1992. « Mechano-electrical transducer currents in hair cells of the cultured neonatal mouse cochlea ». *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 249 (1325): 185-93. <https://doi.org/10.1098/rspb.1992.0102>.
- Kuhn, Sarah, Laura Gritti, Daniel Crooks, et Yvonne Dombrowski. 2019. « Oligodendrocytes in Development, Myelin Generation and Beyond ». *Cells* 8 (11): 1424. <https://doi.org/10.3390/cells8111424>.
- Kuwada, Shigeyuki, Brian Bishop, Caitlin Alex, Daniel W. Condit, et Duck O. Kim. 2011. « Spatial Tuning to Sound-Source Azimuth in the Inferior Colliculus of Unanesthetized Rabbit ». *Journal of Neurophysiology* 106 (5): 2698-2708. <https://doi.org/10.1152/jn.00532.2011>.
- Lagziel, Ayala, Zubair M. Ahmed, Julie M. Schultz, Robert J. Morell, Inna A. Belyantseva, et Thomas B. Friedman. 2005. « Spatiotemporal Pattern and Isoforms of Cadherin 23 in Wild Type and Waltzer Mice during Inner Ear Hair Cell Development ». *Developmental Biology* 280 (2): 295-306. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.01.015>.
- Lakunina, Anna A., Nadav Menashe, et Santiago Jaramillo. 2022. « Contributions of Distinct Auditory Cortical Inhibitory Neuron Types to the Detection of Sounds in Background Noise ». *ENeuro* 9 (2). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0264-21.2021>.
- Lander, A. D. 2013. « How Cells Know Where They Are ». *Science* 339 (6122): 923-27. <https://doi.org/10.1126/science.1224186>.
- Langford, Dale J., Andrea L. Bailey, Mona Lisa Chanda, Sarah E. Clarke, Tanya E. Drummond, Stephanie Echols, Sarah Glick, et al. 2010. « Coding of Facial Expressions of Pain in the Laboratory Mouse ». *Nature Methods* 7 (6): 447-49. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1455>.
- Le Gal La Salle, G., et R. Naquet. 1990. « Audiogenic Seizures Evoked in DBA/2 Mice Induce c-Fos Oncogene Expression into Subcortical Auditory Nuclei ». *Brain Research* 518 (1-2): 308-12. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90988-n](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90988-n).
- Leao, Richardson N., Hong Sun, Katarina Svahn, Amy Berntson, Monique Youssoufian, Antonio G. Paolini, Robert E. W. Fyffe, et Bruce Walmsley. 2006. « Topographic Organization in the Auditory Brainstem of Juvenile Mice Is Disrupted in Congenital Deafness ». *The Journal of Physiology* 571 (3): 563-78. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.098780>.
- Lee, Daniel J., Ronald K. de Venecia, John J. Guinan Jr., et M. Christian Brown. 2006. « Central Auditory Pathways Mediating the Rat Middle Ear Muscle Reflexes ». *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288A (4): 358-69. <https://doi.org/10.1002/ar.a.20296>.
- Lefebvre, Julie L., Dimitar Kostadinov, Weisheng V. Chen, Tom Maniatis, et Joshua R. Sanes. 2012. « Protocadherins Mediate Dendritic Self-Avoidance in the Mammalian Nervous System ». *Nature* 488 (7412): 517-21. <https://doi.org/10.1038/nature11305>.
- Lefèvre, Gaele, Vincent Michel, Dominique Weil, Léa Lepelletier, Emilie Bizard, Uwe Wolfrum, Jean-Pierre Hardelin, et Christine Petit. 2008. « A Core Cochlear Phenotype in USH1 Mouse Mutants Implicates Fibrous Links of the Hair Bundle in Its Cohesion,

- Orientation and Differential Growth ». *Development (Cambridge, England)* 135 (8): 1427-37. <https://doi.org/10.1242/dev.012922>.
- Legan, P. K., V. A. Lukashkina, R. J. Goodyear, M. Kössi, I. J. Russell, et G. P. Richardson. 2000. « A Targeted Deletion in Alpha-Tectorin Reveals That the Tectorial Membrane Is Required for the Gain and Timing of Cochlear Feedback ». *Neuron* 28 (1): 273-85. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)00102-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00102-1).
- Lein, Ed S., Michael J. Hawrylycz, Nancy Ao, Mikael Ayres, Amy Bensinger, Amy Bernard, Andrew F. Boe, et al. 2007. « Genome-Wide Atlas of Gene Expression in the Adult Mouse Brain ». *Nature* 445 (7124): 168-76. <https://doi.org/10.1038/nature05453>.
- Lepiemme, Fanny, Julie Stoufflet, Míriam Javier-Torrent, Gabriel Mazzucchelli, Carla G. Silva, et Laurent Nguyen. 2022. « Oligodendrocyte precursors guide interneuron migration by unidirectional contact repulsion ». *Science* 376 (6595): eabn6204. <https://doi.org/10.1126/science.abn6204>.
- Li, Chuan-Ming, Xinzhi Zhang, Howard J. Hoffman, Mary Frances Cotch, Christa L. Themann, et M. Roy Wilson. 2014. « Hearing Impairment Associated With Depression in US Adults, National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2010 ». *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery* 140 (4): 293-302. <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2014.42>.
- Li, Ling-yun, Xiaorui R. Xiong, Leena A. Ibrahim, Wei Yuan, Huizhong W. Tao, et Li I. Zhang. 2015. « Differential Receptive Field Properties of Parvalbumin and Somatostatin Inhibitory Neurons in Mouse Auditory Cortex ». *Cerebral Cortex* 25 (7): 1782-91. <https://doi.org/10.1093/cercor/bht417>.
- Li, Sihan, Andrew Mecca, Jeewoo Kim, Giusy A. Caprara, Elizabeth L. Wagner, Ting-Ting Du, Leonid Petrov, et al. 2020. « Myosin-VIIa Is Expressed in Multiple Isoforms and Essential for Tensioning the Hair Cell Mechanotransduction Complex ». *Nature Communications* 11 (1): 2066. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15936-z>.
- Liang, Feixue, Lin Bai, Huizhong W. Tao, Li I. Zhang, et Zhongju Xiao. 2014. « Thresholding of auditory cortical representation by background noise ». *Frontiers in Neural Circuits* 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2014.00133>.
- Libé-Philippot, Baptiste. 2017. « Etude du rôle de protéines apparentées aux cadhérines dans le développement des interneurons du cortex auditif ». *Biologie du développement*, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI. <NNT : 2017PA066112>. <tel-01666045>.
- Libé-Philippot, Baptiste, Vincent Michel, Jacques Boutet de Monvel, Sébastien Le Gal, Typhaine Dupont, Paul Avan, Christine Métin, Nicolas Michalski, et Christine Petit. 2017. « Auditory cortex interneuron development requires cadherins operating hair-cell mechanoelectrical transduction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (30): 7765-74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703408114>.
- Libé-Philippot, Baptiste, Vincent Michel, Jacques Boutet de Monvel, Sébastien Le Gal, Typhaine Dupont, Paul Avan, Christine Métin, Nicolas Michalski, et Christine Petit. 2017. « Auditory Cortex Interneuron Development Requires Cadherins Operating Hair-Cell Mechanoelectrical Transduction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (30): 7765-74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703408114>.
- Lieberman, M. C. 1978. « Auditory-Nerve Response from Cats Raised in a Low-Noise Chamber ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 63 (2): 442-55.
- Lieberman, M. Charles, Jiangang Gao, David Z. Z. He, Xudong Wu, Shuping Jia, et Jian Zuo. 2002. « Prestin Is Required for Electromotility of the Outer Hair Cell and for the Cochlear Amplifier ». *Nature* 419 (6904): 300-304. <https://doi.org/10.1038/nature01059>.

- Lieu, Judith E. C., Margaret Kenna, Samantha Anne, et Lisa Davidson. 2020. « Hearing Loss in Children: A Review ». *JAMA* 324 (21): 2195-2205. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17647>.
- Lin, Frank R., E. Jeffrey Metter, Richard J. O'Brien, Susan M. Resnick, Alan B. Zonderman, et Luigi Ferrucci. 2011. « Hearing Loss and Incident Dementia ». *Archives of Neurology* 68 (2): 214-20. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.362>.
- Linden, Jennifer F. 2012. « Consequences of Chronic Reduction of Cortical Inhibition ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (34): 13473-74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1210409109>.
- Linden, Jennifer F, Robert C Liu, Maneesh Sahani, Christoph E Schreiner, et Michael M Merzenich. 2003a. « Spectrotemporal structure of receptive fields in areas AI and AAF of mouse auditory cortex ». *Journal of Neurophysiology* 90 (4): 2660-75. <https://doi.org/10.1152/jn.00751.2002>.
- . 2003b. « Spectrotemporal structure of receptive fields in areas AI and AAF of mouse auditory cortex ». *Journal of Neurophysiology* 90 (4): 2660-75. <https://doi.org/10.1152/jn.00751.2002>.
- Litscher, G. 1995. « Middle Latency Auditory Evoked Potentials in Intensive Care Patients and Normal Controls ». *The International Journal of Neuroscience* 83 (3-4): 253-67. <https://doi.org/10.3109/00207459508986342>.
- Liu, Chang, Elisabeth Glowatzki, et Paul Albert Fuchs. 2015. « Unmyelinated Type II Afferent Neurons Report Cochlear Damage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (47): 14723-27. <https://doi.org/10.1073/pnas.1515228112>.
- Liu, Yong-Jun, Elizabeth E. Spangenberg, Bryan Tang, Todd C. Holmes, Kim N. Green, et Xiangmin Xu. 2021. « Microglia Elimination Increases Neural Circuit Connectivity and Activity in Adult Mouse Cortex ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 41 (6): 1274-87. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2140-20.2020>.
- Lomber, Stephen G., et Shveta Malhotra. 2008. « Double Dissociation of “what” and “Where” Processing in Auditory Cortex ». *Nature Neuroscience* 11 (5): 609-16. <https://doi.org/10.1038/nn.2108>.
- Lomber, Stephen G, et Amee J McMillan. 2011. « Functional Specialization in Primary and Non-Primary Auditory Cortex ». In *The Auditory Cortex*, édité par Jeffery A. Winer et Christoph E. Schreiner, 389-406. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0074-6_18.
- Looij, M. A van, S. S Liem, H. van der Burg, J. van der Wees, C. I De Zeeuw, et B. G van Zanten. 2004. « Impact of conventional anesthesia on auditory brainstem responses in mice ». *Hear Res* 193 (1-2): 75-82.
- Lord, Jenny, et Carlos Cruchaga. 2014. « The Epigenetic Landscape of Alzheimer's Disease ». *Nature Neuroscience* 17 (9): 1138-40. <https://doi.org/10.1038/nn.3792>.
- Lumani, Ariana, et Huiming Zhang. 2010. « Responses of neurons in the rat's dorsal cortex of the inferior colliculus to monaural tone bursts ». *Brain Research* 1351 (septembre): 115-29. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.06.066>.
- Lussier, Francine. 2022. « Trouble de l'audition centrale (TAC) ». *CENOP (blog)*. 6 janvier 2022. <https://cenop.ca/troubles-apprentissage/dysphasie/trouble-de-laudition-centrale-tac/>.
- Maeda, Reo, Katie S. Kindt, Weike Mo, Clive P. Morgan, Timothy Erickson, Hongyu Zhao, Rachel Clemens-Grisham, Peter G. Barr-Gillespie, et Teresa Nicolson. 2014. « Tip-link protein protocadherin 15 interacts with transmembrane channel-like proteins TMC1 and TMC2 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (35): 12907-12. <https://doi.org/10.1073/pnas.1402152111>.

