



HAL
open science

Le rôle des interneurones à parvalbumine striataux dans la prise de décision perceptuelle

Oriana Lavielle

► **To cite this version:**

Oriana Lavielle. Le rôle des interneurones à parvalbumine striataux dans la prise de décision perceptuelle. Neurosciences [q-bio.NC]. Sorbonne Université, 2022. Français. NNT : 2022SORUS536 . tel-04328129

HAL Id: tel-04328129

<https://theses.hal.science/tel-04328129>

Submitted on 7 Dec 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.

Sorbonne Université

Ecole doctorale 158 : Cerveau – Cognition – Comportement

Institut du Cerveau - Equipe « Neurophysiology of Repetitive Behaviours »

Le rôle des interneurones à parvalbumine striataux dans la prise de décision perceptuelle

Par Oriana LAVIELLE

Thèse de doctorat de Neurosciences

Dirigée par Dr. Eric BURGUIÈRE

Présentée et soutenue publiquement le 6 Décembre 2022

Devant un jury composé de :

Dr Valérie EGO-STENGEL (DR, NeuroPSI, Saclay)

Rapportrice

Pr Camilla BELLONE (PU, Unige, Genève)

Rapportrice

Dr Mehdi KHAMASSI (DR, ISIR, Paris)

Examineur

Dr Elodie FINO (CR, Inmed, Marseille)

Examinatrice

Dr Eric BURGUIÈRE (CR, ICM, Paris)

Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury d'avoir accepté mon invitation et d'avoir pris le temps d'évaluer mon travail. Merci particulièrement à Elodie et Mehdi pour m'avoir accompagnée depuis les débuts de ce projet.

Je souhaiterais évidemment remercier Eric Burguière, mon directeur de thèse, de m'avoir accueilli dans cette chouette et stimulante équipe, merci pour ton positivisme, pour toutes ces fois où je me suis faite « Burguièred », mais où je sortais de ces réunions toujours remotivée alors que plus d'une fois j'y suis entrée un peu dépitée...

Merci à toute l'équipe NERB, qui rend ce lieu de vie si agréable au quotidien, merci pour ces moments de convivialités, ces discussions (extra) scientifiques stimulantes, et vos précieux conseils.

Une énorme pensée pour les Nerbiies, avec qui j'ai commencé cette thèse, vous avez été une famille pendant ces années. Marine, Lindsay, Sami, Lizbeth, Huguette, Eliana, merci pour votre aide sans limite, ces fous rires de décompression, votre amitié a été une vraie batterie au jour le jour ! Eliana, I'm glad we got to spend so many hours cleaning cages together those last few years, thanks for being such an amazing partner in mice, partner in cry, and the best work buddy.

Merci à toutes mes Vieilles pu-plumes de Carnaval, vous apportez une folle saveur à l'ICM, j'espère qu'on aura encore beaucoup d'occasions d'enfiler nos plus beaux costumes ensemble !

A JB et Lucas, mes gars sûrs de l'ICM (Deudz revient.), merci pour ces fous rires autour d'un café, d'une bière ou d'une paillasse, j'ai déjà hâte des prochains.

Et évidemment merci à tous mes copains hors ICM, vous êtes d'un soutien sans faille depuis toujours, à me dire combien c'est incroyable ce que je fais (sans même toujours trop vraiment savoir ce que je fais), et à me faire oublier cette thèse quand c'était nécessaire.

Une énorme pensée pour princesse Ha-Rang, on s'est suivies dans cette aventure du premier jour jusqu'au dernier, accompagnées de Bordeaux au Japon à Glasgow. A une semaine d'écart, we did it ! On peut être fières je crois.

Je souhaiterai évidemment remercier ma famille, à mes grands-parents pour leur curiosité, a la Tati, gracias por tu energía y por hacerme sentir chingona !! Et à mes parents pour tous les mots d'encouragement et leur soutien inconditionnel durant toutes ces années.

Et plus que tout, merci Théo, je n'ai pas les mots pour te dire à quel point je suis reconnaissante de t'avoir à mes côtés. Notre futur ensemble est une source de motivation inépuisable.

RÉSUMÉ

La prise de décision perceptuelle est un processus dans lequel les informations sensorielles disponibles sont utilisées pour choisir une réponse et guider le comportement. En fonction de la quantité d'informations pertinentes et de leur fiabilité, le processus décisionnel peut prendre plus ou moins de temps afin d'optimiser la réponse apportée. En effet lorsque l'information est ambiguë, il devient nécessaire de retarder l'exécution de son choix pour accumuler plus d'informations.

Mon travail de thèse a consisté à comprendre les mécanismes qui sous-tendent cette régulation de l'action lors de la prise de décision. Pour cela, nous nous sommes intéressés à la régulation de l'activité du striatum, structure impliquée dans la sélection de l'action, exercée par les interneurons à parvalbumine (PV). Ces interneurons reçoivent de nombreuses afférences d'aires corticales préfrontales impliquées dans les processus décisionnels. Lorsque ces interneurons sont activés, ils exercent un fort pouvoir inhibiteur sur les neurones striataux de projections, modulant ainsi l'activité sortante du striatum. Ainsi nous avons fait l'hypothèse que les interneurons PV sont recrutés durant le processus de prise de décision. Plus la difficulté de la décision serait élevée, plus l'inhibition striatale par les interneurons PV serait nécessaire pour retarder l'exécution du choix.

Pour adresser cette hypothèse, nous avons développé une tâche innovante de prise de décision perceptuelle chez la souris dans le but de mesurer précisément la durée du processus décisionnel. Cette tâche comportementale est couplée à des enregistrements par photométrie permettant de suivre l'activité des interneurons PV du striatum au cours de la tâche. Les résultats décrits dans ce manuscrit indiquent une variation de la durée de la prise de décision en fonction du contexte d'incertitude de la souris. Plus la souris devient experte dans la tâche, plus la durée de la décision diminue suggérant une optimisation de ce processus décisionnel. A l'inverse, plus la difficulté de la tâche augmente, plus la durée de la prise de décision augmente. Les enregistrements par photométrie ont montré un recrutement des interneurons PV lors de la prise de décision ainsi qu'une forte diminution de leur activité précisément lors de l'exécution du choix, suggérant leur rôle crucial dans la régulation de l'action pendant ce processus cognitif.

De plus, nous avons étudié la densité striatale des interneurons PV et ChAT chez la souris *Sapap3-KO*, un modèle exprimant des comportements répétés pathologiques analogues à des symptômes observés dans les troubles obsessionnels compulsifs. Dans cette pathologie, il a été proposé que la prise de décision en contexte d'incertitude pouvait être fortement affectée. Ainsi, si le réseau d'interneurones striataux participe à la régulation de l'action dans la prise de décision, il est pertinent de s'intéresser à l'intégrité de ce réseau chez les souris *Sapap3-KO*. Pour étudier cette hypothèse, nous avons développé une approche méthodologique permettant d'évaluer la distribution des interneurons PV et ChAT sur l'ensemble du striatum. Cette méthodologie a permis d'identifier de manière objective et non supervisée des différences de densités d'interneurones entre des souris *Sapap3-KO* et des souris témoins dans différentes régions du striatum. Nos résultats montrent une altération de la densité des interneurons PV dans les striatum associatif et limbique, régions impliquées dans la sélection de l'action, tandis qu'une diminution de la densité des interneurons ChAT a été observée dans la région sensorimotrice du striatum.

ABSTRACT

Perceptual decision-making is a process of using available sensory information to select a response and guide behavior. Depending on the amount of relevant information and its reliability, the decision process may take more or less time to optimize the response. Indeed, if the information is ambiguous, delaying the choice execution is needed to gather more evidence.

My PhD project aimed at understanding the mechanisms underlying such action regulation during decision-making. In this regard,, we were interested in the regulation of the activity of the striatum, a structure involved in action selection, exerted by the parvalbumin interneurons (PV). These PV interneurons receive many afferents from prefrontal cortical areas involved in decision processes. al cortical areas involved in decision processes. When activated, these interneurons exert strong inhibition on striatal projection neurons, modulating the overall striatal output.

We hypothesised here that PV interneurons are recruited during perceptual decision-making. The higher the decision, the stronger the striatal inhibition by PV interneurons would have to be to delay the choice execution.

We developed a novel freely-moving task of perceptual decision-making in mice enabling to precisely measure the duration of the decision process. This behavioural task is paired with fiber photometry recordings in order to monitor striatal PV interneurons activity along the task. The results described in this manuscript showed variation of the decision-making duration as a function of the mouse uncertainty context. As the mouse becomes expert in the task, the decision-making duration decreases suggesting an optimization of the decision process. Conversely, the higher the task difficulty, the longer the decision-making duration. Regarding the interneuronal activity, fiber photometry recordings showed a recruitment of PV interneurons during decision-making followed by a strong decrease of their activity specifically during their choice execution, suggesting a crucial role of these interneurons in action regulation during this cognitive process.

Moreover, we also studied striatal density of PV and ChAT interneurons in the *Sapap3*-KO mouse, a model showing pathological repetitive behaviors mimicking symptoms observed in obsessional compulsive disorder (OCD). It has been proposed that patients suffering from OCD have altered decision-making in a context of uncertainty. Therefore, if striatal interneurons network is involved in action regulation in the context of decision-making, it is relevant to investigate the integrity of such interneuronal network in the *Sapap3*-KO mouse model.

To study this hypothesis, we developed a methodological approach allowing for the visualization of striatal PV and ChAT interneurons. This method allowed to identify in a non-supervised manner differential clusters of density between *Sapap3*-KO and WT mice in discrete striatal regions. Our results showed an altered density of PV interneurons in the associative and the limbic striatum, regions involved in action selection, while a decreased density of ChAT interneurons was observed in the sensorimotor striatum.

SOMMAIRE

CHAPITRE 1. LES GANGLIONS DE LA BASE, UNE DIVERSITÉ FONCTIONNELLE AU SERVICE DU CONTRÔLE DE L'ACTION	20
1.1. ANATOMIE FONCTIONNELLE DES GANGLIONS DE LA BASE.....	20
1.1.1. <i>Bref aperçu historique de la fonction des GB.....</i>	21
1.1.2. <i>Structures anatomiques.....</i>	23
1.1.3. <i>Modèle du triple circuit.....</i>	26
1.1.4. <i>Les boucles anatomo-fonctionnelles.....</i>	27
1.2. LE STRIATUM, LIEU DE CONVERGENCE ET DU TRAITEMENT DE L'INFORMATION	31
1.2.1. <i>La micro-circuiterie striatale.....</i>	31
1.2.2. <i>Enrichissement de l'information, conséquence de sa circulation au sein des boucles anatomo- fonctionnelles corticostriatales.....</i>	43
1.2.3. <i>Impact du réseau d'interneurones sur les fonctions striatales</i>	45
CHAPITRE 2. RÉGULATION STRIATALE DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE.....	52
2.1. DÉFINITION ET MESURE DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE	52
2.1.1. <i>La décision perceptuelle : comment l'intégration d'information sensorielle guide notre comportement.....</i>	52
2.1.2. <i>Capter de manière optimale le processus de prise de décision à l'aide de tâches comportementales.....</i>	57
2.2. BASES NEUROBIOLOGIQUES DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE	65
2.2.1. <i>Genèse de la prise de décision perceptuelle dans le cortex sensoriel et préfrontal.....</i>	65
2.2.2. <i>Intégration et sélection de l'action dans le striatum</i>	68
CHAPITRE 3. LES COMPORTEMENTS RÉPÉTITIFS, CONSÉQUENCES D'UNE DÉRÉGULATION DES BOUCLES CORTICO-BASALES.....	76
3.1. D'UN COMPORTEMENT RÉPÉTITIF SAIN À PATHOLOGIQUE	76
3.1.1. <i>Émergence du caractère répétitif.....</i>	77
3.1.2. <i>Tic et toc, une étiologie et pathologie partagée ?.....</i>	80
3.1.3. <i>Corrélat anatomiques des comportements répétés pathologiques</i>	81