- Magno, Lorenza, Vincenzo Catanzariti, Robert Nitsch, Heiko Krude, et Thomas Naumann. 2009. « Ongoing Expression of Nkx2.1 in the Postnatal Mouse Forebrain: Potential for Understanding NKX2.1 Haploinsufficiency in Humans? » *Brain Research* 1304 (décembre): 164-86. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.09.050>.
- Malhotra, Shveta, et Stephen G. Lomber. 2007. « Sound Localization During Homotopic and Heterotopic Bilateral Cooling Deactivation of Primary and Nonprimary Auditory Cortical Areas in the Cat ». *Journal of Neurophysiology* 97 (1): 26-43. <https://doi.org/10.1152/jn.00720.2006>.
- Malmierca, M. S., T. W. Blackstad, K. K. Osen, T. Karagülle, et R. L. Molowny. 1993. « The Central Nucleus of the Inferior Colliculus in Rat: A Golgi and Computer Reconstruction Study of Neuronal and Laminar Structure ». *The Journal of Comparative Neurology* 333 (1): 1-27. <https://doi.org/10.1002/cne.903330102>.
- Malmierca, Manuel S., Lucy A. Anderson, et Flora M. Antunes. 2015. « The cortical modulation of stimulus-specific adaptation in the auditory midbrain and thalamus: a potential neuronal correlate for predictive coding ». *Frontiers in Systems Neuroscience* 9 (mars). <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00019>.
- Malmierca, Manuel S., Trygve B. Leergaard, Victoria M. Bajo, Jan G. Bjaalie, et Miguel A. Merchán. 1998. « Anatomic Evidence of a Three-Dimensional Mosaic Pattern of Totonopic Organization in the Ventral Complex of the Lateral Lemniscus in Cat ». *Journal of Neuroscience* 18 (24): 10603-18. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-24-10603.1998>.
- Manis, Paul B., Michael R. Kasten, et Ruili Xie. 2019. « Classification of Neurons in the Adult Mouse Cochlear Nucleus: Linear Discriminant Analysis ». Édité par Manuel S. Malmierca. *PLOS ONE* 14 (10): e0223137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223137>.
- Manunta, Y, et J M Edeline. 1997. « Effects of Noradrenaline on Frequency Tuning of Rat Auditory Cortex Neurons ». *The European Journal of Neuroscience* 9 (4): 833-47.
- Marchioni, Daniele, Gabriele Molteni, et Livio Presutti. 2011. « Endoscopic Anatomy of the Middle Ear ». *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery* 63 (2): 101-13. <https://doi.org/10.1007/s12070-011-0159-0>.
- Marescaux, C., M. Vergnes, M. Kiesmann, A. Depaulis, G. Micheletti, et J. M. Warter. 1987. « Kindling of Audiogenic Seizures in Wistar Rats: An EEG Study ». *Experimental Neurology* 97 (1): 160-68. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(87\)90290-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(87)90290-1).
- Matthews, Gary, et Paul Fuchs. 2010. « The Diverse Roles of Ribbon Synapses in Sensory Neurotransmission ». *Nature Reviews. Neuroscience* 11 (12): 812-22. <https://doi.org/10.1038/nrn2924>.
- McDonald, John. 2015. *Handbook of Biological Statistics*. Sparky House Publishing.
- McGee, Joann, Richard J. Goodyear, D. Randy McMillan, Eric A. Stauffer, Jeffrey R. Holt, Kirsten G. Locke, David G. Birch, et al. 2006. « The Very Large G-Protein-Coupled Receptor VLGR1: A Component of the Ankle Link Complex Required for the Normal Development of Auditory Hair Bundles ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (24): 6543-53. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0693-06.2006>.
- McGinley, Matthew J., et Donata Oertel. 2006. « Rate Thresholds Determine the Precision of Temporal Integration in Principal Cells of the Ventral Cochlear Nucleus ». *Hearing Research, The Cochlear Nucleus*, 216-217 (juin): 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2006.02.006>.
- Metzger, Kayla L., Christina R. Maxwell, Yuling Liang, et Steven J. Siegel. 2007. « Effects of Nicotine Vary Across Two Auditory Evoked Potentials in the Mouse ». *Biological Psychiatry* 61 (1): 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.12.011>.

- Michalski, Nicolas. 2008. « Transduction mécano-électrique auditive : identification et caractérisation fonctionnelle de ses composants ». These de doctorat, Paris 6. <http://www.theses.fr/2008PA066632>.
- Michalski, Nicolas, Vincent Michel, Amel Bahloul, Gaëlle Lefèvre, Jérémie Barral, Hideshi Yagi, Sébastien Chardenoux, et al. 2007. « Molecular Characterization of the Ankle-Link Complex in Cochlear Hair Cells and Its Role in the Hair Bundle Functioning ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (24): 6478-88. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0342-07.2007>.
- Michalski, Nicolas, Vincent Michel, Elisa Caberlotto, Gaëlle M. Lefèvre, Alexander F. J. van Aken, Jean-Yves Tinevez, Emilie Bizard, et al. 2009. « Harmonin-b, an Actin-Binding Scaffold Protein, Is Involved in the Adaptation of Mechano-electrical Transduction by Sensory Hair Cells ». *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology* 459 (1): 115-30. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0711-x>.
- Michalski, Nicolas, et Christine Petit. 2015a. « Genetics of auditory mechano-electrical transduction ». *Pflugers Archiv* 467: 49-72. <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1552-9>.
- . 2015b. « Genetics of Auditory Mechano-Electrical Transduction ». *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology* 467 (1): 49-72. <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1552-9>.
- . 2019. « Genes Involved in the Development and Physiology of Both the Peripheral and Central Auditory Systems ». *Annual Review of Neuroscience* 42 (juillet): 67-86. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-070918-050428>.
- Michel, Vincent, Richard J. Goodyear, Dominique Weil, Walter Marcotti, Isabelle Perfettini, Uwe Wolfrum, Corné J. Kros, Guy P. Richardson, et Christine Petit. 2005. « Cadherin 23 Is a Component of the Transient Lateral Links in the Developing Hair Bundles of Cochlear Sensory Cells ». *Developmental Biology* 280 (2): 281-94. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.01.014>.
- Minocha, Shilpi, Delphine Valloton, Yvan Arsenijevic, Jean-René Cardinaux, Raffaella Guidi, Jean-Pierre Hornung, et Cécile Lebrand. 2017. « Nkx2.1 Regulates the Generation of Telencephalic Astrocytes during Embryonic Development ». *Scientific Reports* 7 (mars): 43093. <https://doi.org/10.1038/srep43093>.
- Misawa, Hidemi, Elliott H. Sherr, David J. Lee, Dane M. Chetkovich, Andrew Tan, Christoph E. Schreiner, et David S. Bredt. 2002. « Identification of a Monogenic Locus (Jams1) Causing Juvenile Audiogenic Seizures in Mice ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (23): 10088-93.
- Miyoshi, Goichi, Jens Hjerling-Leffler, Theofanis Karayannis, Vitor H. Sousa, Simon J. B. Butt, James Battiste, Jane E. Johnson, Robert P. Machold, et Gord Fishell. 2010a. « Genetic Fate Mapping Reveals That the Caudal Ganglionic Eminence Produces a Large and Diverse Population of Superficial Cortical Interneurons ». *Journal of Neuroscience* 30 (5): 1582-94. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4515-09.2010>.
- . 2010b. « Genetic Fate Mapping Reveals That the Caudal Ganglionic Eminence Produces a Large and Diverse Population of Superficial Cortical Interneurons ». *Journal of Neuroscience* 30 (5): 1582-94. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4515-09.2010>.
- Moore, Alexandra K., et Michael Wehr. 2013. « Parvalbumin-Expressing Inhibitory Interneurons in Auditory Cortex Are Well-Tuned for Frequency ». *Journal of Neuroscience* 33 (34): 13713-23. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0663-13.2013>.
- Moschopoulos, Nikolaos, Ioannis Nimatoudis, Stergios Kaprinis, Christos Sidoras, et Vasiliki Iliadou. 2020. « Auditory Processing Disorder May Be Present in Schizophrenia and It

- Is Highly Correlated with Formal Thought Disorder ». *Psychiatry Research* 291 (septembre): 113222. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113222>.
- Mosser, Coralie-Anne, Sofia Baptista, Isabelle Arnoux, et Etienne Audinat. 2017. « Microglia in CNS Development: Shaping the Brain for the Future ». *Progress in Neurobiology* 149-150 (février): 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.01.002>.
- Mowery, Todd M., Vibhakar C. Kotak, et Dan H. Sanes. 2015. « Transient Hearing Loss Within a Critical Period Causes Persistent Changes to Cellular Properties in Adult Auditory Cortex ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 25 (8): 2083-94. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu013>.
- Musiek, Frank E., Gail D. Chermak, et Barbara Cone. 2019. « Central Deafness: A Review of Past and Current Perspectives ». *International Journal of Audiology* 58 (10): 605-17. <https://doi.org/10.1080/14992027.2019.1606458>.
- Musiek, Frank, et Stephanie Nagle. 2018. « The Middle Latency Response: A Review of Findings in Various Central Nervous System Lesions ». *Journal of the American Academy of Audiology* 29 (09): 855-67. <https://doi.org/10.3766/jaaa.16141>.
- Nakamura, Mari, Patricia Valerio, Stitipragyan Bhumika, et Tania Rinaldi Barkat. 2020. « Sequential Organization of Critical Periods in the Mouse Auditory System ». *Cell Reports* 32 (8): 108070. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108070>.
- Nakao, Kazuhito, et Kazu Nakazawa. 2014. « Brain state-dependent abnormal LFP activity in the auditory cortex of a schizophrenia mouse model ». *Frontiers in Neuroscience* 8 (juillet). <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00168>.
- Naritoku, D. K., L. B. Mecozzi, M. T. Aiello, et C. L. Faingold. 1992. « Repetition of Audiogenic Seizures in Genetically Epilepsy-Prone Rats Induces Cortical Epileptiform Activity and Additional Seizure Behaviors ». *Experimental Neurology* 115 (3): 317-24. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(92\)90197-x](https://doi.org/10.1016/0014-4886(92)90197-x).
- Natan, Ryan G., John J. Briguglio, Laetitia Mwilambwe-Tshilobo, Sara I. Jones, Mark Aizenberg, Ethan M. Goldberg, et Maria Neimark Geffen. 2015a. « Complementary Control of Sensory Adaptation by Two Types of Cortical Interneurons ». *ELife* 4. <https://doi.org/10.7554/eLife.09868>.
- . 2015b. « Complementary Control of Sensory Adaptation by Two Types of Cortical Interneurons ». *ELife* 4. <https://doi.org/10.7554/eLife.09868>.
- Natan, Ryan G., Winnie Rao, et Maria N. Geffen. 2017a. « Cortical Interneurons Differentially Shape Frequency Tuning Following Adaptation ». *Cell Reports* 21 (4): 878-90. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.10.012>.
- . 2017b. « Cortical Interneurons Differentially Shape Frequency Tuning following Adaptation ». *Cell Reports* 21 (4): 878-90. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.10.012>.
- Nayak, Debasis, Theodore L. Roth, et Dorian B. McGavern. 2014. « Microglia Development and Function ». *Annual Review of Immunology* 32 (1): 367-402. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240>.
- Negandhi, Jaina, et Robert V. Harrison. 2014. « Electron Microscopy ». Auditory Science Lab. 2014. <https://lab.research.sickkids.ca/harrison/electron-microscopy/>.
- Nelken, Israel, Jennifer Bizley, Shihab A. Shamma, et Xiaoqin Wang. 2014. « Auditory Cortical Processing in Real-World Listening: The Auditory System Going Real ». *Journal of Neuroscience* 34 (46): 15135-38. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2989-14.2014>.
- Ngodup, Tenzin, Gabriel E Romero, et Laurence O Trussell. 2020. « Identification of an inhibitory neuron subtype, the L-stellate cell of the cochlear nucleus ». Édité par Dwight E Bergles, Barbara G Shinn-Cunningham, et Dwight E Bergles. *eLife* 9 (novembre): e54350. <https://doi.org/10.7554/eLife.54350>.

- Noda, Takahiro, et Hirokazu Takahashi. 2015. « Anesthetic Effects of Isoflurane on the Tonotopic Map and Neuronal Population Activity in the Rat Auditory Cortex ». *European Journal of Neuroscience* 42 (6): 2298-2311. <https://doi.org/10.1111/ejn.13007>.
- Noor, Abdul, Anath C. Lionel, Sarah Cohen-Woods, Narges Moghimi, James Rucker, Alanna Fennell, Bhooma Thiruvahindrapuram, et al. 2014. « Copy Number Variant Study of Bipolar Disorder in Canadian and UK Populations Implicates Synaptic Genes ». *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 165 (4): 303-13. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32232>.
- Nowakowski, R. S., et N. L. Hayes. 2005. *Developmental Neurobiology*. Édité par Scott Lipnick et Marcus Jacobson. 4^e éd. Springer US. [//www.springer.com/fr/book/9780306483301](http://www.springer.com/fr/book/9780306483301).
- Nowotny, Manuela, et Anthony W. Gummer. 2006. « Nanomechanics of the Subtectorial Space Caused by Electromechanics of Cochlear Outer Hair Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (7): 2120-25. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511125103>.
- Ocak, Emre, Rebecca S. Eshraghi, Ali Danesh, Rahul Mittal, et Adrien A. Eshraghi. 2018. « Central Auditory Processing Disorders in Individuals with Autism Spectrum Disorders ». *Balkan Medical Journal* 35 (5): 367-72. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.2018.0853>.
- Oertel, Donata, Samantha Wright, Xiao-Jie Cao, Michael Ferragamo, et Ramazan Bal. 2011. « The Multiple Functions of T Stellate/Multipolar/Chopper Cells in the Ventral Cochlear Nucleus ». *Hearing research* 276 (1-2): 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.10.018>.
- Oertel, Donata, et Eric D. Young. 2004. « What's a Cerebellar Circuit Doing in the Auditory System? » *Trends in Neurosciences* 27 (2): 104-10. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2003.12.001>.
- Ohsawa, Keiko, Yoshinori Imai, Yo Sasaki, et Shinichi Kohsaka. 2004. « Microglia/Macrophage-Specific Protein Iba1 Binds to Fimbrin and Enhances Its Actin-Bundling Activity ». *Journal of Neurochemistry* 88 (4): 844-56. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02213.x>.
- Oliver, Douglas L. 2005. « Neuronal Organization in the Inferior Colliculus ». In *The Inferior Colliculus*, édité par Jeffery A. Winer et Christoph E. Schreiner, 69-114. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-27083-3_2.
- OMS. 2021. « Deafness and Hearing Loss ». 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>.
- Orduz, David, Najate Benamer, Domiziana Ortolani, Eva Coppola, Lisa Vigier, Alessandra Pierani, et María Cecilia Angulo. 2019. « Developmental Cell Death Regulates Lineage-Related Interneuron-Oligodendroglia Functional Clusters and Oligodendrocyte Homeostasis ». *Nature Communications* 10 (1): 4249. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11904-4>.
- Orduz, David, Paloma P Maldonado, Maddalena Balia, Mateo Vélez-Fort, Vincent de Sars, Yuchio Yanagawa, Valentina Emiliani, et Maria Cecilia Angulo. 2015. « Interneurons and oligodendrocyte progenitors form a structured synaptic network in the developing neocortex ». Édité par Ben Barres. *eLife* 4 (avril): e06953. <https://doi.org/10.7554/eLife.06953>.
- O'Reilly, Jamie A., et Bernard A. Conway. 2021. « Classical and Controlled Auditory Mismatch Responses to Multiple Physical Deviances in Anaesthetised and Conscious Mice ». *European Journal of Neuroscience* 53 (6): 1839-54. <https://doi.org/10.1111/ejn.15072>.

- Osen, K. K., et K. Roth. 1969. « Histochemical Localization of Cholinesterases in the Cochlear Nuclei of the Cat, with Notes on the Origin of Acetylcholinesterase-Positive Afferents and the Superior Olive ». *Brain Research* 16 (1): 165-85. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(69\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(69)90092-4).
- Oswald, Anne-Marie M., Max L. Schiff, et Alex D. Reyes. 2006. « Synaptic mechanisms underlying auditory processing ». *Current Opinion in Neurobiology*, Sensory systems, 16 (4): 371-76. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.06.015>.
- Ouellet, Lydia, et Etienne de Villers-Sidani. 2014. « Trajectory of the main GABAergic interneuron populations from early development to old age in the rat primary auditory cortex ». *Frontiers in Neuroanatomy* 8 (juin). <https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00040>.
- Pan, Bifeng, Nurunisa Akyuz, Xiao-Ping Liu, Yukako Asai, Carl Nist-Lund, Kiyoto Kurima, Bruce H. Derfler, et al. 2018. « TMC1 Forms the Pore of Mechanosensory Transduction Channels in Vertebrate Inner Ear Hair Cells ». *Neuron* 99 (4): 736-753.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.033>.
- Pan, Bifeng, Gwenaëlle S. Géléoc, Yukako Asai, Geoffrey C. Horwitz, Kiyoto Kurima, Kotaro Ishikawa, Yoshiyuki Kawashima, Andrew J. Griffith, et Jeffrey R. Holt. 2013. « TMC1 and TMC2 Are Components of the Mechanotransduction Channel in Hair Cells of the Mammalian Inner Ear ». *Neuron* 79 (3): 504-15. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.019>.
- Paolicelli, Rosa C., Giulia Bolasco, Francesca Pagani, Laura Maggi, Maria Scianni, Patrizia Panzanelli, Maurizio Giustetto, et al. 2011. « Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development ». *Science* 333 (6048): 1456-58. <https://doi.org/10.1126/science.1202529>.
- Paridaen, Judith TML, et Wieland B. Huttner. 2014. « Neurogenesis during Development of the Vertebrate Central Nervous System ». *EMBO Reports* 15 (4): 351-64. <https://doi.org/10.1002/embr.201438447>.
- Park, Kang Min, Byung In Lee, Kyong Jin Shin, Sam Yeol Ha, JinSe Park, Si Eun Kim, et Sung Eun Kim. 2019. « Pivotal Role of Subcortical Structures as a Network Hub in Focal Epilepsy: Evidence from Graph Theoretical Analysis Based on Diffusion-Tensor Imaging ». *Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)* 15 (1): 68-76. <https://doi.org/10.3988/jcn.2019.15.1.68>.
- Parker, Ashley, Kouros Parham, et Erika Skoe. 2022. « Noise Exposure Levels Predict Blood Levels of the Inner Ear Protein Prestin ». *Scientific Reports* 12 (1): 1154. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05131-z>.
- Patel, Chirag R., Carmela Redhead, Andrea L. Cervi, et Huiming Zhang. 2012. « Neural sensitivity to novel sounds in the rat's dorsal cortex of the inferior colliculus as revealed by evoked local field potentials ». *Hearing Research* 286 (1): 41-54. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.02.007>.
- « PCDH15 protein expression summary - The Human Protein Atlas ». s. d. Consulté le 4 juin 2022. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000150275-PCDH15>.
- Pecka, Michael, Ida Siveke, Benedikt Grothe, et Nicholas A. Lesica. 2009. « Enhancement of ITD Coding Within the Initial Stages of the Auditory Pathway ». *Journal of Neurophysiology* 103 (1): 38-46. <https://doi.org/10.1152/jn.00628.2009>.
- Pecka, Michael, Thomas P Zahn, Bernadette Saunier-Rebori, Ida Siveke, Felix Felmy, Lutz Wiegrebe, Achim Klug, George D Pollak, et Benedikt Grothe. 2007. « Inhibiting the inhibition: a neuronal network for sound localization in reverberant environments ». *The Journal of Neuroscience* 27 (7): 1782-90. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5335-06.2007>.

- Peek, Stacey L., Kar Men Mah, et Joshua A. Weiner. 2017. « Regulation of Neural Circuit Formation by Protocadherins ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 74 (22): 4133-57. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2572-3>.
- Peferoen, Laura, Markus Kipp, Paul Valk, Johannes M Noort, et Sandra Amor. 2014. « Oligodendrocyte-microglia cross-talk in the central nervous system ». *Immunology* 141 (3): 302-13. <https://doi.org/10.1111/imm.12163>.
- Penny, J. E., R. D. Brown, K. B. Hodges, S. A. Kupetz, D. W. Glenn, et P. C. Jobe. 1983. « Cochlear Morphology of the Audiogenic-Seizure Susceptible (AGS) or Genetically Epilepsy Prone Rat (GEPR) ». *Acta Oto-Laryngologica* 95 (1-2): 1-12. <https://doi.org/10.3109/00016488309130909>.
- Pepermans, Elise, Vincent Michel, Richard Goodyear, Crystel Bonnet, Samia Abdi, Typhaine Dupont, Souad Gherbi, et al. 2014. « The CD2 Isoform of Protocadherin-15 Is an Essential Component of the Tip-link Complex in Mature Auditory Hair Cells ». *EMBO Molecular Medicine* 6 (7): 984-92. <https://doi.org/10.15252/emmm.201403976>.
- Pepermans, Elise, et Christine Petit. 2015. « The tip-link molecular complex of the auditory mechano-electrical transduction machinery ». *Hearing Research*, IEB Kyoto, 330 (décembre): 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.05.005>.
- Peterson, Nathaniel R., David B. Pisoni, et Richard T. Miyamoto. 2010. « Cochlear Implants and Spoken Language Processing Abilities: Review and Assessment of the Literature ». *Restorative Neurology and Neuroscience* 28 (2): 237-50. <https://doi.org/10.3233/RNN-2010-0535>.
- Phillips, Elizabeth A. K., Christoph E. Schreiner, et Andrea R. Hasenstaub. 2017. « Cortical Interneurons Differentially Regulate the Effects of Acoustic Context ». *Cell Reports* 20 (4): 771-78. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.07.001>.
- Pickles, J. O., S. D. Comis, et M. P. Osborne. 1984. « Cross-Links between Stereocilia in the Guinea Pig Organ of Corti, and Their Possible Relation to Sensory Transduction ». *Hearing Research* 15 (2): 103-12.
- Pickles, James O. 2015. « Chapter 1 - Auditory pathways: anatomy and physiology ». In *Handbook of Clinical Neurology*, édité par Michael J. Aminoff, François Boller, et Dick F. Swaab, 129:3-25. The Human Auditory System. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62630-1.00001-9>.
- Picton, T. W., S. A. Hillyard, H. I. Krausz, et R. Galambos. 1974. « Human Auditory Evoked Potentials. I: Evaluation of Components ». *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 36 (janvier): 179-90. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(74\)90155-2](https://doi.org/10.1016/0013-4694(74)90155-2).
- Pierson, M., et S.L. Liebmann. 1992. « Noise Exposure-Induced Audiogenic Seizure Susceptibility in Sprague-Dawley Rats ». *Epilepsy Research* 13 (1): 35-42. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(92\)90005-E](https://doi.org/10.1016/0920-1211(92)90005-E).
- Postal, Olivier, Warren Bakay, Typhaine Dupont, Alexa Buck, Élodie Daoud, Christine Petit, Nicolas Michalski, et Boris Gourévitch. 2022. « Characterising Subcutaneous Cortical Auditory Evoked Potentials in Mice ». *Hearing Research*, juillet, 108566. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2022.108566>.
- Postal, Olivier, Typhaine Dupont, Warren Bakay, Noémi Dominique, Christine Petit, Nicolas Michalski, et Boris Gourévitch. 2020. « Spontaneous Mouse Behavior in Presence of Dissonance and Acoustic Roughness ». *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.588834>.
- Pujol, Rémy, et Marc Lenoir. 2017. « Cellules ciliées externes (CCE) : Généralités ». Voyage au centre de l'audition. 2017. <http://www.cochlea.eu/cellules-cillees/externes-generalites>.