3.1.4. <i>Corrélat cellulaires striataux des comportements répétés pathologiques</i>	83
3.2. UTILISATION DE MODÈLES ANIMAUX POUR L'ÉTUDE DE MALADIES NEUROPSYCHIATRIQUES.....	86
3.2.1. <i>Développement de modèles animaux en neuropsychiatrie</i>	86
3.2.2. <i>Le toilettage excessif comme indicateur du comportement compulsif</i>	92
3.2.3. <i>La souris Sapap3-KO : définition</i>	94
3.3. IMPLICATION DU RÉSEAU D'INTERNEURONES STRIATAUX DANS LA RÉGULATION DES COMPORTEMENTS COMPULSIFS.....	99
3.3.1. <i>L'hyperactivité striatale chez les souris Sapap3-KO</i>	99
3.3.2. <i>Un défaut de transmission synaptique ?</i>	99
3.3.3. <i>Une dérégulation intrinsèque de la micro-circuiterie striatale ?</i>	101
HYPOTHÈSE DE TRAVAIL.....	105
CHAPITRE 4. LE RÔLE DES INTERNEURONES STRIATAUX DANS LA RÉGULATION DES COMPORTEMENTS RÉPÉTITIFS.....	109
4.1. RÉSUMÉ D'ARTICLE.....	109
4.2. ARTCLE : UNBIASED COMPARISON OF STRIATAL NEURONAL DENSITY MAPS REVEALS ALTERED PV AND CHAT INTERNEURONS DISTRIBUTION IN THE SAPAP3-KO MOUSE MODEL.....	111
CHAPITRE 5. LE RÔLE DES INTERNEURONES PV STRIATAUX DANS LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE.....	138
5.1. MATÉRIELS ET MÉTHODES ; MISE EN PLACE, ACQUISITION ET ANALYSE D'ENREGISTREMENTS NEURONAUX PAR PHOTOMÉTRIE LORS D'UNE TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE EN COMPORTEMENT LIBRE.....	138
5.1.1. ANIMAUX.....	138
5.1.2. TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE EN COMPORTEMENT LIBRE DANS UNE CHAMBRE OPÉRANTE AUTOMATISÉE A HAUT RENDEMENT.....	139
5.1.2.1. <i>La BEATBox : une chambre opérante automatisée à haut rendement pour l'étude comportementale de rongeurs</i>	139
5.1.2.2. <i>Tâche comportementale de prise de décision perceptuelle</i>	141
5.1.2.3. <i>Filtrage des données</i>	144

5.1.3. MESURE SPÉCIFIQUE DE L'ACTIVITÉ DES INTERNEURONES PV STRIATAUX LORS DE LA TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE	146
5.1.3.1. Stratégie virale et implantation de fibre optique	146
5.1.3.2. Enregistrement de l'activité des interneurons PV	147
5.1.3.3. Analyse du signal calcique	148
5.1.3.4. Analyse corrélacionnelle entre comportement et activité neuronale	149
5.1.4. VÉRIFICATION POST MORTEM DE L'EXPRESSION VIRALE DANS LE STRIATUM CENTROMÉDIAL.....	149
5.1.4.1. Perfusion	150
5.1.4.2. Immunohistochimie	150
5.1.5. STATISTIQUES	151
5.2. RÉSULTATS ; CONCEPTION ET MISE EN PLACE D'UNE TÂCHE INNOVANTE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE	152
5.2.1. ISOLER LE TEMPS DÉCISIONNEL DE LA SOURIS.....	152
5.2.1.1. Protocol conceptuel	152
5.2.1.2. Variation de la durée décisionnelle.....	154
5.2.1.3. Réalisation matérielle	155
5.2.2. MISE EN PLACE DE L'ENREGISTREMENT PHOTOMÉTRIQUE	157
5.3. VALIDATION EXPÉRIMENTALE DE LA TÂCHE COMPORTEMENTALE : VARIATION DU TEMPS DE DÉCISION EN CONTEXTE D'INCERTITUDE.....	158
5.3.1. DONNÉES COMPORTEMENTALES GLOBALES : LES SOURIS VIVENT EN AUTONOMIE DANS LES BEATBOX	158
5.3.1.1. Exécution de la tâche.....	158
5.3.1.2. Répartition des types d'essais effectués	160
5.3.2. LA PRISE DE DÉCISION EST MODULÉE PAR LE CONTEXTE D'INCERTITUDE DE LA SOURIS.....	162
5.3.2.1. Analyse de la prise de décision au cours de la tâche	162
5.3.2.2. Analyse de la durée de prise de décision en contexte d'incertitude liée à une information dégradée	166
5.3.2.3. Analyse de la durée de prise de décision en fonction des essais corrects et incorrects	167
5.3.3. LA VITESSE DE DÉPLACEMENT DE LA SOURIS EST MODULÉE PAR LE CONTEXTE D'INCERTITUDE	171
5.3.3.1. Variations des durées de déplacement jusqu'à la réponse et jusqu'à la récompense.....	171
5.3.3.2. L'exécution du choix, un marqueur de confiance de la souris ?.....	173

5.4. RECRUTEMENT ET DÉSENGAGEMENT DES INTERNEURONES PV STRIATAUX LORS DU PROCESSUS	
DÉCISIONNEL	176
5.4.1. PRINCIPE DE PHOTOMÉTRIE POUR L'ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ NEURONALE	176
5.4.1.1. <i>Utilisation du calcium intracellulaire comme marqueur de l'activité neuronale</i>	176
5.4.1.2. <i>Stratégie virale et optique</i>	178
5.4.2. IMPACT DE LA FIBRE OPTIQUE ET DU PATCH CORD SUR LES PERFORMANCES DES SOURIS.....	180
5.4.3. DYNAMIQUE DE L'ACTIVITÉ DES INTERNEURONES PV STRIATAUX AU COURS DE LA TÂCHE DE PRISE DE	
DÉCISION PERCEPTUELLE.....	182
5.4.3.1. <i>Visualisation globale de l'activité interneuronale</i>	182
5.4.3.2. <i>Le plateau d'activité des interneurones PV striataux comme bornes du processus de prise de</i>	
<i>décision</i>	184
5.4.3.3. <i>Interprétation de l'activité des interneurones PV</i>	188
 CHAPITRE 6. CONCLUSION, INTERPRÉTATION, PERSPECTIVES	200
6.1 CONCLUSION GÉNÉRALE.....	200
6.2. INFLUENCE DES INTERNEURONES STRIATAUX DANS LA MISE EN PLACE DE COMPORTEMENTS RÉPÉTÉS	
.....	203
6.2.1. <i>Rôle des gradients cellulaires, moléculaires et électrophysiologiques striataux</i>	203
6.2.2. <i>Impact de la différence de densité striatale chez les souris Sapap3-KO</i>	205
6.2.3. <i>Et si les anomalies de densité des interneurones PV observées provenaient d'une altération de</i>	
<i>l'expression des niveaux de protéine PV ?</i>	207
6.2.4. <i>Perspectives</i>	208
6.3. DYNAMIQUE DES INTERNEURONES PV LORS DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE	209
6.3.1. <i>Utilisation de la photométrie pour l'étude de l'activité striatale</i>	209
6.3.2. <i>Dynamique d'activité des interneurones PV striataux lors du processus décisionnel</i>	211
6.3.3. <i>Perspectives : recrutement des interneurones, oui mais pourquoi ?</i>	214
6.4. TESTER LA PRISE DE DÉCISION CHEZ LA SOURIS SAPAP3-KO	216
6.4.1. <i>Incertitude, compulsion et impulsivité</i>	216
 BIBLIOGRAPHIE	219
 RÉSUMÉ GRAND PUBLIC.....	233
 ANNEXES.....	234

Choices are the hinges of destiny. —Pythagoras

INTRODUCTION

Sommaire

1. Chapitre 1 : Les ganglions de la base, une diversité fonctionnelle au service du contrôle de l'action	20
1.1. Anatomie fonctionnelle des ganglions de la base.	20
1.2. Le striatum, lieu de convergence et du traitement de l'information ..	31
2. Chapitre 2 : Régulation striatale de la prise de décision perceptuelle.	52
2.1. Définition et mesure de la prise de décision perceptuelle.	52
2.2. Bases neurobiologiques de la prise de décision perceptuelle.	65
3. Chapitre 3 : Les comportements répétitifs, conséquence d'une dérégulation des boucles cortico-basales.	76
3.1. D'un comportement répétitif sain à pathologique.	76
3.2. Utilisation de modèles animaux pour l'étude de maladies neuropsychiatriques.	86
3.3. Implication du réseau d'interneurones striataux dans la régulation des comportements compulsifs.	99

C

HAPITRE 1. LES GANGLIONS DE LA BASE, UNE DIVERSITÉ FONCTIONNELLE AU SERVICE DU CONTRÔLE DE L'ACTION

Dans ce premier chapitre, j'introduirai l'anatomie des ganglions de la base, en décrivant notamment comment ces noyaux communiquent entre eux et comment l'information circule jusqu'à produire un comportement désiré. Le cœur de mon travail se situant dans le striatum, j'expliquerai alors en détail comment son activité est régulée par différentes structures afférentes et plus précisément par sa micro-circuiterie locale. Puis j'aborderai les fonctions qui lui sont attribuées et comment sa connectivité avec les autres structures cérébrales fait du striatum un lieu de convergence du traitement de l'information. J'introduirai ainsi comment son anatomie sert de substrat neurophysiologique pour la régulation de l'action lors d'une prise de décision perceptuelle, sujet principal du chapitre 2.

1.1. ANATOMIE FONCTIONNELLE DES GANGLIONS DE LA BASE

Les ganglions de la base (GB), autrement appelés « noyaux gris centraux », représentent un ensemble de noyaux profonds du cerveau considérés comme un intermédiaire essentiel entre la représentation de fonctions exécutives et la génération du comportement subséquent. Ils sont composés de 4 noyaux principaux : le **noyau sous-thalamique** (STN), la **substance noire** pars compacta et pars reticula, (SNc/r), le **globus pallidus** interne et externe (GPi/GPe) ainsi que du **striatum** (*Figure 1*). Ces noyaux

représentent des voies d'entrées ou de sorties vers d'autres circuits cérébraux impliquant le cortex, le thalamus, ou encore le tronc cérébral.

1.1.1. Bref aperçu historique de la fonction des GB

L'idée du rôle des GB dans les fonctions motrices du comportement date du début des années 1900, lorsque Wilson fait le lien dans une étude entre des symptômes moteurs tels que la raideur musculaire et des tremblements avec des altérations pathologiques dans les ganglions de la base (Wilson, 1912). S'en suit toute une ligne de recherche d'études lésionnelles des différents noyaux sur des modèles animaux (Wilson, 1925; Purdon-Martin 1927; Albin et al., 1989; DeLong 1990) montrant l'apparition de symptômes moteurs initialement observés chez l'homme dans la maladie de Parkinson et de Huntington qui ont conduit à attribuer aux GB un rôle central quasiment exclusif dans la planification et l'exécution de mouvements. A la fin du 20^{ème} siècle, Mink introduit le concept de sélection de l'action décrivant une voie « directe » permettant de faciliter et initier un mouvement particulier, tandis que la voie « indirecte » supprimerait des mouvements compétiteurs et non désirés (Mink 1996; Mink et Thach 1993). Ces deux voies sont pensées comme garantes d'un équilibre dynamique exerçant des actions opposées mais coordonnées sur le contrôle du mouvement. Les voies directe et indirecte sont souvent décrites non seulement comme fonctionnellement opposées, mais aussi comme anatomiquement séparées.

Aujourd'hui, ce modèle dichotomique des GB est considéré comme trop simpliste pour expliquer la multitude de mouvements fins que l'on peut exécuter. Notamment grâce aux avancées technologiques (enregistrements de plusieurs populations neuronales simultanément, activation ou inhibition spécifique de neurones cibles), de plus en plus d'études ont montré la co-activation des voies directe et indirecte lors de l'initiation mais aussi de l'inhibition motrice (Cui et al., 2013; Hikosaka et al., 2000; Tecuapetla et al., 2014, 2016; Cruz et al., 2020, bioRxiv). L'hypothèse des programmes moteurs compétitifs est conservée, mais ces programmes seraient activés de manière complémentaire et coordonnée permettant la régulation du mouvement.

Bien que Mink affirmait que les fonctions motrices étaient dominantes dans les GB, Alexander et al. (1986) avaient déjà suggéré l'implication de régions dites cognitives dans le fonctionnement des GB. Aujourd'hui, il est désormais reconnu que ces noyaux participent également à des processus cognitifs complexes tels que l'apprentissage, la prise de décision, la motivation ou encore des processus émotionnels par l'attribution de valeurs à certaines actions (Haber 2016; Lee et al., 2017; Thorn et Graybiel 2014; Yin et al., 2005a).

Enfin, l'exécution d'un comportement complexe et élaboré depuis sa planification jusqu'à son exécution est possible grâce aux boucles cortico-striato-pallido-thalamo-corticales (Alexander et al., 1986). L'information circule dans ces boucles depuis le cortex avant d'être envoyée de nouveau au cortex (même région ou différente) permettant une régulation continue du comportement. Ces boucles cortico-basales seront détaillées suite à la description anatomique des différents noyaux.

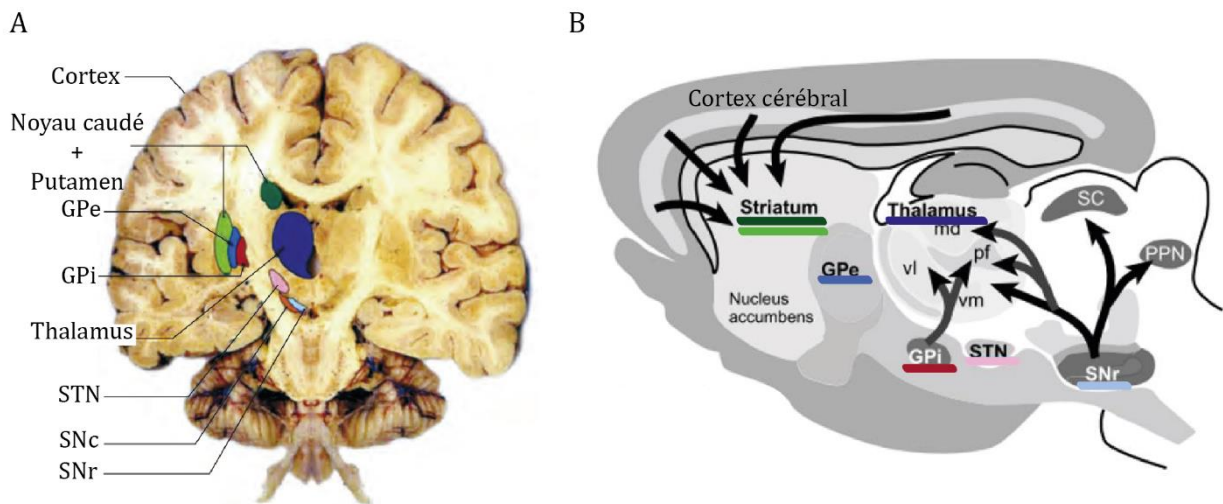


Figure 1. Représentation des principaux noyaux des ganglions de la base dans un cerveau humain et de rat. A. Coupe coronale d'un cerveau humain (Figure Obeso et al., 2014). **B.** Coupe sagittale d'un cerveau de rat. Les flèches montrent les principales entrées et sorties des GB. (Figure adaptée de Gerfen et Bolam, 2010).

1.1.2. Structures anatomiques

Le striatum est de loin la plus large structure cérébrale sous-corticale. Chez l'homme, il est composé d'une partie dorsale, le noyau caudé et le putamen, deux régions séparées anatomiquement par un ensemble de fibres blanches denses appelé la capsule interne, et d'une partie ventrale, le noyau accumbens (NAc). Il est à noter que chez la souris, il n'y a pas de distinction physique entre le putamen et le noyau caudé. Le striatum représente alors une seule structure anatomique traversée par cet ensemble de fibres blanches provenant du cortex frontal et allant jusqu'à des structures profondes telles que le thalamus et le tronc cérébral (Coleman et al., 1997).

Le striatum constitue la principale structure d'entrée des GB. Il reçoit des projections excitatrices massives de toutes les aires corticales (à l'exception de l'aire visuelle primaire (Nambu 2011)) et du thalamus ainsi que des projections inhibitrices du GPe. Enfin, il reçoit également des projections dopaminergiques de la SNc et de l'aire tegmentale ventrale.

Le striatum est composé à 95% de neurones épineux de taille moyenne (MSN pour *medium-sized spiny neuron*). Ces neurones GABAergiques de projection représentent l'unique voie de sortie du striatum, leur activité est modulée par un complexe réseau d'interneurones GABAergiques et cholinergiques ayant chacun des propriétés anatomiques et physiologiques bien particulières. Les MSNs relaient les informations corticales via deux voies anatomico-fonctionnelles différentes : la voie striatonigrale (directe), et la voie striatopallidale (indirecte). Les MSNs de la voie directe, qui expriment des récepteurs à la dopamine D₁, envoient des efférences inhibitrices sur les neurones de la SNr (SNr et GPi chez l'homme). Les MSNs de la voie indirecte expriment des récepteurs à la dopamine D₂ et à l'adénosine de type A_{2A}. Ils projettent et inhibent les neurones du GPe (Bogenpohl et al., 2012; Mallet et al., 2012; Rosin et al., 1998) (*Figure 2*).

Le prochain sous chapitre (1.2. Le striatum) sera entièrement consacré à l'anatomie fonctionnelle du striatum avec une description fine de la population neuronale striatale, ses sites de projections ainsi que ses fonctions.

Le globus pallidus est une structure constituée de deux segments distincts : le segment interne (GPi) et le segment externe (GPe), séparés par une fine couche de fibres

myélinisées appelée lame médullaire interne. Le GPe est la région la plus latérale, tandis que le GPi est plus médial (anciennement appelé noyau entopédunculaire chez le rongeur). Ce noyau est composé majoritairement de neurones GABAergiques (Mallet et al., 2012) bien que la présence de neurones cholinergiques a récemment été mise en évidence (Hernandez et al., 2015).

Comme le reste des GB, plusieurs domaines fonctionnels engagés dans diverses fonctions se distinguent au sein du GP (Alexander et Crutcher 1990).

Dans **le GPe**, nous ferons la distinction cependant entre les neurones dits prototypiques, neurones à haute fréquence de décharge exprimant majoritairement la protéine parvalbumine et inhibant le STN (voie indirecte) (Albin et al., 1989; Mallet et al., 2012) et les neurones arkypallidal exprimant la protéine proenkephaline qui inhibent les MSNs et les interneurons du striatum (Bevan et al., 1998; Mallet et al., 2012). Les neurones du GPe envoient également des projections GABAergiques au GPi/SNr (Mallet et al., 2012, Bar-Gad et al., 2003). L'activité du GPe est modulée par des projections inhibitrices descendantes (MSN-D₂R) du striatum, les collatérales des MSN-D₁R et par les projections glutamatergiques ascendantes du STN (Kawaguchi et al., 1990).

Le GPi est la principale structure de sortie des GB. Il est constitué de neurones GABAergiques déchargeant toniquement à haute fréquence qui inhibent ses structures cibles : le thalamus et le tronc cérébral. Le GPi concentre les informations de toutes les structures afférentes via la voie directe et indirecte (neurones striataux D₁R et glutamatergiques du STN respectivement) mais également via la voie hyperdirecte grâce aux neurones glutamatergiques du STN (Bar-Gad et al., 2003; Nambu 2011)

La substance noire est constituée de deux parties : une partie compacte (« *pars compacta* », SNc) et une partie plus diffuse (« *pars reticula* », SNr).

La SNr est souvent associée au GPi comme noyaux principaux de sortie car ils partagent de nombreuses caractéristiques anatomiques et biochimiques. Tout comme le GPi, elle reçoit des projections inhibitrices du striatum et du GPe, ainsi que des projections glutamatergiques du STN (Nambu et al., 2002). Également composée de larges neurones GABAergiques, la SNr inhibe le thalamus et le tronc cérébral.

La SNc représente la principale source dopaminergique des GB. Ses neurones contiennent la neuromélanine, un pigment qui confère à la SNc une couleur noire. La SNc projette un peu sur le STN et le GPe et massivement sur les régions dorsales du striatum. Ces neurones dopaminergiques ont la capacité de faciliter l'activation des MSN-D₁R striataux (voie directe) ou à l'inverse d'inhiber ces MSNs via les récepteurs D₂ (voie indirecte). Ces neurones striatonigraux ont une arborisation axonale très dense et il est estimé que chez le rat, un axone contacterait 75000 MSNs, chaque MSN étant sous l'influence de 95-194 de ces neurones (Matsuda et al., 2009).

Le noyau sous-thalamique est considéré comme la deuxième structure d'entrée des GB. C'est un relais excitateur de la voie indirecte via les projections inhibitrices du GPe mais plus directement via la voie hyperdirecte qui reçoit de nombreuses afférences glutamatergiques directement du cortex. En effet, des régions corticales frontales, largement impliquées dans des processus moteurs (cortex moteur primaire, aire motrice supplémentaire, cortex oculomoteur) projettent directement sur le STN, court-circuitant les noyaux relais des GB et provoquant une réponse excitatrice rapide et puissante sur les noyaux de sorties des GB (Bar-Gad et al., 2003; Nambu 2011). Cette voie a été décrite pour être fortement impliquée dans l'inhibition de l'action (Alegre et al., 2013). Son activité est aussi modulée par les projections thalamiques (Castle et al., 2005) ainsi que les projections dopaminergiques de la SNc.

En retour, le STN active les neurones des deux segments du GP et la SNr souvent de manière simultanée grâce à ses prolongements neuronaux très ramifiés (Castle et al., 2005; Kita et al., 1983).

1.1.3. Modèle du triple circuit

La description anatomique, biochimique et fonctionnelle des GB a permis de mettre en évidence 3 différentes voies énoncées précédemment : directe, indirecte et hyperdirecte (*Figure 2*).

La voie directe est dite facilitatrice du mouvement car la résultante nette à la sortie des GB est une activation corticale. Le cortex active le striatum, qui inhibe le SNr/GPi entraînant une désinhibition du thalamus qui à son tour active le cortex.

A l'inverse, **la voie indirecte** est dite inhibitrice du mouvement car l'activité nette à la sortie des GB est une absence d'activation. Le striatum, activé par le cortex, inhibe les neurones du GPe provoquant la désinhibition du STN. Le STN active alors le SNr/GPi maintenant l'inhibition du thalamus et donc du cortex.

Enfin, **la voie hyperdirecte** est une voie reliant directement le cortex au STN et le STN au GPi. Elle va exercer une inhibition corticale et cela rapidement grâce à la réduction de synapses intermédiaires. Cette voie est décrite dans le maintien et le contrôle de toutes les actions possibles (Alegre et al., 2013; Dunovan et Verstynen 2016). Bien que présentées comme des voies indépendantes et compétitives, de plus en plus d'arguments montrent une communication et une activation collaboratrice à minima entre les voies directes et indirectes. En effet, il a été récemment montré la présence de collatérales provenant des MSNs de la voie directe projetant sur les neurones du GPe (Cazorla et al., 2014; Parent et al., 2000) formant ce qu'on appelle les « bridging collaterals », permettant une communication immédiate entre la voie directe et indirecte, rompant avec la vue classique des ganglions de la base. De plus, environ 5% des MSNs striataux expriment à la fois les récepteurs D₁ et D₂. Enfin, il a été montré depuis maintenant une dizaine d'années, la co-activation de ces deux voies lors d'une tâche motrice chez la souris (Cui et al., 2013) mais également lors d'une tâche cognitive (Schroll et al., 2014). Ces derniers ont observé l'activation de la voie indirecte lors d'une tâche de prise de décision proposant comme modèle, une sélection de l'action facilitée par la voie directe, et l'inhibition de toutes autres alternatives considérées incorrectes.

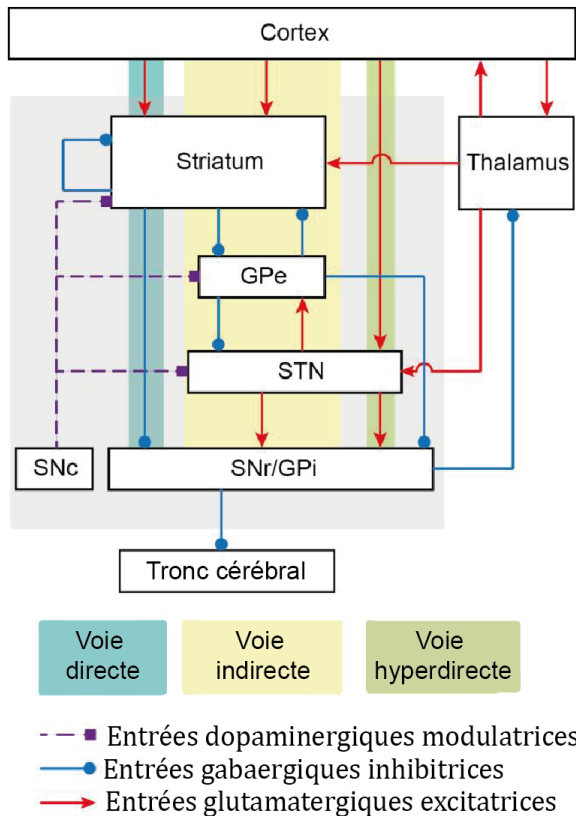


Figure 2. Description simplifiée de la circuiterie des GB. En bleu : la voie directe; en jaune : la voie indirecte; en vert : la voie hyperdirecte. Les projections glutamatergiques sont représentées par les flèches rouges, GABAergiques par les points bleus, et dopaminergiques par les pointillés violets. Gpe = globus pallidus externe, STN = noyaux sous-thalamique, SNc = substance noire pars compacta, SNr = substance noire pars reticula, GPi = globus pallidus interne.