- Purves, Dale, George J. Augustine, David Fitzpatrick, William Hall, Anthony-Samuel LaMantia, James O. McNamara, Léonard White, et al. 2015. *Neurosciences*. 5^e éd. Bruxelles: DE BOECK UNIVERSITE.
- Purves, Dale, George J. Augustine, David Fitzpatrick, Lawrence C. Katz, Anthony-Samuel LaMantia, James O. McNamara, et S. Mark Williams. 2001. « The Inner Ear ». *Neuroscience. 2nd Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10946/>.
- Qiu, Xufeng, et Ulrich Müller. 2018. « Mechanically Gated Ion Channels in Mammalian Hair Cells ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00100>.
- Rauschecker, J. P, et B. Tian. 2000. « Mechanisms and streams for processing of “what” and “where” in auditory cortex ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 (22): 11800-806.
- Reid, Howard M., et Robert L. Collins. 1989. « Monaural and Binaural Audiogenic Seizures in Mice ». *Behavioral and Neural Biology* 51 (2): 136-44. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(89\)90767-X](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(89)90767-X).
- Reigel, C. E., J. W. Dailey, et P. C. Jobe. 1986. « The Genetically Epilepsy-Prone Rat: An Overview of Seizure-Prone Characteristics and Responsiveness to Anticonvulsant Drugs ». *Life Sciences* 39 (9): 763-74. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90454-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90454-6).
- Reiners, Jan, Erwin van Wijk, Tina Märker, Ulrike Zimmermann, Karin Jürgens, Heleen te Brinke, Nora Overlack, et al. 2005. « Scaffold protein harmonin (USH1C) provides molecular links between Usher syndrome type 1 and type 2 ». *Human Molecular Genetics* 14 (24): 3933-43. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi417>.
- Rickheit, Gesa, Hannes Maier, Nicola Strenzke, Corina E. Andreescu, Chris I. De Zeeuw, Adrian Muenscher, Anselm A. Zdebik, et Thomas J. Jentsch. 2008. « Endocochlear Potential Depends on Cl⁻ Channels: Mechanism Underlying Deafness in Bartter Syndrome IV ». *The EMBO Journal* 27 (21): 2907-17. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.203>.
- Rius-Pérez, S., A. M. Tormos, S. Pérez, et R. Taléns-Visconti. 2018. « Vascular Pathology: Cause or Effect in Alzheimer Disease? ». *Neurologia (Barcelona, Spain)* 33 (2): 112-20. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.07.010>.
- Roberts, Rosalinda C., Charles E. Ribak, et Wolfgang H. Oertel. 1985. « Increased Numbers of GABAergic Neurons Occur in the Inferior Colliculus of an Audiogenic Model of Genetic Epilepsy ». *Brain Research* 361 (1-2): 324-38. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91303-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91303-4).
- Robertson, Donald, et Bardia Paki. 2002. « Role of L-Type Ca²⁺ Channels in Transmitter Release from Mammalian Inner Hair Cells. II. Single-Neuron Activity ». *Journal of Neurophysiology* 87 (6): 2734-40. <https://doi.org/10.1152/jn.2002.87.6.2734>.
- Rogalla, Meike M., et K. Jannis Hildebrandt. 2020. « Aging But Not Age-Related Hearing Loss Dominates the Decrease of Parvalbumin Immunoreactivity in the Primary Auditory Cortex of Mice ». *ENeuro* 7 (3). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0511-19.2020>.
- Ross, K. C, et J. R Coleman. 2000. « Developmental and Genetic Audiogenic Seizure Models: Behavior and Biological Substrates ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24 (6): 639-53. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00029-4](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00029-4).
- Rothschild, Gideon, Israel Nelken, et Adi Mizrahi. 2010. « Functional Organization and Population Dynamics in the Mouse Primary Auditory Cortex ». *Nature Neuroscience* 13 (3): 353-60. <https://doi.org/10.1038/nn.2484>.
- Rouiller, E. M, M. Capt, M. Dolivo, et F. De Ribaupierre. 1989. « Neuronal organization of the stapedius reflex pathways in the rat: a retrograde HRP and viral transneuronal tracing study ». *Brain Res* 476 (1): 21-28.

- Rubenstein, J. L. R., et M. M. Merzenich. 2003. « Model of Autism: Increased Ratio of Excitation/Inhibition in Key Neural Systems ». *Genes, Brain and Behavior* 2 (5): 255-67. <https://doi.org/10.1034/j.1601-183X.2003.00037.x>.
- Rudy, Bernardo, Gordon Fishell, SooHyun Lee, et Jens Hjerling-Leffler. 2011. « Three Groups of Interneurons Account for Nearly 100% of Neocortical GABAergic Neurons ». *Developmental neurobiology* 71 (1): 45-61. <https://doi.org/10.1002/dneu.20853>.
- Ruebhausen, M. R., T. J. Brozoski, et C. A. Bauer. 2012. « A Comparison of the Effects of Isoflurane and Ketamine Anesthesia on Auditory Brainstem Response (ABR) Thresholds in Rats ». *Hearing Research* 287 (1): 25-29. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.04.005>.
- Rupert, Deborah D., et Stephen D. Shea. 2022. « Parvalbumin-Positive Interneurons Regulate Cortical Sensory Plasticity in Adulthood and Development Through Shared Mechanisms ». *Frontiers in Neural Circuits* 16. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncir.2022.886629>.
- Russell, I J, et P M Sellick. 1978. « Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea. ». *The Journal of Physiology* 284 (novembre): 261-90.
- Safieddine, Saaid, Aziz El-Amraoui, et Christine Petit. 2012. « The Auditory Hair Cell Ribbon Synapse: From Assembly to Function ». *Annual Review of Neuroscience* 35 (1): 509-28. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113705>.
- Sahly, Iman, Eric Dufour, Cataldo Schietroma, Vincent Michel, Amel Bahloul, Isabelle Perfettini, Elise Pepermans, et al. 2012. « Localization of Usher 1 Proteins to the Photoreceptor Calyceal Processes, Which Are Absent from Mice ». *The Journal of Cell Biology* 199 (2): 381-99. <https://doi.org/10.1083/jcb.201202012>.
- Sanes, Dan H, et Sarah M N Woolley. 2011. « A Behavioral Framework to Guide Research on Central Auditory Development and Plasticity ». *Neuron* 72 (6): 912-29. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.005>.
- Sardone, Rodolfo, Petronilla Battista, Francesco Panza, Madia Lozupone, Chiara Griseta, Fabio Castellana, Rosa Capozzo, et al. 2019. « The Age-Related Central Auditory Processing Disorder: Silent Impairment of the Cognitive Ear ». *Frontiers in Neuroscience* 13. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00619>.
- Saviane, Chiara, et R. Angus Silver. 2006. « Fast Vesicle Reloading and a Large Pool Sustain High Bandwidth Transmission at a Central Synapse ». *Nature* 439 (7079): 983-87. <https://doi.org/10.1038/nature04509>.
- Sawatari, Hiroyuki, Yoshihide Tanaka, Makoto Takemoto, Masataka Nishimura, Kayoko Hasegawa, Kazuya Saitoh, et Wen-Jie Song. 2011. « Identification and Characterization of an Insular Auditory Field in Mice: Insular Auditory Field in Mice ». *European Journal of Neuroscience* 34 (12): 1944-52. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07926.x>.
- Scharfman, Helen E. 2007. « The Neurobiology of Epilepsy ». *Current neurology and neuroscience reports* 7 (4): 348-54.
- Scharfman, Helen E., Andres M. Kanner, Alon Friedman, Ingmar Blümcke, Candice E. Crocker, Fernando Cendes, Ramon Diaz-Arrastia, et al. 2018. « Epilepsy as a Network Disorder (2): What Can We Learn from Other Network Disorders Such as Dementia and Schizophrenia, and What Are the Implications for Translational Research? ». *Epilepsy & Behavior* 78 (janvier): 302-12. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.09.016>.
- Schmidt-Supprian, Marc, et Klaus Rajewsky. 2007. « Vagaries of Conditional Gene Targeting ». *Nature Immunology* 8 (7): 665-68. <https://doi.org/10.1038/ni0707-665>.

- Schneider, Eberhard, Tina Märker, Angelika Daser, Gabriele Frey-Mahn, Vera Beyer, Ruxandra Farcas, Brigitte Schneider-Rätzke, et al. 2009. « Homozygous Disruption of PDZD7 by Reciprocal Translocation in a Consanguineous Family: A New Member of the Usher Syndrome Protein Interactome Causing Congenital Hearing Impairment ». *Human Molecular Genetics* 18 (4): 655-66. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn395>.
- Schofield, Brett R., et Nichole L. Beebe. 2019. « Subtypes of GABAergic Cells in the Inferior Colliculus ». *Hearing Research*, Annual Reviews 2019, 376 (mai): 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.10.001>.
- Schreiber, R. A., A. Lehmann, B. E. Ginsburg, et J. L. Fuller. 1980. « Development of Susceptibility to Audiogenic Seizures in DBA/2J and Rb Mice: Toward a Systematic Nomenclature of Audiogenic Seizure Levels ». *Behavior Genetics* 10 (6): 537-43. <https://doi.org/10.1007/BF01066222>.
- Schreiner, Christoph E, et Daniel B Polley. 2014. « Auditory Map Plasticity: Diversity in Causes and Consequences ». *Current Opinion in Neurobiology* 24 (février): 143-56. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.11.009>.
- Schreiner, Christoph E., et Jeffery A. Winer. 2007. « Auditory Cortex Mapmaking: Principles, Projections, and Plasticity ». *Neuron* 56 (2): 356-65. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.10.013>.
- Selten, Martijn, Hans van Bokhoven, et Nael Nadif Kasri. 2018. « Inhibitory control of the excitatory/inhibitory balance in psychiatric disorders ». *F1000Research* 7 (janvier). <https://doi.org/10.12688/f1000research.12155.1>.
- « Sémiologie des crises épileptiques ». 2016. Collège des Enseignants de Neurologie. 23 novembre 2016. <https://www.cen-neurologie.fr/fr/premier-cycle/s%C3%A9miologie-analytique/syndrome-myogene-myopathique/syndrome-myogene-myopathique-16>.
- Senften, Mathias, Martin Schwander, Piotr Kazmierczak, Concepcion Lillo, Jung-Bum Shin, Tama Hasson, Gwenaëlle S. G. Géléoc, et al. 2006. « Physical and Functional Interaction between Protocadherin 15 and Myosin VIIa in Mechanosensory Hair Cells ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (7): 2060-71. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4251-05.2006>.
- Sewell, W. F. 1984. « The Relation between the Endocochlear Potential and Spontaneous Activity in Auditory Nerve Fibres of the Cat ». *The Journal of Physiology* 347 (février): 685-96. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1984.sp015090>.
- Seybold, Bryan A., Amelia Stanco, Kathleen K. A. Cho, Gregory B. Potter, Carol Kim, Vikaas S. Sohal, John L. R. Rubenstein, et Christoph E. Schreiner. 2012. « Chronic reduction in inhibition reduces receptive field size in mouse auditory cortex ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (34): 13829-34. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205909109>.
- Sharma, Anu, Julia Campbell, et Garrett Cardon. 2015. « Developmental and Cross-Modal Plasticity in Deafness: Evidence from the P1 and N1 Event Related Potentials in Cochlear Implanted Children ». *International Journal of Psychophysiology: Official Journal of the International Organization of Psychophysiology* 95 (2): 135-44. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2014.04.007>.
- Sharma, Anu, et Teresa Mitchell. 2013. « The Impact of Deafness on the Human Central Auditory and Visual Systems ». In *Deafness*, 189-215. Springer Handbook of Auditory Research. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/2506_2013_7.
- Shearer, A. Eliot, Michael S. Hildebrand, et Richard JH Smith. 1993. « Hereditary Hearing Loss and Deafness Overview ». In *GeneReviews®*, édité par Margaret P. Adam, Holly H. Ardinger, Roberta A. Pagon, Stephanie E. Wallace, Lora JH Bean, Ghayda Mirzaa, et Anne Amemiya. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/>.