1.1.4. Les boucles anatomo-fonctionnelles

1) Les différents territoires fonctionnelles

Comme expliqué précédemment, le striatum étant le noyau principal d'entrée des GB, il reçoit des projections corticales de l'ensemble du cortex. Il intègre alors des informations de nature très variées, allant de processus moteurs (exécution de mouvement, saccade oculo-motrice), à des processus plus cognitifs (fonction exécutive, apprentissage) jusqu'à des processus dits limbiques, impliquant des composantes émotionnelles et motivationnelles. On peut différencier 3 types de territoires fonctionnels organisés de manière topographique similairement à l'organisation topographique corticale et maintenus par les projections cortico-striatale. Cette organisation est par la suite conservée dans les noyaux efférents au striatum formant les boucles anatomo-fonctionnelles cortico-striato-pallido-thalamo-corticales (Alexander et al., 1986; Parent et al., 2000) (Figure 3).

Le territoire sensorimoteur comprend le cortex prémoteur, moteur primaire et somesthésique ainsi que l'aire motrice supplémentaire et l'aire oculomotrice. Ces aires corticales projettent dans la partie dorsolatérale du striatum et du GPe et dans la région dorsale du STN.

Le territoire associatif traite des informations dites plus cognitives. Elle comprend le cortex dorsolatéral préfrontal, le cortex orbitofrontal latéral, ainsi que le cortex pariétal et temporal. Ces régions projettent dans le striatum dorsomédial, et dans la partie centrale du GPe et du STN.

Le territoire limbique impliqué dans le circuit de la récompense comprend le cortex cingulaire antérieur ventrale, le cortex orbitofrontal médial ainsi que l'hippocampe. Ces régions projettent sur les régions ventromédiales du striatum et du GPe et sur le STN ventral (*Figures 3 et 4A*).

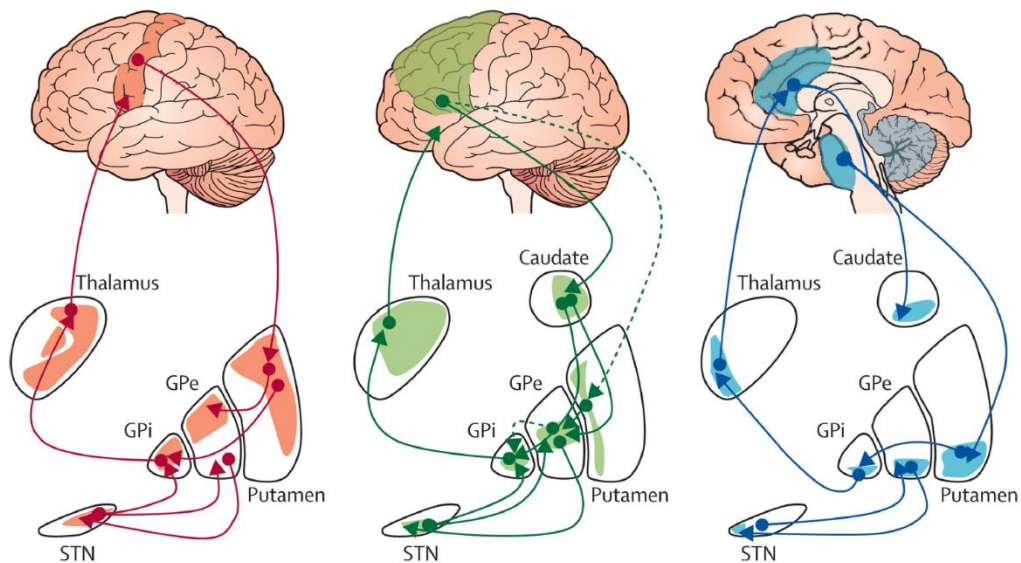


Figure 3. Boucles fonctionnelles cortico-basales. Les GB sont organisés selon 3 boucles anatomo-fonctionnelles : sensorimotrice (rouge), associative (vert) et limbique (bleu). Ces boucles sont topographiquement organisées selon leurs afférences corticales. GPe = globus pallidus externe. GPi = globus pallidus interne. STN = noyaux sous-thalamique. (Figure Obeso et al., 2008)

2) Des boucles ségréguées et pourtant convergentes

En plus de l'organisation topographique, le cortex bénéficie d'une organisation somatotopique, particulièrement marquée dans le cortex moteur et somatosensoriel primaire qui serait conservée tout au long des GB (Foster et al., 2021) (*Figure 4B*).

Deux visions concernant le traitement des informations corticales à travers les BG se sont pourtant opposées. Une première proposée par DeLong et Georgopoulos (1981) et Alexander et al., (1986) consiste en un traitement parallèle et indépendant des différentes informations corticales le long des boucles des GB. La seconde proposée par Percheron et Fillion (1991) et reprise par plusieurs autres études (Foster et al., 2021; Ramanathan et al., 2002; Yelnik 2008) suggère la convergence des informations. C'est-à-dire que des informations provenant de différentes régions corticales convergeraient et seraient intégrées dans une même région des noyaux des GB.

Aujourd'hui, plusieurs études soutiennent ces deux hypothèses de manière concomitantes. S'il est vrai qu'une organisation topographique anatomique et fonctionnelle est observée, la diminution drastique du volume des noyaux à travers le circuit ainsi qu'une baisse de la densité du nombre de neurones dans chaque noyau imposent une convergence des projections. De plus, dans le GPe, le GPi et la SNr les neurones possèdent des arborisations dendritiques très étendues ce qui rendrait la transmission de l'information striatale vers ces neurones hautement convergente (Yelnik 2008). Cependant l'arrivée de nouvelles techniques de traçage et d'imagerie a quelques fois remis en cause les précédentes interprétations anatomiques. C'est le cas de Foster et al. (2020) qui par injection de virus rétrograde ont réalisé des reconstructions axonales à travers différentes structures cérébrales. Dans leur étude cartographiant les circuits des GB, ils montrent que la spécificité de projections striato-pallidales est mieux conservée dans la voie indirecte que dans les projections striato-sous-thalamique de la voie directe, probablement dû à la différence de ratio volumétrique entre les structures impliquées.

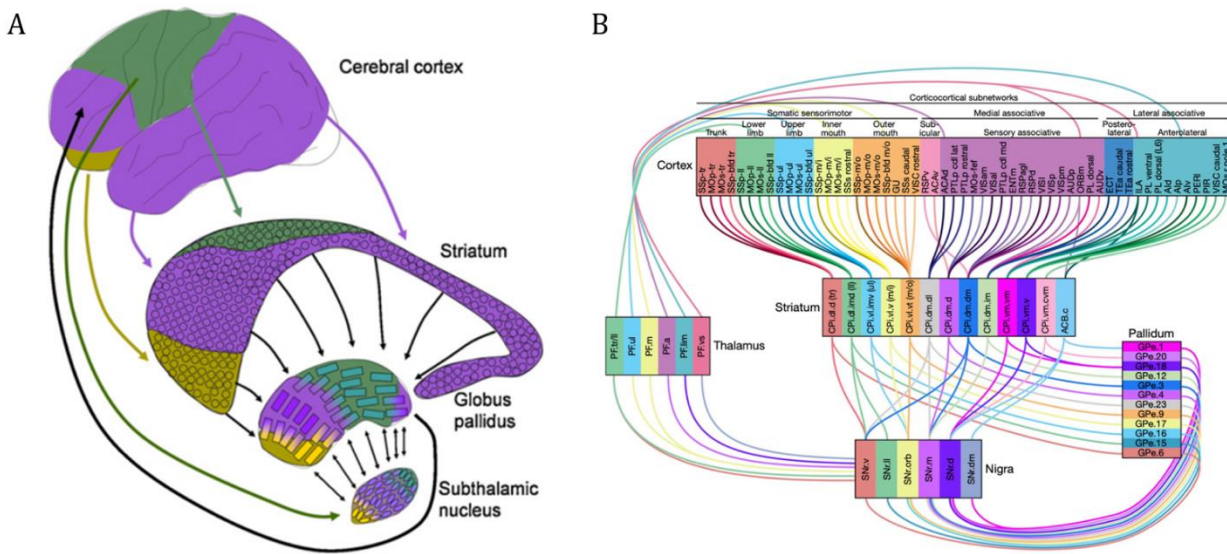


Figure 4. Représentation de l’organisation topographique et de la convergence de l’information des ganglions de la base. **A.** Représentation des boucles fonctionnelles des GB chez l’Homme. Vert = cortex sensorimoteur, violet = associatif, jaune = limbique, (Figure Yelnik 2008). **B.** Organisation topographique et somatotopique entre les différents noyaux des GB. Une convergence anatomo-fonctionnelle y est observée. Plusieurs domaines corticaux projettent sur un même domaine striatal suggérant une convergence du traitement de l’information dans le striatum. Cette convergence est également présente entre d’autres noyaux des GB (Figure Foster et al., 2020).

En résumé, les GB présentent plusieurs niveaux organisationnels. Un niveau anatomo-fonctionnel défini par des territoires corticaux impliqués dans diverses fonctions et projetant de manière topographique sur le striatum. Cette topographie fonctionnelle est ensuite conservée le long des GB formant les boucles cortico- GB -corticales. Un deuxième niveau organisationnel indépendant du premier concerne la résultante finale des niveaux d’activités de sortie des GB facilitant ou inhibant le cortex via la voie directe et indirect respectivement. Comme évoqué précédemment, bien que ces différentes boucles et voies soient organisées de manière parallèle et ségréguée, de plus en plus d’études montrent une communication permettant une intégration complexe d’information de nature différente que ce soit à l’échelle de territoire ou neuronale. Cette communication et convergence de l’information sera discutée dans la section suivante.

1.2. LE STRIATUM, LIEU DE CONVERGENCE ET DU TRAITEMENT DE L'INFORMATION

Le striatum est la plus grosse structure profonde du cerveau. Chez la souris C57BL/6, son volume est d'environ 25,1mm³, soit 5,4% du volume total du cerveau (Qvist et al., 2018). Il possède une place stratégique en recevant une multitude d'afférences corticales et thalamiques qui projettent sur lui de manière topographique et définissant différents territoires fonctionnels (Alexander et Crutcher 1990). Il est aussi bien impliqué dans des processus moteurs (apprentissage moteur, contrôle moteur (Cui et al., 2013; Graybiel et al., 1994; Grillner et al., 2005) que dans l'apprentissage associatif (Graybiel 2005, 2008) ou la prise de décision lors de comportements motivés (Balleine et al., 2007). En extrayant les informations pertinentes, le striatum joue un rôle de filtre du signal sur bruit avant de transmettre l'information aux structures dites de sortie des GB permettant une réponse comportementale adaptée.

Dans cette section, nous verrons tout d'abord la circuiterie fine dont bénéficie le striatum avec un intérêt particulier pour les interneurons à parvalbumine et les interneurons cholinergiques. Puis nous aborderons les différentes fonctions qui sont attribuées aux différents territoires striataux.

1.2.1. La micro-circuiterie striatale

1) Les neurones de projections

Neurones épineux de taille moyenne

Le striatum est constitué à 95% de neurones épineux de taille moyenne (MSN). Ces neurones possèdent un corps cellulaire relativement petit (10 à 15 µm) mais une arborisation dendritique épineuse dense qui s'étale environ à 300 µm autour du soma (Gerfen et Wilson, 1996). Ces neurones sont GABAergiques et agissent comme des intégrateurs d'informations afin de faire converger les entrées excitatrices provenant du cortex et du thalamus qui ciblent les épines dendritiques des MSNs au niveau des

récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA. En retour, les MSNs, qui représentent l'unique voie de sortie du striatum, projettent sur les structures subséquentes des GB. Les MSNs sont classés soit dans la voie directe ou soit dans la voie indirecte selon leur signature moléculaire ainsi que leur cible de projection. Les MSNs de la voie directe expriment au niveau somatique les récepteurs à la dopamine D₁-like, les récepteurs muscariniques M₁ et M₄ et produisent comme peptide la dynorphine et la substance P. Les MSNs de la voie indirecte expriment les récepteurs D₂-like ainsi que les récepteurs à l'adénosine de type A_{2A} et muscariniques de type M₁, ils produisent des enképhalines (Kawaguchi et al. 1995). Les deux classes de MSNs expriment les récepteurs GABA_A et sont donc sensibles à l'inhibition des populations neuronales GABAergiques (Gross et al., 2011). Il est intéressant de remarquer qu'environ 5% des MSNs expriment à la fois des récepteurs D₁ et D₂ montrant une communication entre ces deux voies (Hasbi et al., 2009). L'activité des MSNs peut donc être activée ou inhibée par de nombreux neurotransmetteurs via leurs récepteurs AMPA/NMDA/D₁/M₂ et D₂/M₄/A_{2A}/GABA_A respectivement.