- Sheppard, Adam M., Deng-Ling Zhao, et Richard Salvi. 2018. « Isoflurane Anesthesia Suppresses Distortion Product Otoacoustic Emissions in Rats ». *Journal of Otology* 13 (2): 59-64. <https://doi.org/10.1016/j.joto.2018.03.002>.
- Sheppard, Adam, Christina Stocking, Massimo Ralli, et Richard Salvi. 2020. « A review of auditory gain, low-level noise and sound therapy for tinnitus and hyperacusis ». *International Journal of Audiology* 59 (1): 5-15. <https://doi.org/10.1080/14992027.2019.1660812>.
- Sherrill, Hanna E., Philippe Jean, Elizabeth C. Driver, Tessa R. Sanders, Tracy S. Fitzgerald, Tobias Moser, et Matthew W. Kelley. 2019. « Pou4f1 Defines a Subgroup of Type I Spiral Ganglion Neurons and Is Necessary for Normal Inner Hair Cell Presynaptic Ca²⁺ Signaling ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 39 (27): 5284-98. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2728-18.2019>.
- Shin, Daesung, Shu-Ting Lin, Ying-Hui Fu, et Louis J. Ptáček. 2013. « Very Large G Protein-Coupled Receptor 1 Regulates Myelin-Associated Glycoprotein via Gas/Gαq-Mediated Protein Kinases A/C ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (47): 19101-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318501110>.
- Shore, Susan E., Larry E. Roberts, et Berthold Langguth. 2016. « Maladaptive Plasticity in Tinnitus — Triggers, Mechanisms and Treatment ». *Nature Reviews Neurology* 12 (3): 150-60. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2016.12>.
- Shrestha, Brikha R., Chester Chia, Lorna Wu, Sharon G. Kujawa, M. Charles Liberman, et Lisa V. Goodrich. 2018. « Sensory Neuron Diversity in the Inner Ear Is Shaped by Activity ». *Cell* 174 (5): 1229-1246.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.007>.
- Siegel, Steven J., Patrick Connolly, Yuling Liang, Robert H. Lenox, Raquel E. Gur, Warren B. Bilker, Steven J. Kaness, et Bruce I. Turetsky. 2003. « Effects of Strain, Novelty, and NMDA Blockade on Auditory-Evoked Potentials in Mice ». *Neuropsychopharmacology* 28 (4): 675-82. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300087>.
- Siemens, J., P. Kazmierczak, A. Reynolds, M. Sticker, A. Littlewood-Evans, et U. Müller. 2002. « The Usher Syndrome Proteins Cadherin 23 and Harmonin Form a Complex by Means of PDZ-Domain Interactions ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (23): 14946-51. <https://doi.org/10.1073/pnas.232579599>.
- Siemens, Jan, Concepcion Lillo, Rachel A. Dumont, Anna Reynolds, David S. Williams, Peter G. Gillespie, et Ulrich Müller. 2004. « Cadherin 23 Is a Component of the Tip Link in Hair-Cell Stereocilia ». *Nature* 428 (6986): 950-55. <https://doi.org/10.1038/nature02483>.
- Sierra, Amanda, Juan M. Encinas, Juan J. P. Deudero, Jessica H. Chancey, Grigori Enikolopov, Linda S. Overstreet-Wadiche, Stella E. Tsirka, et Mirjana Maletic-Savatic. 2010. « Microglia Shape Adult Hippocampal Neurogenesis through Apoptosis-Coupled Phagocytosis ». *Cell Stem Cell* 7 (4): 483-95. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.08.014>.
- Simler, S., E. Hirsch, L. Danober, J. Motte, M. Vergnes, et C. Marescaux. 1994. « C-Fos Expression after Single and Kindled Audiogenic Seizures in Wistar Rats ». *Neuroscience Letters* 175 (1-2): 58-62. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)91077-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)91077-4).
- Simonyan, Kristina. 2019. « Recent advances in understanding the role of the basal ganglia ». *F1000Research* 8 (janvier). <https://doi.org/10.12688/f1000research.16524.1>.
- Sjöstedt, Evelina, Wen Zhong, Linn Fagerberg, Max Karlsson, Nicholas Mitsios, Csaba Adori, Per Oksvold, et al. 2020. « An atlas of the protein-coding genes in the human,

- pig, and mouse brain ». *Science* 367 (6482): eaay5947.
<https://doi.org/10.1126/science.aay5947>.
- Skradski, Shana L., Anna M. Clark, Hiamio Jiang, H. Steve White, Ying-Hui Fu, et Louis J. Ptáček. 2001. « A Novel Gene Causing a Mendelian Audiogenic Mouse Epilepsy ». *Neuron* 31 (4): 537-44. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00397-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00397-X).
- Smiley, John F., Troy A. Hackett, Cynthia Bleiwas, Eva Petkova, Aleksandar Stankov, J. John Mann, Gorazd Rosoklija, et Andrew J. Dwork. 2016. « Reduced GABA Neuron Density in Auditory Cerebral Cortex of Subjects with Major Depressive Disorder ». *Journal of Chemical Neuroanatomy, Unbiased Stereology of Neural Systems: From Normal Aging to Mental Illness and Neurodegenerative Diseases*, 76 (octobre): 108-21. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2015.10.008>.
- Smith, Nicholas A., Laurel J. Trainor, et David I. Shore. 2006. « The Development of Temporal Resolution: Between-Channel Gap Detection in Infants and Adults ». *Journal of Speech, Language, and Hearing Research: JSLHR* 49 (5): 1104-13. [https://doi.org/10.1044/1092-4388\(2006/079\)](https://doi.org/10.1044/1092-4388(2006/079)).
- Sorte, Hanne S., Elen Gjevik, Eili Sponheim, Kristin L. Eiklid, et Olaug K. Rødningen. 2013. « Copy Number Variation Findings among 50 Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder ». *Psychiatric Genetics* 23 (2): 61-69. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32835d718b>.
- Southwell, Derek G., Mercedes F. Paredes, Rui P. Galvao, Daniel L. Jones, Robert C. Froemke, Joy Y. Sebe, Clara Alfaro-Cervello, et al. 2012. « Intrinsically Determined Cell Death of Developing Cortical Interneurons ». *Nature* 491 (7422): 109-13. <https://doi.org/10.1038/nature11523>.
- Spoendlin, H. 1972. « Innervation Densities of the Cochlea ». *Acta Oto-Laryngologica* 73 (2): 235-48.
- . 1973. « THE INNERVATION OF THE COCHLEAR RECEPTOR ». In *Basic Mechanisms in Hearing*, édité par AAGE R. Møller, 185-234. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-504250-5.50012-6>.
- Squarzoni, Paola, Guillaume Oller, Guillaume Hoeffel, Lorena Pont-Lezica, Philippe Rostaing, Donovan Low, Alain Bessis, Florent Ginhoux, et Sonia Garel. 2014. « Microglia Modulate Wiring of the Embryonic Forebrain ». *Cell Reports* 8 (5): 1271-79. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.07.042>.
- Stanislaw, Harold, et Natasha Todorov. 1999. « Calculation of Signal Detection Theory Measures ». *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers* 31 (1): 137-49. <https://doi.org/10.3758/BF03207704>.
- Stiebler, I., R. Neulist, I. Fichtel, et G. Ehret. 1997. « The Auditory Cortex of the House Mouse: Left-Right Differences, Tonotopic Organization and Quantitative Analysis of Frequency Representation ». *Journal of Comparative Physiology A* 181 (6): 559-71. <https://doi.org/10.1007/s003590050140>.
- Sun, Shuhao, Travis Babola, Gabriela Pregernig, Kathy S. So, Matthew Nguyen, Shin-San M. Su, Adam T. Palermo, Dwight E. Bergles, Joseph C. Burns, et Ulrich Müller. 2018. « Hair Cell Mechanotransduction Regulates Spontaneous Activity and Spiral Ganglion Subtype Specification in the Auditory System ». *Cell* 174 (5): 1247-1263.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.008>.
- Sun, Wei, Senthilvelan Manohar, Aditi Jayaram, Anand Kumaraguru, Qiang Fu, Ji Li, et Brian Allman. 2011. « Early Age Conductive Hearing Loss Causes Audiogenic Seizure and Hyperacusis Behavior ». *Hearing Research* 282 (1-2): 178-83. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.08.004>.
- Supp, Gernot G., Focko L. Higgen, Joerg F. Hipp, Andreas K. Engel, et Markus Siegel. 2018. « Mid-Latency Auditory Evoked Potentials Differentially Predict Sedation and Drug

- Level Under Opioid and Hypnotic Agents ». *Frontiers in Pharmacology* 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2018.01427>.
- Taberner, Annette M., et M. Charles Liberman. 2005. « Response Properties of Single Auditory Nerve Fibers in the Mouse ». *Journal of Neurophysiology* 93 (1): 557-69. <https://doi.org/10.1152/jn.00574.2004>.
- Takesian, Anne E., Luke J. Bogart, Jeff W. Lichtman, et Takao K. Hensch. 2018a. « Inhibitory Circuit Gating of Auditory Critical-Period Plasticity ». *Nature Neuroscience*, janvier, 1. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0064-2>.
- . 2018b. « Inhibitory Circuit Gating of Auditory Critical-Period Plasticity ». *Nature Neuroscience* 21 (2): 218-27. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0064-2>.
- Tan, Christine M., Wendy Lecluyse, Don McFerran, et Ray Meddis. 2013. « Tinnitus and Patterns of Hearing Loss ». *Journal of the Association for Research in Otolaryngology* 14 (2): 275-82. <https://doi.org/10.1007/s10162-013-0371-6>.
- Tang, Min, Maria Eugenia Alaniz, Daniel Felsky, Badri Vardarajan, Dolly Reyes-Dumeyer, Rafael Lantigua, Martin Medrano, et al. 2020. « Synonymous variants associated with Alzheimer disease in multiplex families ». *Neurology: Genetics* 6 (4): e450. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000450>.
- Teschner, Magnus J., Bryan A. Seybold, Brian J. Malone, Jana Hüning, et Christoph E. Schreiner. 2016. « Effects of Signal-to-Noise Ratio on Auditory Cortical Frequency Processing ». *Journal of Neuroscience* 36 (9): 2743-56. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2079-15.2016>.
- Threlkeld, Steven W., Stephanie C. Penley, Glenn D. Rosen, et R. Holly Fitch. 2008. « Detection of silent gaps in white noise following cortical deactivation in rats ». *Neuroreport* 19 (8): 893-98. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3283013d7e>.
- Tian, B, D Reser, A Durham, A Kustov, et J P Rauschecker. 2001. « Functional specialization in rhesus monkey auditory cortex ». *Science (New York, N.Y.)* 292 (5515): 290-93. <https://doi.org/10.1126/science.1058911>.
- Tolbert, L. P., et D. K. Morest. 1982. « The Neuronal Architecture of the Anteroventral Cochlear Nucleus of the Cat in the Region of the Cochlear Nerve Root: Golgi and Nissl Methods ». *Neuroscience* 7 (12): 3013-30. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90227-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90227-5).
- Tolbert, L. P., D. K. Morest, et D. A. Yurgelun-Todd. 1982. « The Neuronal Architecture of the Anteroventral Cochlear Nucleus of the Cat in the Region of the Cochlear Nerve Root: Horseradish Peroxidase Labelling of Identified Cell Types ». *Neuroscience* 7 (12): 3031-52. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90228-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90228-7).
- Tremblay, Kelly L., et Robert F. Burkard. 2012. *Translational Perspectives in Auditory Neuroscience: Hearing Across the Life Span — Assessment and Disorders*. Plural Publishing.
- Tremblay, Robin, Soohyun Lee, et Bernardo Rudy. 2016. « GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits ». *Neuron* 91 (2): 260-92. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>.
- Tsukano, Hiroaki, Masao Horie, Takeshi Bo, Arikuni Uchimura, Ryuichi Hishida, Masaharu Kudoh, Kuniyuki Takahashi, Hirohide Takebayashi, et Katsuei Shibuki. 2015. « Delineation of a Frequency-Organized Region Isolated from the Mouse Primary Auditory Cortex ». *Journal of Neurophysiology* 113 (7): 2900-2920. <https://doi.org/10.1152/jn.00932.2014>.
- Tsukano, Hiroaki, Masao Horie, Ryuichi Hishida, Kuniyuki Takahashi, Hirohide Takebayashi, et Katsuei Shibuki. 2016. « Quantitative Map of Multiple Auditory Cortical Regions with a Stereotaxic Fine-Scale Atlas of the Mouse Brain ». *Scientific Reports* 6 (février): 22315. <https://doi.org/10.1038/srep22315>.

- Uhrig, Lynn, Jacobo D. Sitt, Amaury Jacob, Jordy Tasserie, Pablo Barttfeld, Morgan Dupont, Stanislas Dehaene, et Bechir Jarraya. 2018. « Resting-State Dynamics as a Cortical Signature of Anesthesia in Monkeys ». *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 129 (5): 942-58. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002336>.
- Venet, Thomas, Cécile Rumeau, Pierre Campo, Benoît Rieger, Aurélie Thomas, et Chantal Cour. 2011. « Neuronal Circuits Involved in the Middle-Ear Acoustic Reflex ». *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology* 119 (1): 146-55. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq312>.
- Verpy, Elisabeth, Michel Leibovici, Nicolas Michalski, Richard J. Goodyear, Carine Houdon, Dominique Weil, Guy P. Richardson, et Christine Petit. 2011. « Stereocilin Connects Outer Hair Cell Stereocilia to One Another and to the Tectorial Membrane ». *Journal of Comparative Neurology* 519 (2): 194-210. <https://doi.org/10.1002/cne.22509>.
- Verpy, Elisabeth, Dominique Weil, Michel Leibovici, Richard J. Goodyear, Ghislaine Hamard, Carine Houdon, Gaëlle M. Lefèvre, et al. 2008. « Stereocilin-Deficient Mice Reveal the Origin of Cochlear Waveform Distortions ». *Nature* 456 (7219): 255-58. <https://doi.org/10.1038/nature07380>.
- Villers-Sidani, Etienne de, Edward F Chang, Shaowen Bao, et Michael M Merzenich. 2007. « Critical period window for spectral tuning defined in the primary auditory cortex (A1) in the rat ». *The Journal of Neuroscience* 27 (1): 180-89. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3227-06.2007>.
- Villers-Sidani, Etienne de, et Michael M. Merzenich. 2011. « Lifelong Plasticity in the Rat Auditory Cortex: Basic Mechanisms and Role of Sensory Experience ». *Progress in Brain Research* 191: 119-31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53752-2.00009-6>.
- Villers-Sidani, Etienne de, Kimberly L. Simpson, Y.-F. Lu, Rick C. S. Lin, et Michael M. Merzenich. 2008. « Manipulating Critical Period Closure across Different Sectors of the Primary Auditory Cortex ». *Nature Neuroscience* 11 (8): 957-65. <https://doi.org/10.1038/nn.2144>.
- Vinogradova, L. V., G. D. Kuznetsova, et A. M. L. Coenen. 2005. « Audiogenic Seizures Associated with a Cortical Spreading Depression Wave Suppress Spike-Wave Discharges in Rats ». *Physiology & Behavior* 86 (4): 554-58. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.017>.
- Wake, Hiroaki, Andrew J. Moorhouse, Shozo Jinno, Shinichi Kohsaka, et Junichi Nabekura. 2009. « Resting Microglia Directly Monitor the Functional State of Synapses In Vivo and Determine the Fate of Ischemic Terminals ». *Journal of Neuroscience* 29 (13): 3974-80. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009>.
- Wamsley, Brie, et Gord Fishell. 2017. « Genetic and Activity-Dependent Mechanisms Underlying Interneuron Diversity ». *Nature Reviews. Neuroscience* 18 (5): 299-309. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.30>.
- Wang, Jian, Sandra L McFadden, Donald Caspary, et Richard Salvi. 2002. « Gamma-Aminobutyric Acid Circuits Shape Response Properties of Auditory Cortex Neurons ». *Brain Research* 944 (1-2): 219-31.
- Wang, Xiaoqin. 2007. « Neural coding strategies in auditory cortex ». *Hearing Research, Auditory Cortex 2006 - The Listening Brain*, 229 (1-2): 81-93. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2007.01.019>.
- Wang, Xiyue, Xiao-lin Chou, Li I. Zhang, et Huizhong Whit Tao. 2020. « Zona Incerta: An Integrative Node for Global Behavioral Modulation ». *Trends in Neurosciences* 43 (2): 82-87. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.11.007>.
- Warren, J. D., et T. D. Griffiths. 2003. « Distinct Mechanisms for Processing Spatial Sequences and Pitch Sequences in the Human Auditory Brain ». *The Journal of*

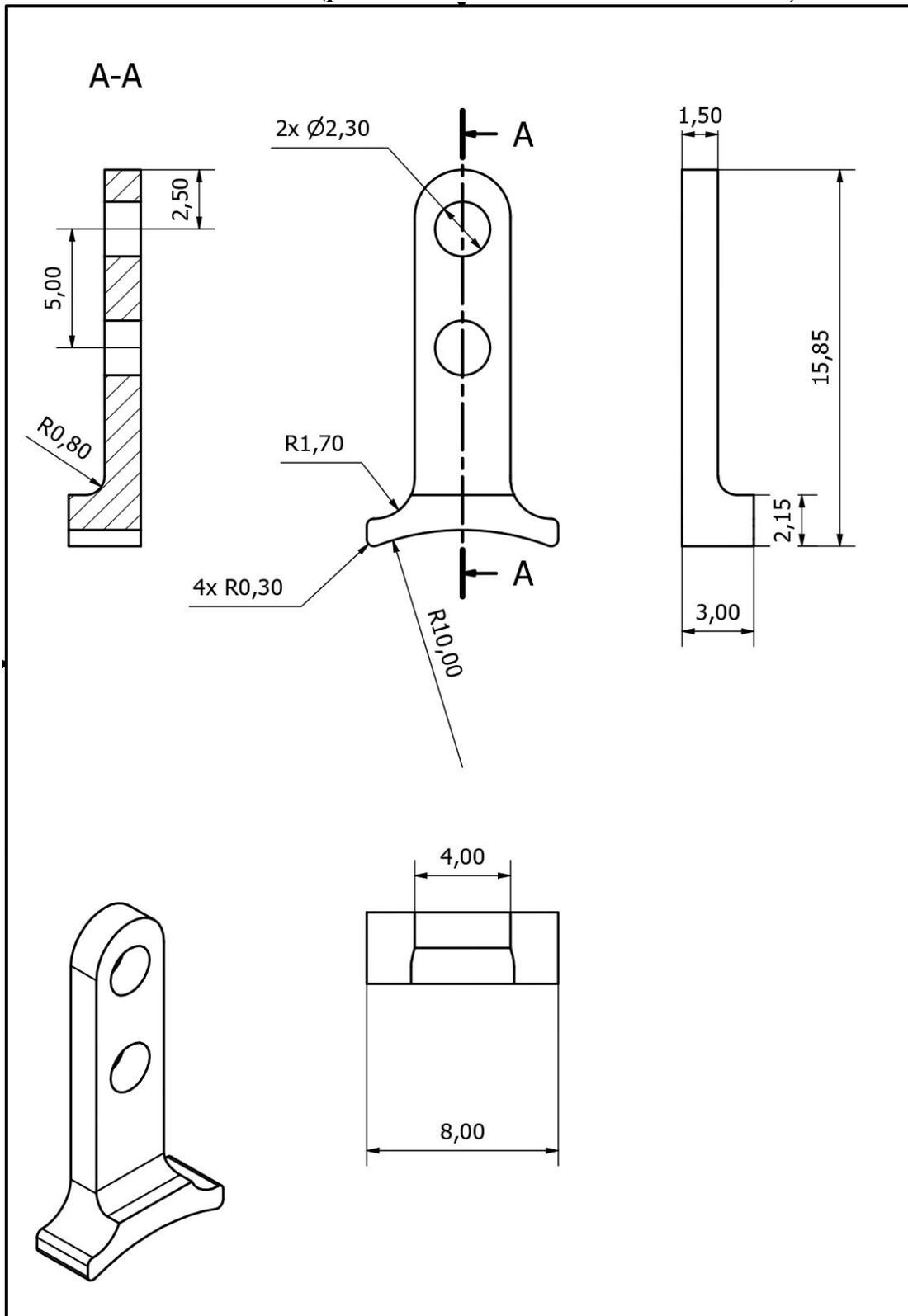
- Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (13): 5799-5804.
- Webler, Ryan D., Carmen Hamady, Chris Molnar, Kevin Johnson, Leo Bonilha, Berry S. Anderson, Claartje Bruin, Daryl E. Bohning, Mark S. George, et Ziad Nahas. 2020. « Decreased Interhemispheric Connectivity and Increased Cortical Excitability in Unmedicated Schizophrenia: A Prefrontal Interleaved TMS fMRI Study ». *Brain Stimulation* 13 (5): 1467-75. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2020.06.017>.
- Wehr, M., et A. M Zador. 2005. « Synaptic mechanisms of forward suppression in rat auditory cortex ». *Neuron* 47 (3): 437-45.
- Wehr, Michael, et Anthony M. Zador. 2003. « Balanced Inhibition Underlies Tuning and Sharpens Spike Timing in Auditory Cortex ». *Nature* 426 (6965): 442-46. <https://doi.org/10.1038/nature02116>.
- Weible, Aldis P., Alexandra K. Moore, Christine Liu, Leah DeBlander, Haiyan Wu, Clifford Kentros, et Michael Wehr. 2014a. « Perceptual Gap Detection Is Mediated by Gap Termination Responses in Auditory Cortex ». *Current Biology: CB* 24 (13): 1447-55. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.031>.
- Weible, Aldis P., Alexandra K. Moore, Christine Liu, Leah DeBlander, Haiyan Wu, Clifford Kentros, et Michael Wehr. 2014b. « Perceptual Gap Detection Is Mediated by Gap Termination Responses in Auditory Cortex ». *Current Biology* 24 (13): 1447-55. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.031>.
- Weisz, Catherine J. C., Mohamed Lehar, Hakim Hiel, Elisabeth Glowatzki, et Paul Albert Fuchs. 2012. « Synaptic Transfer from Outer Hair Cells to Type II Afferent Fibers in the Rat Cochlea ». *The Journal of Neuroscience* 32 (28): 9528-36. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6194-11.2012>.
- Weisz, Catherine J. C., Sean-Paul G. Williams, Chad S. Eckard, Christopher B. Divito, David W. Ferreira, Kristen N. Fantetti, Shenin A. Dettwyler, et al. 2021. « Outer Hair Cell Glutamate Signaling through Type II Spiral Ganglion Afferents Activates Neurons in the Cochlear Nucleus in Response to Nondamaging Sounds ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 41 (13): 2930-43. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0619-20.2021>.
- Weston, Michael D., Mirjam W. J. Luijendijk, Kurt D. Humphrey, Claes Möller, et William J. Kimberling. 2004. « Mutations in the VLRG1 Gene Implicate G-Protein Signaling in the Pathogenesis of Usher Syndrome Type II ». *American Journal of Human Genetics* 74 (2): 357-66. <https://doi.org/10.1086/381685>.
- Wiesmann, Maximilian, Amanda J Kiliaan, et Jurgen AHR Claassen. 2013. « Vascular aspects of cognitive impairment and dementia ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 33 (11): 1696-1706. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.159>.
- Willaredt, Marc A., Lena Ebbers, et Hans Gerd Nothwang. 2014. « Central Auditory Function of Deafness Genes ». *Hearing Research* 312 (juin): 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2014.02.004>.
- Winer, Jeffery A. 2011. « A Profile of Auditory Forebrain Connections and Circuits ». In *The Auditory Cortex*, édité par Jeffery A. Winer et Christoph E. Schreiner, 41-74. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0074-6_2.
- Winer, Jeffery A., I. T. Diamond, et Denis Raczkowski. 1977. « Subdivisions of the Auditory Cortex of the Cat: The Retrograde Transport of Horseradish Peroxidase to the Medial Geniculate Body and Posterior Thalamic Nuclei ». *Journal of Comparative Neurology* 176 (3): 387-417. <https://doi.org/10.1002/cne.901760307>.
- Winkler, Istvan, Susan Denham, et Carles Escera. 2013. « Auditory Event-Related Potentials ». In *Encyclopedia of Computational Neuroscience*, édité par Dieter Jaeger