2) Les interneurones

A la différence des autres noyaux des GB, le striatum bénéficie d'un réseau complexe d'interneurones GABAergiques et cholinergiques qui représente environ 5% de la population totale du striatum (*Figure 4*). Ces interneurones ont été mis en évidence par immunoréaction au GABA, au GAD (enzyme produisant le GABA) ou à l'acétyltransférase (enzyme dégradant l'acétylcholine, (Ach)) au début des années 1990 (Emson et al., 1993; Kawaguchi 1993; Kawaguchi et al., 1995; Kita et al., 1990) et font depuis l'objet de nombreuses études. Plus récemment, grâce à l'utilisation des souris transgéniques, la caractérisation des propriétés anatomiques et physiologiques des interneurones a beaucoup progressé, bien que les mécanismes d'interactions sont encore loin d'être entièrement élucidés. Quatre grandes familles d'interneurones de type GABAergiques se distinguent selon leurs propriétés électrophysiologiques et les protéines qu'ils expriment : les neurones **tyrosine hydroxylase**, les neurones **neuropeptide Y**, les neurones **calrétinine** et les neurones à **parvalbumine**. Une autre classe d'interneurones

appelé interneurons cholinergiques utilisant l'acétylcholine comme neurotransmetteur participent également à ce réseau interneuronal du striatum (Figure 5).

Je présenterai tout d'abord les différents types d'interneurones GABAergiques puis, je décrirai les interneurons cholinergiques. Un intérêt particulier sera accordé à ces derniers ainsi qu'aux interneurons à parvalbumine, deux types d'interneurones qui ont fait l'objet d'une partie de mon travail de thèse.

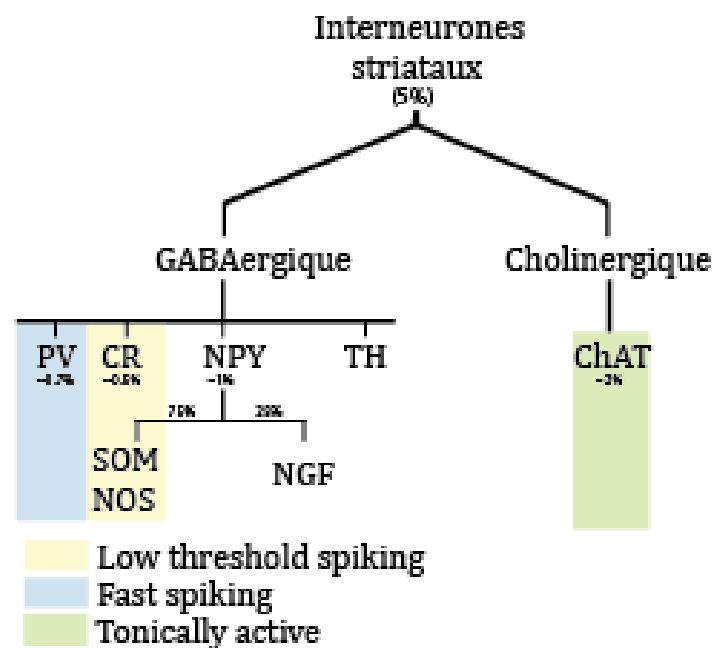


Figure 5. Diagramme récapitulatif des différentes classes d'interneurones striataux et leur proportion. En jaune, les interneurons considérés comme interneurons à bas seuil d'activation (LTS); en bleu, les interneurons à haute fréquence de décharge (FS); en vert, les interneurons toniquement actifs (TANS). PV = parvalbumine, CR = calrétinine, NPY = neuropeptide Y, TH = tyrosine hydroxylase, ChAT = acétyltransférase, SOM = somatostatine, NOS = oxyde nitrique synthase, NGF = neurogliaforme.

Interneurone Tyrosine hydroxylase

Ces interneurons ont été mis en évidence par immunoréactivité à la tyrosine hydroxylase (TH) par Dubach et al. (1987). Bien qu'ils expriment l'enzyme de synthèse de la dopamine,

ces interneurons striataux utilisent le GABA comme neurotransmetteur. Ils sont de taille moyenne, possèdent relativement peu de ramifications dendritiques et sont sous classés selon des caractéristiques électrophysiologiques variées (Ibanez-Sandoval et al., 2010; Silberberg et Bolam 2015).

Interneurone Neuropeptide Y

Ces interneurons striataux ont été originellement décrit comme une seule classe d'interneurones co-exprimant le neuropeptide Y (NPY), la somatostatine (SOM) et l'oxyde nitrique synthase (NOS) (Kawaguchi et al., 1993; Kita et al., 1990). Ce n'est que récemment qu'il a été montré qu'environ 25% des NPY n'exprimaient ni NOS ni SOM et présentaient des propriétés physiologiques différentes. Ces interneurons sont appelés NPY-neurogliaforme (NPY-NGF) (Ibanez-Sandoval et al., 2010; Tepper et al., 2018).

Les interneurons NPY-SOM/NOS représentent moins de 1% de la population neuronale du striatum. Avec leur corps cellulaire de la taille de 15 à 25 μm , ce sont les deuxièmes plus larges interneurons du striatum. Ils ne possèdent que 3-4 dendrites et une arborisation axonale peu dense mais pouvant atteindre jusqu'à 1mm de longueur (Fino et Venance 2011; Kawaguchi 1993; Tepper et al., 2008). Ils font partis de la famille des interneurons à bas seuil d'activation via leurs canaux calciques de type T (*low threshold spiking* en anglais, LTS) et par leur potentiel de membrane physiologiquement dépolarisé. Ils ont une décharge persistante une fois activés. Une faible dépolarisation des LTS induit un burst d'activité à haute fréquence capable de supprimer de manière puissante l'activation des MSNs. Les NPY-SOM reçoivent des projections excitatrices monosynaptiques provenant du cortex et du thalamus (Kawaguchi et al., 1993), des afférences excitatrices dopaminergiques de la SNc, des projections inhibitrices des neurones PV du GPe ainsi que des afférences cholinergiques des ChAT striataux.

Les interneurons NPY-NGF ont un corps légèrement plus petit que les NPY-SOM/NOS mais possèdent une arborisation dendritique et axonale nettement plus dense, plus ramifiée et plus compacte (Ibáñez-Sandoval et al., 2011; Tepper et al., 2018). Comme les NPY-SOM, les NPY-NGF reçoivent des afférences corticales et thalamiques, sont modulés par les interneurons ChAT grâce à leurs récepteurs nicotiques de type 2 et muscariniques de types M_2 et M_1 . En retour, ils inhibent les MSNs au niveau des épines dendritiques via le GABA (*Figures 6 et 7*).

Interneurone Calrétinine

Ces interneurons GABAergiques constituent entre 0,5 et 0,8% de la population du striatum. Ils expriment la protéine calrétinine, une protéine liant le calcium régulant ainsi la quantité de calcium intracellulaire libre. Leur corps cellulaire mesure entre 12 et 20 μm , ils possèdent peu de dendrites (non épineux) et inhibent les MSNs. A ce jour, très peu d'information aussi bien sur l'anatomie, les afférences/efférences et les propriétés physiologiques des interneurons CR n'est disponible dû à l'absence de modèle animale transgénique permettant de cibler spécifiquement cette population. Cependant, quelques enregistrements en cellule entière montrent un profil proche des LTS (Koós et Tepper 1999) (*Figures 6 et 7*).

Interneurone Parvalbumine

Les interneurons striataux à parvalbumine représentent entre 0,7 et 1% de la population neuronale striatale. Ils ont été mis en évidence par Gerfen (1985). Ils sont décrits anatomiquement comme des interneurons non épineux de moyenne taille, caractérisés par un corps cellulaire assez rond mesurant environ 16 μm de diamètre et par une arborisation dendritique assez courte mais extrêmement dense et s'étalant jusqu'à 300 μm autour du soma. L'axone de ces neurones est très ramifié et s'étend bien au-delà des ramifications dendritiques de la cellule. Les interneurons PV possèdent l'arborisation axonale la plus dense observée des neurones striataux (Kawaguchi 1993; Kita et al., 1990; Koós et Tepper 1999; Tepper et Bolam 2004) (*Figure 6A*). Ces neurones GABAergiques sont identifiés grâce à l'expression membranaire de la protéine parvalbumine. Comme la calrétinine, la parvalbumine fait partie de la famille des protéines de liaison du calcium (« *calcium-binding protein* » (CaBPs) en anglais). Cette protéine possède une haute affinité pour le calcium ionique (Ca^{2+}), $\text{KD, Ca} \sim 5\text{--}100 \text{ nM}$) et joue un rôle de tampon modulant la concentration de Ca^{2+} intracellulaire libre et disponible, impactant l'excitabilité de la cellule (Orduz et al., 2013; Schwaller et al., 2002). Contrairement à la calrétinine, le site de liaison du Ca^{2+} de la protéine PV, lie aussi le magnésium ionique (Mg^{2+}). En condition de repos ($[\text{Ca}^{2+}]_i < 100 \text{ nM}$; $[\text{Mg}^{2+}]_i \approx 0.3\text{--}0.6 \text{ mM}$), c'est majoritairement le magnésium qui occupe les sites de liaison à la protéine PV. Lorsque la concentration intracellulaire de Ca^{2+} augmente, le Mg^{2+} fixé est remplacé par le Ca^{2+} . Comme la dissociation du Mg^{2+} à la

protéine PV est lente, cette dernière est considérée comme un « tampon lent » prolongeant la disponibilité du $[Ca^{2+}]_i$.

Il a été montré grâce à l'utilisation de souris knockout pour la protéine PV, que les interneurons (PV^{-/-}) sont moins hyperpolarisés et donc plus excitables. De plus, il semblerait que la protéine PV ait un rôle crucial dans la régulation de la rythmicité de décharge de ces interneurons et empêche au niveau des terminaisons présynaptiques, la facilitation synaptique des MSNs (Orduz et al., 2013). Bien qu'encore peu étudiée, cette caractéristique physiologique dépendante de la protéine PV peut impacter de manière conséquente l'activité striatale car plusieurs études ont rapporté l'existence d'un gradient de l'expression de la protéine PV striatale, le striatum ventromédial et dorsomédial en étant nettement moins enrichi que le striatum dorsolatéral (Fino et al., 2018; Ma et al., 2014; Monteiro et al., 2018) (*Figure 6D*). Des différences morphologiques par marquage à la biocytine notamment ont été également observées, les interneurons PV du striatum dorsolatéral aurait une arborisation plus étendue que les interneurons PV du striatum dorsomédial (Kita et al., 1990; Monteiro et al., 2018).

Les interneurons PV ont une signature électrophysiologique bien reconnaissable. Ils possèdent une courte latence d'apparition et de durée du potentiel d'action, ils ont un seuil d'activation bas les rendant facilement excitable, et déchargent à haute fréquence (*fast spiking*) (Kawaguchi et al., 1993, 1995). Des enregistrements effectués dans le striatum de souris éveillées montrent une moyenne de taux de décharge de 10-15 Hz. Ils sont capables de moduler leur activité sous forme de burst atteignant 60-80 Hz lors de tâche comportementale (Berke 2011; Gittis et al., 2010) (*Figure 6B*).

L'activité de ces interneurons PV est modulée par plusieurs acteurs. Ils sont activés par les neurones dopaminergiques de la SNc via les récepteurs D₅ (Kubota et al., 1987) et sont à l'inverse inhibés par les neurones arkypallido du GPe (Bevan et al., 1998; Mallet et al., 2012). Les interneurons ChAT exercent un double contrôle sur l'activité des interneurons PV. Ils les activent grâce aux récepteurs postsynaptiques nicotiques, mais à l'inverse, l'expression de récepteurs muscariniques au niveau présynaptique de l'interneurone PV diminue leur pouvoir inhibiteur (Koós et Tepper 2002). Les interneurons PV ont la capacité de s'entre-inhiber via des synapses GABAergiques. Une

de leur caractéristique propre est d'être interconnectés via des jonctions GAP (synapse chimique via les protéines connexons). Bien que le couplage ne soit généralement pas suffisant pour induire un potentiel d'action dans l'interneurone voisin, ces jonctions permettent une synchronisation de leur activité augmentant leur pouvoir inhibiteur sur leurs cellules cibles (Koós et Tepper 1999) (Figure 6C).