- et Ranu Jung, 1-29. New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7320-6_99-1.
- Winkowski, Daniel E, et Patrick O Kanold. 2013. « Laminar Transformation of Frequency Organization in Auditory Cortex ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33 (4): 1498-1508. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3101-12.2013>.
- Winter, Ian M., Donald Robertson, et Graeme K. Yates. 1990. « Diversity of Characteristic Frequency Rate-Intensity Functions in Guinea Pig Auditory Nerve Fibres ». *Hearing Research* 45 (3): 191-202. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(90\)90120-E](https://doi.org/10.1016/0378-5955(90)90120-E).
- Wöhr, M., D. Orduz, P. Gregory, H. Moreno, U. Khan, K. J. Vörckel, D. P. Wolfer, et al. 2015. « Lack of Parvalbumin in Mice Leads to Behavioral Deficits Relevant to All Human Autism Core Symptoms and Related Neural Morphofunctional Abnormalities ». *Translational Psychiatry* 5 (3): e525. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.19>.
- Wolf, Peter, et Matthias Koepp. 2012. « Chapter 16 - Reflex Epilepsies ». In *Handbook of Clinical Neurology*, édité par Hermann Stefan et William H. Theodore, 107:257-76. Epilepsy. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52898-8.00016-1>.
- Wong, Fong Kuan, et Oscar Marín. 2019. « Developmental Cell Death in the Cerebral Cortex ». *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 35 (1): 523-42. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125204>.
- Woolf, Clifford J., et Qiufu Ma. 2007. « Nociceptors—Noxious Stimulus Detectors ». *Neuron* 55 (3): 353-64. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.016>.
- Wu, Chen-Chi, Yin-Hung Lin, Tien-Chen Liu, Kai-Nan Lin, Wei-Shiung Yang, Chuan-Jen Hsu, Pei-Lung Chen, et Che-Ming Wu. 2015. « Identifying Children With Poor Cochlear Implantation Outcomes Using Massively Parallel Sequencing ». *Medicine* 94 (27): e1073. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001073>.
- Wu, S. H., et D. Oertel. 1984. « Intracellular Injection with Horseradish Peroxidase of Physiologically Characterized Stellate and Bushy Cells in Slices of Mouse Anteroventral Cochlear Nucleus ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 4 (6): 1577-88.
- Xiong, Wei, Nicolas Grillet, Heather M. Elledge, Thomas F. J. Wagner, Bo Zhao, Kenneth R. Johnson, Piotr Kazmierczak, et Ulrich Müller. 2012. « TMHS Is an Integral Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells ». *Cell* 151 (6): 1283-95. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.041>.
- Yagi, Hideshi, Hisashi Tokano, Mitsuyo Maeda, Tetsuji Takabayashi, Takashi Nagano, Hiroshi Kiyama, Shigeharu Fujieda, Ken Kitamura, et Makoto Sato. 2007. « Vlgr1 Is Required for Proper Stereocilia Maturation of Cochlear Hair Cells ». *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms* 12 (2): 235-50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2007.01046.x>.
- Yariz, Kemal O., Duygu Duman, Celia Zazo Seco, Julia Dallman, Mingqian Huang, Theo A. Peters, Asli Sirmaci, et al. 2012. « Mutations in OTOGL, Encoding the Inner Ear Protein Otogelin-like, Cause Moderate Sensorineural Hearing Loss ». *American Journal of Human Genetics* 91 (5): 872-82. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.09.011>.
- Ye, Hui, et Stephanie Kaszuba. 2017. « Inhibitory or excitatory? Optogenetic interrogation of the functional roles of GABAergic interneurons in epileptogenesis ». *Journal of Biomedical Science* 24 (1): 93. <https://doi.org/10.1186/s12929-017-0399-8>.
- Young, Eric D., et Donata Oertel. 2004. « Cochlear Nucleus ». *The Synaptic Organization of the Brain*, janvier. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195159561.003.0004>.

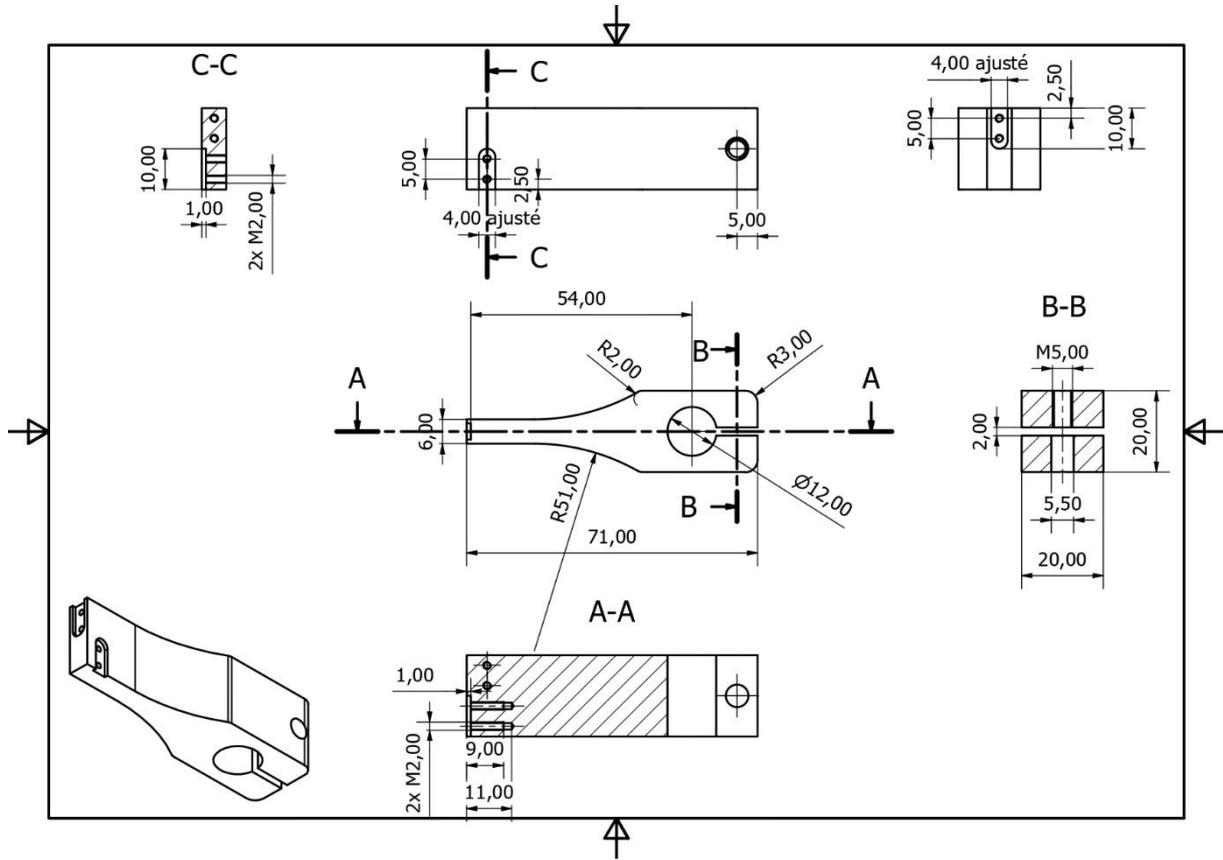
- Zatorre, R. J, et P. Belin. 2001. « Spectral and temporal processing in human auditory cortex ». *Cerebral Cortex* 11: 946-53.
- Zenisek, RyAnna, Nicholas S Thaler, Griffin P Sutton, Erik N Ringdahl, Joel S Snyder, et Daniel N Allen. 2015. « Auditory Processing Deficits in Bipolar Disorder with and without a History of Psychotic Features ». *Bipolar Disorders* 17 (7): 769-80. <https://doi.org/10.1111/bdi.12333>.
- Zhang, L. I, S. Bao, et M. M Merzenich. 2001. « Persistent and specific influences of early acoustic environments on primary auditory cortex ». *Nat Neurosci* 4 (11): 1123-30.
- Zhang, Y., et N. Suga. 2000. « Modulation of Responses and Frequency Tuning of Thalamic and Collicular Neurons by Cortical Activation in Mustached Bats ». *Journal of Neurophysiology* 84 (1): 325-33. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.325>.
- Zhao, Bo, Zizhen Wu, Nicolas Grillet, Linxuan Yan, Wei Xiong, Sarah Harkins-Perry, et Ulrich Müller. 2014. « TMIE Is an Essential Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells ». *Neuron* 84 (5): 954-67. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.041>.
- Zheng, J., W. Shen, D. Z. He, K. B. Long, L. D. Madison, et P. Dallos. 2000. « Prestin Is the Motor Protein of Cochlear Outer Hair Cells ». *Nature* 405 (6783): 149-55. <https://doi.org/10.1038/35012009>.
- Zhou, Xiaoming, Philip H.-S. Jen, Kevin L. Seburn, Wayne N. Frankel, et Qing Y. Zheng. 2006. « Auditory Brainstem Responses in 10 Inbred Strains of Mice ». *Brain Research* 1091 (1): 16-26. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.01.107>.
- Zhou, Xiaoming, et Michael M Merzenich. 2012. « Environmental noise exposure degrades normal listening processes ». *Nature Communications* 3: 843. <https://doi.org/10.1038/ncomms1849>.
- Zhuang, Jun, Lydia Ng, Derric Williams, Matthew Valley, Yang Li, Marina Garrett, et Jack Waters. 2017. « An extended retinotopic map of mouse cortex ». *eLife* 6: e18372. <https://doi.org/10.7554/eLife.18372>.
- Zilberter, Misha. 2016. « Reality of Inhibitory GABA in Neonatal Brain: Time to Rewrite the Textbooks? ». *Journal of Neuroscience* 36 (40): 10242-44. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2270-16.2016>.
- Zinnamon, Fhatarah A., Freya G. Harrison, Sandra S. Wenas, Arne F. Meyer, Qing Liu, Kuan Hong Wang, et Jennifer F. Linden. 2019. « Hearing Loss Promotes Schizophrenia-Relevant Brain and Behavioral Abnormalities in a Mouse Model of Human 22q11.2 Deletion Syndrome ». *BioRxiv*, février, 539650. <https://doi.org/10.1101/539650>.

Annexes

Annexe 1 : Plan de la pièce de maintien à fixer au crâne des souris élaborée avec Eric Nicoleau (plate-forme FabLab de l'Institut Pasteur)



Annexe 2 : Plan du socle permettant d'immobiliser la souris via la pièce de maintien fixée à son crâne, élaboré avec Eric Nicoleau (plate-forme FabLab de l'Institut Pasteur)



Annexe 3 : Zones d'expression communes aux gènes *Nkx2.1* et *Cdhr23*

Different zones	<i>Cdhr23</i>	<i>Nkx2.1</i>	Comments & conclusions
Cerebellar lobes (Cb)	Fibers and cellular bodies	Mainly background noise	No co-staining
Caudate putamen (CPu)	Fibers	Fibers	Ought to revise in the future
Deep mesencephalic nucleus (DPME)	Cellular bodies	Cellular bodies	*
Hippocampus (Hipp)	CA: glial-shaped cells neural cellular bodies DG: granular neurons	CA: cellular bodies DG: cellular bodies	Clearly not the same cell population, there is no co-staining
Inferior colliculus (IC)	Neurons and glial cells	Neurons and glial cells	Possible interesting area
Laterodorsal tegmental nucleus (Ldtg)	Cellular bodies	Fibers	Not clear staining in the <i>Nkx2.1</i>
Lateral septal nucleus (LSI)	Very strong signal of fibers and cellular bodies	Could not well asses the <i>Nkx2.1</i> model	Ought to revise in the future
Lateral preoptic area (LPO)	Cellular bodies	No staining	
Globus pallidus (GP)	Fibers	Fibers	Part of the basal ganglia, interesting
Auditory cortex (AC)	Microglia and few neurons	Neurons	Not the same cell population
Piriform cortex (Pir)	Neurons (cellular bodies and dendrites) and some glial-shaped cells	Neural cellular bodies and glial-shaped cells	
Pontine reticular nucleus, caudal part (PnC)	Cellular bodies	No staining	
Superior colliculus (SC)	Well organised neurons and glial cells	Dispersed neurons and glial cells	Possible interesting area
Substantia nigra reticulata (SNr)	Fibers and cellular bodies	Mainly fibers	Maybe assessed different bregmas, Part of the basal ganglia, interesting area
Stria terminalis (St)	Fibers	Fibers	Output pathway, not auditory related
Subthalamic Nuclei	Cellular bodies	A lot of staining	

Comparaison des régions cérébrales exprimant les gènes *Nkx2.1* et *Cdhr23* chez les souris *Nkx2.1^{cre/+}* : *Rosa-tdTomato* et *Cdhr23^{cre/+}* : *Rosa-tdTomato* respectivement.

En vert les régions où le rapporteur tdTomato est retrouvé dans les mêmes structures cellulaires chez les deux lignées. Le gène *Cdhr23* cKO y est donc probablement aussi inactivité chez les souris *Nkx2.1^{cre/+}* : *Cdhr23^{lox/lox}* (souris *Cdhr23* cKO) en plus de l'AC et ses régions peuvent donc participer au phénotype des souris *Cdhr23* cKO.

En orange les régions où le rapporteur est retrouvé dans des structures cellulaires différentes. Il est donc peu probable que *Cdhr23* soit inactivé chez les souris *Cdhr23* cKO puisque *Nkx2.1* ne semble pas exprimé dans les mêmes types cellulaires mais ces données doivent encore être confirmées.

En rouge les régions où le rapporteur n'est retrouvé que dans une des deux lignées ou dans des structures cellulaires différentes. Ces régions ne sont donc pas modifiées chez la souris *Cdhr23* cKO et ne sont donc pas impliquées dans le phénotype observé chez ces souris.

Déficits centraux auditifs dans les formes génétiques de surdité : L'exemple des gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*

Résumé : Au cours des trois dernières décennies, l'étude des formes héréditaires de surdité par une approche génétique a permis de mieux comprendre la physiologie de la cochlée, l'organe sensoriel de l'audition. Cependant, cette approche ne permet pas d'étudier aussi efficacement les dysfonctionnements du système auditif central affectant pourtant de nombreux patients. Ces déficits auditifs centraux sont mal connus et, dans certains cas, passent même inaperçus. Ceci est probablement dû à l'atteinte cochléaire qui prive le cerveau de tout ou partie des informations acoustiques qu'il reçoit normalement. Afin d'identifier les formes génétiques de surdités pouvant associer à la fois des déficits auditifs périphériques et centraux, mon laboratoire de thèse étudie la susceptibilité des souris aux crises audiogènes. Ce sont des épilepsies réflexes en réponse à un son de forte intensité, une manifestation typique de déficits centraux. En effet, plusieurs lignées de souris mutantes pour des gènes de surdité présentent une susceptibilité aux crises audiogènes. C'est notamment le cas des souris porteuses de mutation dans les gènes *Cdhr23* et *Pcdh15*, sourdes à l'état bi-allélique mais susceptibles aux crises audiogènes à l'état mono-allélique sans perte auditive. Il a été suggéré que ces deux gènes de surdité jouent un rôle dans le développement des interneurons inhibiteurs corticaux exprimant la parvalbumine (PV).

L'objectif de ma thèse était d'une part de développer des outils permettant d'identifier facilement la présence de troubles auditifs centraux dans les modèles murins de surdité d'origine génétique, et d'autre part d'approfondir les rôles de *Cdhr23* et *Pcdh15* dans le système auditif central grâce à des modèles murins d'inactivation conditionnelle dans l'encéphale. J'ai tout d'abord mis au point chez la souris une méthode de mesure non invasive des potentiels évoqués auditifs corticaux, et mis en évidence que les souris perçoivent différemment des sons aversifs aux caractéristiques acoustiques particulières, qui, chez l'humain, activent un large réseau de neurones bien au-delà de ceux nécessaires à l'audition. Ces résultats permettront à l'avenir d'étudier plus finement les déficits auditifs centraux. Dans un deuxième temps, j'ai montré, grâce à des techniques d'électrophysiologie *in vivo* et des études psychoacoustiques chez la souris, que l'inactivation conditionnelle de *Cdhr23* et *Pcdh15* modifiait certaines caractéristiques spectrales et temporelles des réponses neuronales à des sons sans en modifier significativement leur perception. De plus, j'ai pu préciser le rôle de ces deux gènes dans le développement des interneurons à PV. Alors qu'une précédente étude suggérait que *Cdhr23* et *Pcdh15* étaient exprimés dans des neuroblastes à destination du cortex auditif, mes résultats montrent qu'ils seraient exprimés dans l'ensemble du cortex et majoritairement dans la microglie (pour *Cdhr23*) et dans des progéniteurs d'oligodendrocytes (pour *Pcdh15*), deux populations fortement liées au développement et au fonctionnement des interneurons à PV. *Cdhr23* est aussi exprimé dans des neurones sous-corticaux de régions auditives, motrices et multisensorielles. Le rôle de *Cdhr23* et *Pcdh15* dans le développement des interneurons à PV serait donc indirect et plus complexe qu'envisagé. Il faudra par la suite prendre en compte cette nouvelle avancée pour analyser précisément les conséquences fonctionnelles de leur inactivation dans le cerveau.

Ainsi, mes résultats montrent que ces deux gènes de surdité ont un rôle intrinsèque dans le système nerveux central sans être restreints aux circuits auditifs et participent probablement à de nombreux mécanismes cellulaires dont la diversité doit encore être explorée afin de mieux caractériser les déficits centraux qui pourraient exister chez des patients porteurs de mutations *CDHR23* ou *PCDH15*.

Mots-clés : Déficiets auditifs centraux – Cadhérine 23 – Protocadhérine 15 – Interneurones à parvalbumine– Hyperexcitabilité - Cortex auditif

Central auditory deficits in genetic forms of deafness: Example genes *Cdhr23* and *Pcdh15*

Abstract: Over the past three decades, the study of hereditary forms of deafness has provided considerable insight into the molecular mechanisms of hearing, particularly those involved in the development and/or physiology of the auditory sensory organ, the cochlea. In contrast, the genetic approach has provided little information about the central auditory system although many people have central auditory dysfunctions. Central auditory deficits are poorly understood and can, in some cases, go unnoticed. This is likely as a result of cochlear damage depriving the brain of all or part of the acoustic information it would normally receive. To identify genetic forms of deafness that result in both peripheral and central hearing deficits, the Michalski research group uses the susceptibility of mice to audiogenic seizures, epileptic seizures triggered in response to loud sound, which are a manifestation of central deficits. Several strains of mice carrying mutations in deafness genes show susceptibility to audiogenic seizures in the bi-allelic state (if the deafness is not complete) or in the mono-allelic state. Through this strategy, two such genes, *Cdhr23* and *Pcdh15*, have been identified to be involved in the establishment of cortical neurons expressing parvalbumin (PV) which serve as the primary cortical inhibitory neurons in the auditory cortex.

The aim of my thesis was a) to develop tools to easily identify the presence of central auditory deficits in genetic models of deafness in mice and b) to further investigate the roles of *cdhr23* and *pcdh15* in the central auditory system through conditional inactivation of *Cdhr23* and *Pcdh15* in the mouse brain. First, I developed a non-invasive method to measure auditory cortical evoked potentials in mice and demonstrated that mice respond to certain aversive acoustic features differently to humans for which a large network of neurons (even outside the auditory system) is activated. These results will allow to study more precisely the central deficits associated with hearing impairments. Second, using *in vivo* electrophysiology and psychoacoustics following the conditional inactivation of *Cdhr23* and *Pcdh15*, I could show that the spectral and temporal characteristics of neuronal responses to sounds were modified without significantly altering their perception by the mice. Furthermore, I was able to better characterise the role of these two genes in the development of PV interneurons. Although a previous study suggested that *Cdhr23* and *Pcdh15* were expressed in neuroblasts destined to migrate to the auditory cortex, my results show that in fact they are expressed extensively throughout the cortex with the majority in the microglia (for *Cdhr23*) and in oligodendrocyte progenitors (for *Pcdhr15*), both populations strongly associated with the development and function of PV interneurons. In addition, *Cdhr23* was also found to be expressed in subcortical neuronal populations of the auditory, motor, and multisensory regions. These new advances in demonstrating the role of *Cdhr23* and *Pcdh15* to be more intricate and indirect than initially thought need to be considered for future investigations into the consequences of their inactivation in the brain.

Thus, my results show that two deafness genes have an intrinsic role in the central nervous system without being restricted to auditory circuits and probably participate in many different cellular mechanisms that remain to be explored in order to better characterize the central deficits that might exist in patients carrying *CDHR23* or *PCDH15* mutations.

Keywords: Central auditory deficits – Cadherin23 – Protocadherin15 – Parvalbumin interneurons – Hyperexcitability – Auditory Cortex