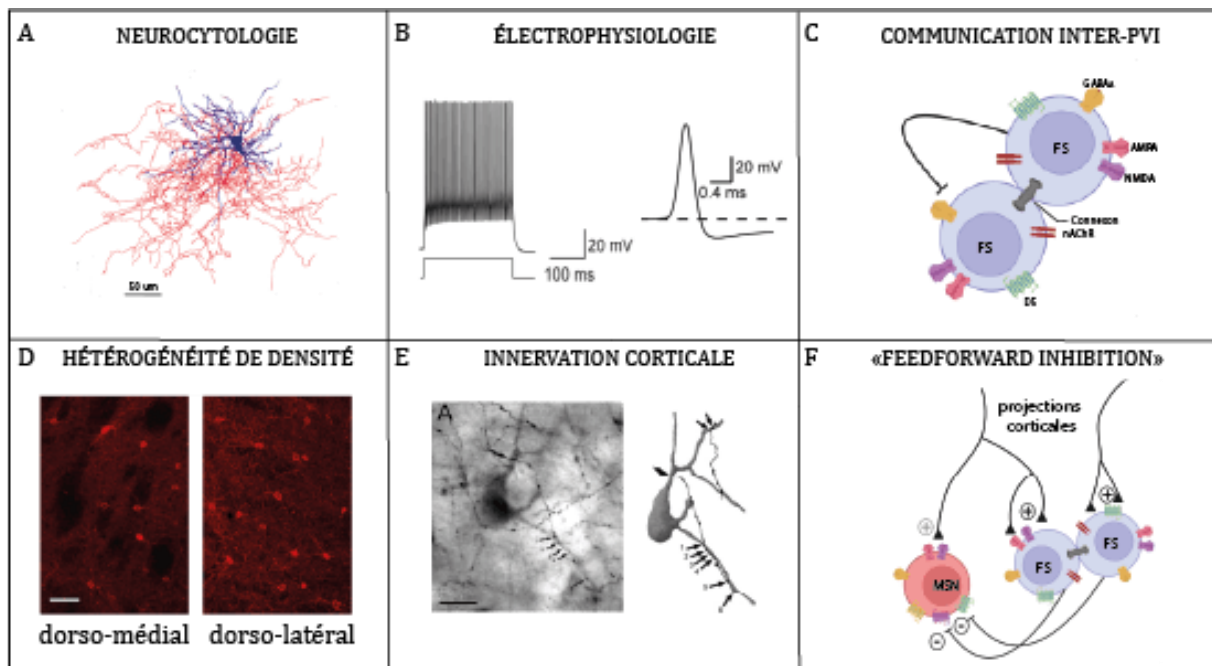


Figure 6. Récapitulatif des caractéristiques anatomiques, électrophysiologiques et de connectivité des interneurons PV striataux. **A.** Arborisation dendritique et axonale très ramifiée et étendue des interneurons PV (figure Tepper et Bolam, 2004). **B.** Les interneurons PV déchargent à haute fréquence (fast-spiking), leurs potentiels d'action ont une latence de démarrage rapide et sont de courtes durées (figure Tepper et al., 2010). **C.** Auto-inhibition via les projections GABAergiques et communication entre interneurons PV via les jonctions GAP permettant une synchronisation de leur activité. **D.** Gradient de densité des interneurons PV du striatum, échelle 50 μm (figure Fino et al., 2018). **E.** Projections massives des neurones corticaux sur les interneurons PV (figure Ramanathan et al., 2002). **F.** Les interneurons PV inhibent les MSNs via un mécanisme de « feedforward inhibition ».

Leur innervation la plus importante provient largement des projections excitatrices corticales (Kita 1993; Lapper et al., 1992) et dans une moindre mesure, du thalamus (Sidibé et Smith 1999). Un axone cortical forme de multiples contacts aussi bien sur le corps cellulaire des interneurons PV que sur leur arborisation dendritique (*Figure 6E*). Cela a pour conséquence l'activation de l'interneurone PV par un courant cortical plus faible ou moins synchronisé que ce qui est requis pour les MSNs (Parthasarathy et Graybiel 1997). De plus, le rapport densité des interneurons PV et connections synaptiques cortico-striatale sur les interneurons PV suggère fortement que les neurones corticaux ciblent spécifiquement ces interneurons.

En retour, les interneurons PV exercent une puissante inhibition sur les deux types de MSNs avec un biais de préférence pour les MSN-D₁R comme affirmé par Gittis et al. (2010). Cette forte modulation est rendue possible grâce à l'anatomie des interneurons PV d'une part, et à leurs propriétés neurophysiologiques d'autre part. Avec leur très dense arborisation axonale, ils forment plusieurs dizaines de synapses sur la zone péri-somatique des MSNs et chaque interneurone connecte entre 135 et 541 MSNs (Koós et Tepper 1999). Les interneurons PV sont capables de court-circuiter l'activité des MSNs par un phénomène de « *feedforward inhibition* ». En effet, un même neurone cortical peut projeter à la fois sur des MSNs et sur les interneurons PV dans le but de les activer. Cependant, les interneurons PV ont une latence de réponse plus rapide que les MSNs, ce qui les active avant et provoque l'inhibition des MSNs en retour (*Figure 6F*). Il est important de préciser que plusieurs études ont décrit une facilitation de l'activité d'une proportion de MSNs *in vitro* et *in vivo* suite à l'activation des interneurons PV (Gage et al. 2010; Lee et al., 2017). Cela semblerait être dépendant de l'état d'activité du réseau striatal précédent l'activation des interneurons PV (Duhne et al., 2021).

C'est donc par une synergie entre leur très dense arborisation permettant des centaines de points de contact sur les MSNs et leurs propriétés physiologiques particulières, que les interneurons PV sont reconnus aujourd'hui comme étant la principale source de régulation de l'activité des MSNs. Silberberg et Bolam (2015) décrivent d'ailleurs ce réseau d'interneurons PV comme la couverture inhibitrice striatale (Figures 6 à 8).

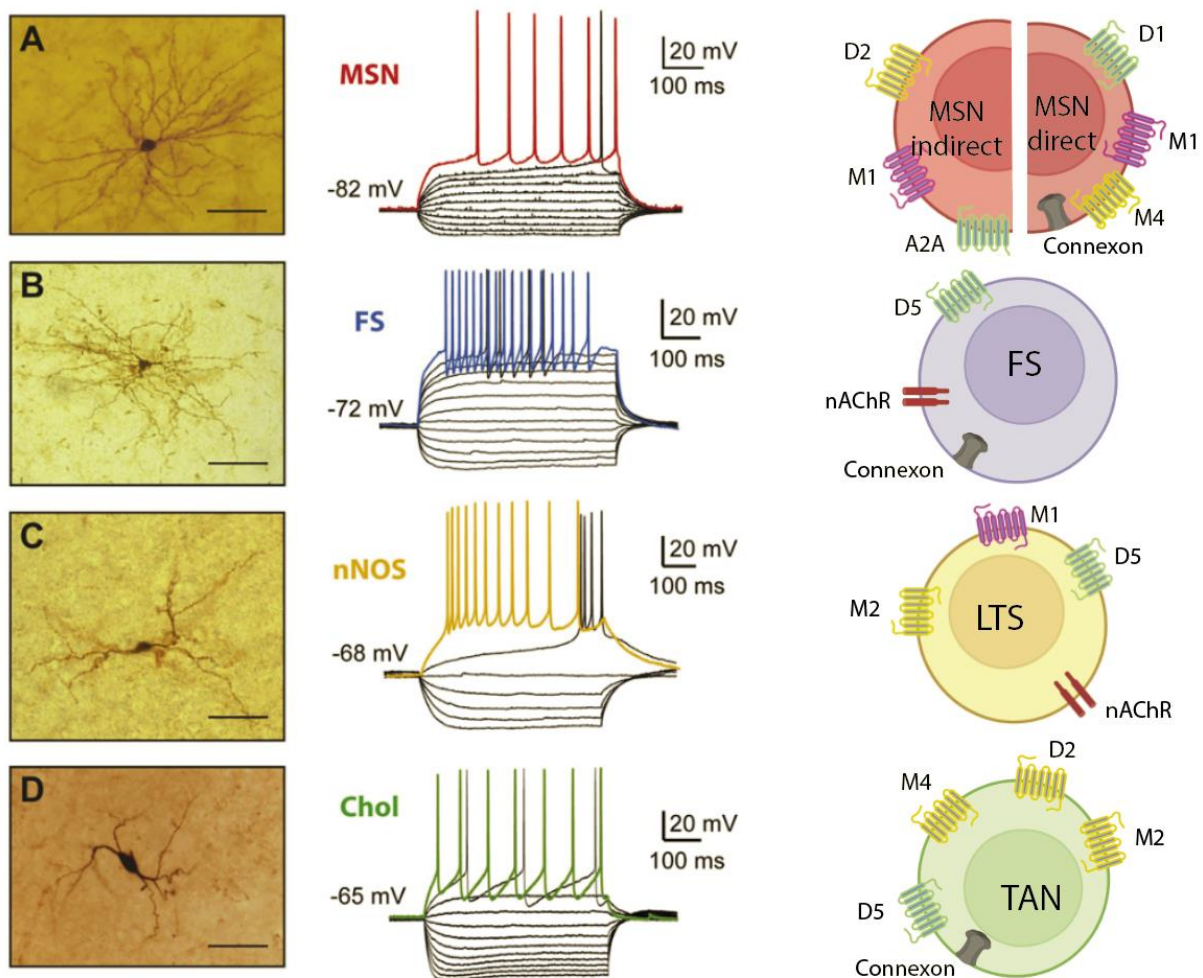


Figure 7. Représentations des différents types d'interneurones striataux selon leur morphologie, propriétés électrophysiologiques, et expression de leurs récepteurs. **A.** Les neurones moyens épineux. **B.** Les « fast-spiking », ou interneurones PV. **C.** Les interneurones dit « low threshold spiking », ou interneurones NOS (ici). **D.** Les interneurones « tonically active », ou interneurones cholinergiques. Les récepteurs métabotropiques verts sont couplés à la protéine Gs, rose à la protéine Gq, jaune à la protéine Gi. M₁, M₂ et M₄ = récepteurs muscariniques de type 1, 2 et 4 respectivement. A₂A = récepteurs à l'adénosine de type 2A. D₂, D₁, D₅ = récepteurs à la dopamine de types 1, 2, 5 respectivement. nAChR = récepteurs nicotiniques. (Figure adaptée de Fino et Venance, 2011).

Interneurone Cholinergique

Le striatum contient une des plus importantes densités de marqueurs cholinergiques dans le cerveau. Ces interneurons identifiés grâce à un marquage de l'acétyltransférase, sont les seuls neurones non-GABAergiques du striatum (Bolam et al., 1984; Kawaguchi 1993). Ils ont les plus grands corps cellulaires du striatum (50 μm) et possèdent de longues dendrites et de longues arborisations axonales, cependant relativement peu ramifiées. Une étude de (Higley et al., 2011) met en évidence la présence des transporteurs VGluT3 (transporteur du glutamate) dans les terminaisons présynaptiques des interneurons ChAT. Par manipulation optogénétique et enregistrement de l'activité des MSNs, ils montrent pour la première fois la co-libération de glutamate par ces interneurons induisant une réponse excitatrice dans les cibles postsynaptiques. Les interneurons ChAT sont caractérisés *in vivo* par leur potentiel de membrane au repos dépolarisé, leur activité tonique et leur faible fréquence de décharge (entre 1 et 5Hz) dû à une forte hyperpolarisation suivant chaque potentiel d'action. De plus, leur activité tonique se met en pause en réponse à un stimulus sensoriel pertinent (Aosaki et al., 1994; Graybiel et al., 1994).

Concernant la connectivité des interneurons ChAT, ils reçoivent des afférences thalamiques et corticales assez éparées comparé aux MSNs mais néanmoins suffisantes pour impacter leur activité (Thomas et al., 2000). En plus de recevoir des synapses électriques inhibitrices des MSNs (Bolam et al., 1986), il a été suggéré très récemment la présence de jonctions GAP entre les interneurons ChAT et les MSNs de type D₁ (Ren et al., 2021). En effet, par manipulations optogénétiques et pharmacologiques, ils ont montré que l'activation des MSN-D₁R induisait une activité basale des interneurons ChAT et ce via des jonctions GAP, ce qui pourrait contribuer à l'activité tonique caractéristique de ces interneurons. Ils sont aussi inhibés et activés par la dopamine via les récepteurs D₂ et D₅ respectivement, il est à noter que ces effets opposés sont observés au sein d'un même interneurone. Enfin, les interneurons ChAT expriment les récepteurs muscariniques M₂ et M₄ les rendant sensibles aux neurones cholinergiques de projection provenant du noyau pédonculopontin, un noyau du tronc cérébral (Silberberg et Bolam 2015). En retour, les interneurons ChAT exercent une modulation de l'activité des deux types des MSNs via les récepteurs M₁ (MSN-D₂R) et M₁/M₄ (MSN-D₁R), des interneurons à parvalbumine via les récepteurs nicotiniques, et sur les LTS via les récepteurs M₁ et M₂.

Comme vu dans cette section, les interneurones ChAT ont un rôle important dans la régulation de l'activité striatale, cette régulation est complexe de par les différents neurotransmetteurs co-exprimés, les différents types de synapses formées (électriques et chimiques) ainsi que leur effet sur l'excitabilité des neurones cibles dû à la variété des récepteurs sensibles à l'ACh. Bien que ces interneurones aient été impliqués dans des processus de régulation motrice ou cognitive, le rôle de chaque acteur de cette régulation cholinergique striatale est loin d'être encore bien compris (Figures 7 et 8).

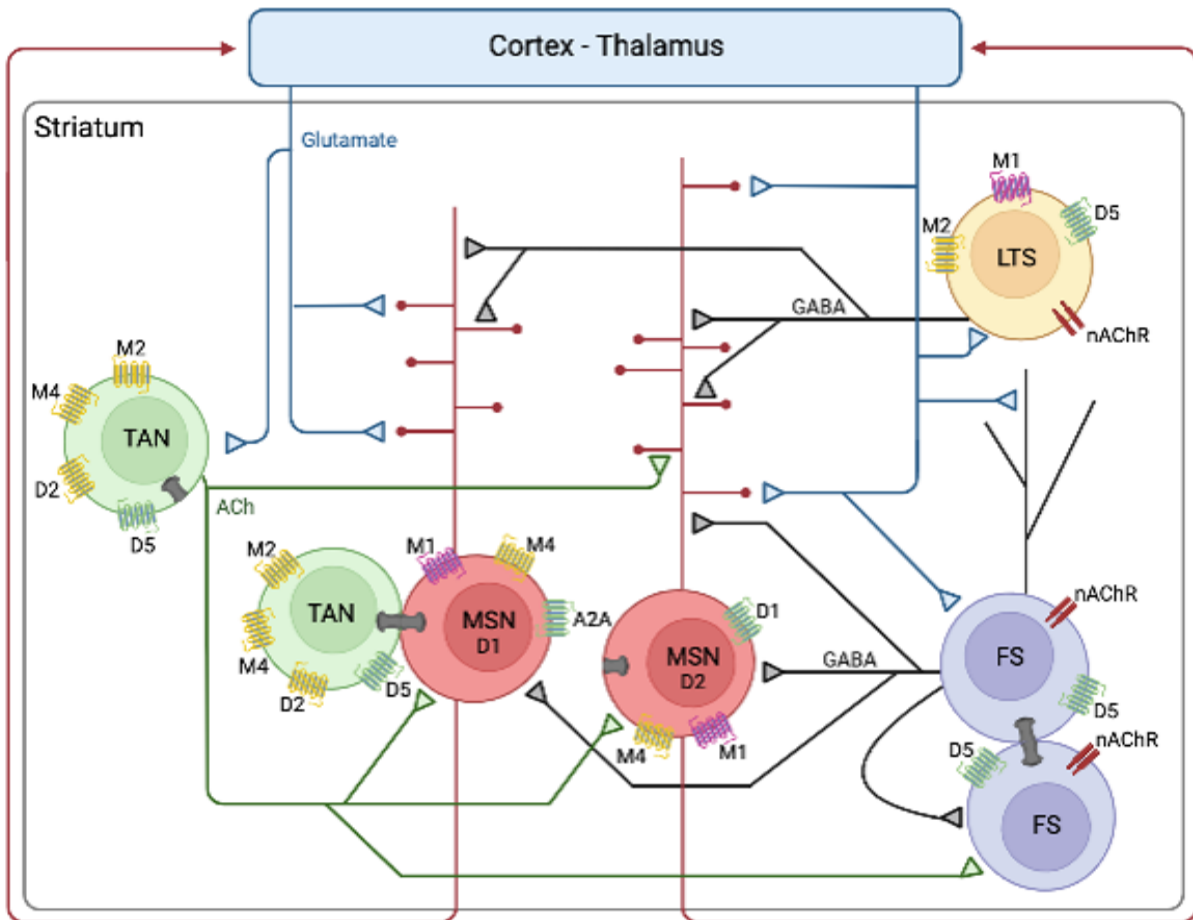


Figure 8. Représentation de la micro-circuiterie striatale. Les projections corticales et thalamiques ciblent les épines dendritiques des MSNs ainsi que les corps cellulaires et les arborisations dendritiques des interneurones. Les interneurones PV forment des synapses perisomatiques sur les MSNs D₁ et D₂ ainsi que sur les interneurones PV. Les interneurones ChAT (TAN) forment également des synapses sur les épines, l'arborisation dendritique, et le soma des MSNs. Ils modulent aussi l'activité des interneurones PV et LTS. Les LTS envoient des projections éparses sur les dendrites des MSNs. Les récepteurs métabotropiques verts sont couplés à la protéine G_s, rose à la protéine G_q, jaune à la protéine G_i. M₁, M₂ et M₄ = récepteurs muscariniques de type 1, 2 et 4 respectivement. A₂A = récepteurs à l'adénosine de type 2A. D₂, D₁, D₅ = récepteurs à la dopamine de types 1, 2, 5 respectivement. nAChR = récepteurs nicotiniques. Ach = acétylcholine, GABA = acide gamma-aminobutyrique. (Figure adaptée de Monteiro et al., 2016).

1.2.2. Enrichissement de l'information, conséquence de sa circulation au sein des boucles anatomo-fonctionnelles corticostriatales

Les différentes régions du cortex qui participent à l'élaboration d'un comportement depuis l'impulsion émotionnelle et motivationnelle suivi de la planification cognitive jusqu'à l'exécution du mouvement, sont reflétées dans l'organisation, la physiologie et la connexion entre les aires frontales du cortex et leurs projections striatales (Alexander et al., 1986; McGeorge et Faull 1989). Classiquement, la connexion corticostriatale est décrite selon 3 boucles parallèles et ségréguées transmettant chacune des informations de nature limbiques, associatives ou motrices. Le striatum est alors organisé sous forme de territoires fonctionnels selon le type de projections corticales qu'il reçoit. Les fonctions détaillées du striatum feront l'objet du chapitre suivant (1.2.2 Fonctions striatales). L'organisation des circuits des ganglions de la base est mieux appréciée dans le contexte de l'organisation du cortex frontal. Bien que le striatum reçoive également des entrées d'autres zones corticales, nous nous concentrerons sur le cortex frontal car il reçoit la principale sortie des ganglions de la base via le thalamus.

Les aires corticales impliquées dans les processus limbiques projettent majoritairement sur le striatum ventral. Plus spécifiquement, le cortex préfrontal médial et le cortex orbitofrontal médial (mOFC) projettent sur la partie médiale du striatum ventral (VMS) et sur le noyau accumbens, le cortex cingulaire antérieur ventral (vACC) projette sur le noyau accumbens et le cortex insulaire projettent sur le striatum ventrolatéral. La région limbique du striatum se trouve surtout dans le striatum rostral.

Les aires corticales impliquées dans des processus cognitifs projettent sur le striatum dorsomédial. L'ACC dorsal chez la souris projette sur la région la plus dorsale et la plus médiale du striatum, l'OFC ventral projette sur la région médio-centrale du striatum, et l'OFC latéral projette sur le striatum centro-centrale, dans la continuité des projections de l'OFC ventral.

Enfin, l'aire motrice primaire (M1) ainsi que l'aire pré-motrice et l'aire motrice supplémentaire projettent sur le striatum dosolatéral (Hadjas et al., 2020; Harada et al., 2021; Allen Brain Atlas Connectivity).

Grâce aux progrès techniques considérables (enregistrement d'activité dans différentes structures cérébrales simultanément, développement de stratégies virales), une étude a montré comment l'organisation topographique cortico-striatale est bien plus précise que la ségrégation d'ordre motrice, associative et limbiques. Le striatum peut être défini en une multitude de domaines selon les projections corticales permettant une étude plus fine des territoires fonctionnels du striatum (Foster et al., 2021).

De plus, une étude récente corrobore cette organisation anatomique topographique par une activité cortico-striatale également topographique. Dans une tâche visuelle chez la souris, l'activité striatale se propage selon un gradient dorso-médial à dorso-central puis ventro-latéral simultanément à la progression des étapes comportementales de la tâche : du stimulus visuel, à la réponse de la souris jusqu'à sa récompense. L'activité enregistrée dans chaque sous-région du striatum reflète spécifiquement l'activité des régions corticales topographiques associées suggérant que la relation fonctionnelle entre le cortex et le striatum est principalement déterminée par sa connectivité anatomique (Peters et al., 2021).

Bien qu'essentiellement décrit comme étant des boucles anatomo-fonctionnelles indépendantes, de plus en plus d'arguments font preuve d'une communication entre ces différentes boucles soit par des mécanismes internes au striatum, soit via les afférences striatales de types corticales ou dopaminergiques. Que ce soit les interneurones PV ou les neurones de projections MSNs, ces deux populations s'étendent largement dans le striatum via leur arborisation axonale et peuvent moduler leur activité. Les MSNs possèdent des collatérales pouvant inhiber d'autres MSNs avoisinant (Parent et al., 2000) mais recevant des projections corticales d'une autre région corticale. Cependant ces connexions sont faibles dû à une basse probabilité de libération de neurotransmetteurs à ces synapses (Koos 2004; Plenz 2003). Ce même processus a lieu avec les interneurones PV qui ciblent d'autres PV.

Concernant la communication de ces boucles grâce aux afférences striatales, l'intégration d'information de nature différente peut aussi se faire à l'échelle neuronale via les afférences corticales. En effet, un même interneurone PV peut recevoir des projections corticales de l'aire motrice primaire M1 ainsi que de l'aire sensorielle S1 (Flaherty et Graybiel 1993; Ramanathan et al., 2002). Enfin, les afférences dopaminergiques striatales

provenant de la VTA et de la SNc permettent une interface de communication entre les différentes régions du striatum via les boucles ascendantes en spirales entre les régions striatales et les structures dopaminergiques. Le noyau accumbens influence le striatum central, qui en retour influence le striatum dorsolatéral (Haber et al., 2000). Cette particularité anatomique permet une circulation de l'information de la zone limbique à la zone cognitive jusqu'à la zone motrice, cela dans le contexte de l'exécution d'un comportement motivé, fonction importante des ganglions de la base.

1.2.3. Impact du réseau d'interneurones sur les fonctions striatales

L'ensemble des noyaux des ganglions de la base communiquent entre eux pour traiter et intégrer les informations corticales afin de produire un comportement motivé, adapté et optimisé. Cela requiert une exécution motrice ainsi que tous les processus associés conduisant à cette exécution. Cela implique l'apprentissage et le renforcement associatif, la sélection de l'action, l'apprentissage moteur et l'apprentissage procédural. Ces différents niveaux d'apprentissage sont affinés jusqu'à optimisation du comportement grâce à la circulation de l'information à travers les boucles des GB et à la modulation de l'activité à travers les projections dopaminergiques (Graybiel et Grafton 2015).

Ce raffinement repose en partie sur l'anatomie convergente des GB et en premier lieu du striatum. En effet, chez le rat, environ 5000 afférences glutaminergiques projettent sur chaque MSN du striatum, mais seulement 100 MSNs du striatum projettent sur un neurone de la structure suivante. Cette propriété anatomique est fondamentale pour la fonction de filtre des afférences et efférences du striatum. Les informations corticales et thalamiques pertinentes sont extraites du signal sur bruit environnemental pour être transmises aux structures suivantes et ainsi produire la réponse comportementale souhaitée.

1) Le striatum limbique

Le striatum ventral est considéré comme une structure clé lors des premières étapes de l'apprentissage grâce au renforcement établi entre une action et sa récompense associée. Ce renforcement est médié par le processus d'erreur prédictive de récompense siégeant dans la VTA, structure dopaminergique afférente du striatum ventral (Schultz 2002). Une dérégulation de l'activité du NAc conduit à des comportements pathologiques tels que l'addiction, la compulsion et l'impulsivité. L'activité striatale régissant ce type de processus semble en partie être modulée par les interneurons PV du NAc « core », qui, comme les MSNs, sont sensibles à la dopamine. L'inhibition par optogénétique de ces interneurons PV provoque des réponses prématurées chez la souris lors d'une tâche testant l'impulsivité (Pisansky et al., 2019) tandis qu'une augmentation croissante de leur activité a été observée lorsque des rats s'approchent de leur récompense dans une tâche de « reward searching maze » (Lansink et al., 2010). Le striatum ventral est donc considéré comme une structure critique dans l'intégration d'informations liées à la motivation ainsi qu'à la valence appétitive ou aversive des associations entre une action et sa conséquence (Berridge 2009).

2) Le striatum associatif

Le striatum associatif est la structure qui fait l'objet du cœur de mon travail de thèse. Pour saisir ses caractéristiques et ainsi replacer plus précisément les résultats présentés par la suite dans ce manuscrit, j'apporterai davantage de détails à ce paragraphe.

Le striatum dorsomédial, ou striatum associatif, est principalement décrit pour son rôle dans les processus cognitifs participant à l'élaboration d'un comportement dirigé vers un but (Graybiel 1998; Hikosaka et al., 2000). Cela met en jeu plusieurs fonctions telles que l'apprentissage (Yin et al., 2005b), la prise de décision (Thorn et al. 2010), ou encore le contrôle inhibiteur du comportement (Terra et al. 2020). Plusieurs études ont montré causalement le rôle intrinsèque du striatum associatif dans ces processus. Par exemple, la lésion du striatum dorsomédial chez le rongeur lors d'une tâche de conditionnement instrumental entraîne une diminution de l'apprentissage associatif entre une action et sa

conséquence (action-outcome) (Yin et al., 2005b). De plus, l'inactivation des récepteurs NMDA au glutamate dans le striatum dorsomédial abolit les effets de la dévaluation de la récompense chez le rat, montrant l'incapacité du rat à adapter son comportement (Yin et al., 2005a).

Au cours de tâches visuelles de prise de décision chez le rongeur, nécessitant également un apprentissage associatif du stimulus récompensant, l'activité du striatum dorsomédial apparaît dépendante du côté de la réponse ainsi que du contraste du stimulus, et non du choix subséquent (Peter et al., 2020). De manière similaire, Thorn et al. (2010) ont montré une augmentation de l'activité striatale dorsomédiale après exposition de rats à un stimulus sonore informatif sur le choix de réponse gratifiant. Ces études suggèrent que la réponse du striatum dorsomédial au stimulus semble être en lien avec une représentation sensorielle plutôt qu'avec la décision en soi.

La fonction du striatum dorsomédial dans l'apprentissage de l'association action-outcome étant bien établie, la compréhension de la régulation striatale à l'échelle de la micro-circuiterie lors de tâches cognitives a fait l'objet de plusieurs travaux plus récents. Par exemple, l'étude de Thorn et Graybiel (2014) a montré un recrutement des interneurons PV putatifs du striatum dorsomédial dans une tâche de prise de décision de type labyrinthe en T. L'enregistrement de ces interneurons a montré une augmentation de leur activité après l'affichage d'un signal sonore, puis une diminution de cette activité lorsque le rat s'engageait dans un bras du labyrinthe. Ces mêmes enregistrements ont été réalisés sur des interneurons ChAT putatifs, cependant aucune modulation d'activité n'a été observée au cours de la tâche.

Une autre étude par Owen et al. (2018) a montré *in vivo* le rôle des interneurons PV dans la régulation des MSNs dans une tâche d'apprentissage. L'inhibition de l'activité des interneurons PV provoque une désinhibition et un bursting de l'activité des MSNs accompagnés par une augmentation des courants calciques striataux. Ces altérations striatales provoquent une augmentation de la plasticité synaptique reflétée par une augmentation du ratio de récepteurs AMPA/NMDA situés aux synapses des MSNs. Pour tester les répercussions comportementales, Owen et al. ont entraîné des souris dans une tâche séquentielle de 3-nosepokes, délivrant une récompense lorsque la séquence était correctement exécutée. L'ablation des interneurons PV du striatum dorsal a provoqué une augmentation du taux d'erreur dans les étapes précoces d'apprentissage de la tâche

mais pas dans les étapes tardives, tandis que la performance motrice et motivationnelle sont restées inchangées. Cependant il est important de noter la divergence de ces résultats avec d'autres études. L'étude de Fino et al. (2018) suggère que la régulation de l'activité des MSNs du striatum dorsomédial était majoritairement due aux LTS-SOM. De plus, dans une tâche de comportement dirigé vers un but, Holly et al. (2019) ont montré que l'altération de l'activité des interneurons PV n'affectait pas l'apprentissage de la tâche, à l'inverse des LTS. Ainsi la diminution de l'activité des LTS semble critique pour l'acquisition de la tâche tandis que l'activation par optogénétique de ces neurones réduit l'acquisition de l'association action-outcome.

3) Le striatum sensorimoteur

Lorsqu'une action est répétée avec régularité, l'association entre le stimulus et l'action (« stimulus-réponse ») est renforcée jusqu'à devenir habituelle. Cet état est défini par une absence de sensibilisation à la dévaluation de la réponse (Yin et al., 2004). Le striatum dorsolatéral est connu pour être impliqué dans cette automatisation de « stimulus-réponse » (Dezfouli et Balleine 2012). Similairement aux lésions appliquées dans le striatum dorsomédial, Yin et al., (2004) ont montré que des lésions du striatum dorsolatéral provoquaient une sensibilité des rats à la dévaluation de la réponse. A l'inverse, les rats n'ayant pas de lésion persistaient dans des réponses non gratifiantes, montrant ici le rôle du striatum dorsolatéral dans la formation de comportements habituels (Yin et al., 2004). Une étude de Bergstrom et al. (2018) a montré que l'inhibition des neurones du striatum dorsolatéral augmentait les réponses correctes lors de l'apprentissage précoce d'une tâche de discrimination visuelle. En revanche, l'inhibition de ces neurones après l'apprentissage de la tâche n'affectait pas la performance des rats. Étayant ces résultats, Lee et al. (2017) ont montré que l'inhibition des interneurons PV de cette région striatale pendant une tâche d'apprentissage conditionnée provoquait un retard de l'apprentissage lors des stades précoces. Ces études suggèrent ainsi que le striatum dorsolatéral forme une association renforcée « stimulus-réponse » dès les premiers stades de l'apprentissage retardant les performances de la tâche.

Gage et al. (2010) ont mis en évidence l'activation des interneurons PV du striatum dorsolatéral lors de l'exécution de l'action faisant suite à la décision, lors d'une tâche de

prise de décision dans un labyrinthe en T. Ils suggèrent dans cette étude le rôle des interneurons PV putatifs dans l'inhibition des alternatives compétitrice au choix avant la levée d'inhibition des interneurons PV sur les MSNs par les neurones inhibiteurs du GPe. Enfin, le striatum dorsolatéral participe à l'exécution motrice résultant d'une planification d'action comme décrit précédemment (Cui et al., 2013; Gittis et Kreitzer 2012; Tecuapetla et al., 2014). Plus spécifiquement, certains interneurons semblent participer à certaines propriétés du mouvement, et particulièrement les propriétés qui influencent la vigueur de l'action, telle que la vitesse et la force (Gritton et al., 2019). Tandis que les interneurons ChAT semblent synchroniser l'activité des MSNs pour signaler l'arrêt d'un mouvement, les interneurons PV sont quant à eux recrutés 500 ms avant le début d'un mouvement.

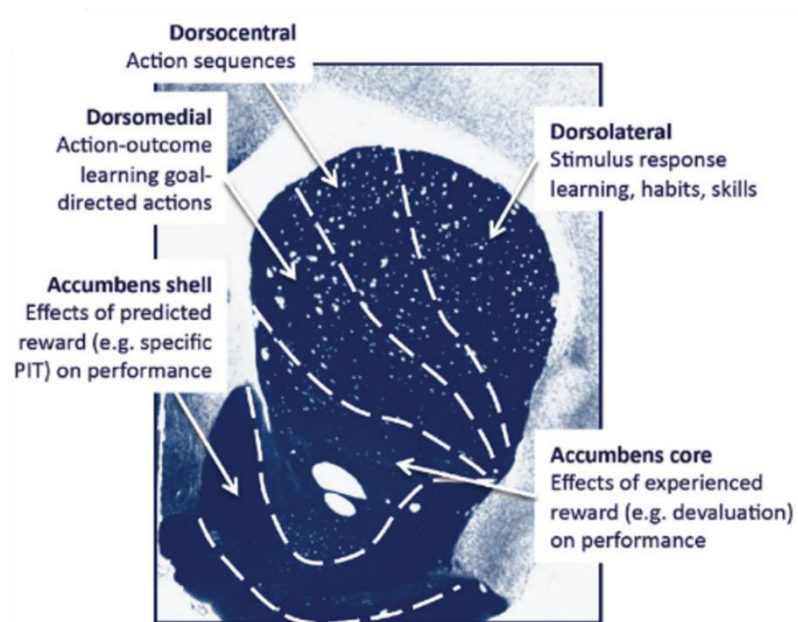


Figure 9. Principales divisions fonctionnelles du striatum. Le striatum joue un rôle majeur dans l'apprentissage et le contrôle de l'action. Le striatum dorsomédial est nécessaire pour l'association « action-outcome », cette association se traduit par la formation d'une chaîne d'action (dorsocentrale) avant d'être exprimée par un comportement habituel (dorsolatéral). La partie ventrale du striatum peut être divisée en deux régions : le noyau accumbens core, impliqué dans des processus d'attribution de valeur de l'outcome grâce aux expériences passées, et le noyau accumbens shell impliqué dans la prédiction de la récompense. (Figure Shiflett et Balleine, 2012).

En résumé, le striatum, premier relais d'entrée des ganglions de la base, concentre des informations provenant de régions corticales très diverses fonctionnellement, faisant de lui une structure très polyvalente. L'organisation topographique des ganglions de la base a pour conséquence une organisation du striatum en territoires fonctionnels. Cette topographie spatiale confère l'avantage de pouvoir étudier spécifiquement l'intégration, la régulation et l'acheminement d'informations impliquées dans des fonctions précises telles que la prise de décision. Concernant son anatomie, le striatum est la structure des GB disposant de la plus grande richesse de populations neuronales. Le réseau d'interneurones locaux GABAergiques et cholinergiques régule directement l'activité des neurones de projections (MSN), ou indirectement par la modulation d'interneurones intermédiaires. Les interneurones PV représentent la plus grande source d'inhibition de l'activité striatale. Ils possèdent des propriétés anatomiques, électrophysiologiques et de connectivité leur permettant de modifier finement et efficacement l'activité des MSNs et par extension la transmission des informations corticales aux structures suivantes. Ainsi, selon leurs niveaux d'activité, ils influencent le comportement de l'individu.

C

HAPITRE 2. RÉGULATION STRIATALE DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à la régulation comportementale dans le cadre spécifique de la prise de décision perceptuelle, une fonction cognitive dont la régulation par la micro-circuiterie striatale a été récemment proposée. Dans un premier temps, nous nous attacherons à définir le concept de prise de décision perceptuelle ainsi que les différentes variables pouvant être mesurées afin d'évaluer au mieux ce processus. Nous aborderons dans ce contexte les différents paradigmes utilisés, avec leurs avantages et leurs limites. Nous verrons ensuite quelles informations provenant des structures corticales sont envoyées au striatum et comment ce dernier module la transmission de ces informations aux structures efférentes via son réseau d'interneurones.

2.1. DÉFINITION ET MESURE DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

2.1.1. La décision perceptuelle : comment l'intégration d'information sensorielle guide notre comportement

1) Définition

La prise de décision est le processus cognitif de sélection d'une option ou d'une action dirigée vers un but parmi un ensemble d'alternatives en fonction des informations disponibles environnantes (Hanks et Summerfield 2017). La prise de décision

perceptuelle est le processus par lequel un individu détecte, discrimine et catégorise l'information sensorielle afin éventuellement de la convertir en une action motrice discrète. Par exemple, identifier un visage dans une foule ou encore reconnaître un champignon toxique selon sa couleur. Ce processus s'oppose à la prise de décision *préférentielle* pour laquelle la décision et la sélection de l'action est soumise à l'appréciation subjective du sujet à travers l'attribution de valeurs aux différentes options (Dutilh et Rieskamp 2016).

2) Contexte d'étude

Avant d'atteindre le domaine des neurosciences, l'étude de la prise de décision perceptuelle était restreinte à l'observation des stratégies comportementales permettant de fournir un cadre théorique à la compréhension de son implémentation au niveau cérébral. Depuis plusieurs décennies maintenant, le couplage entre comportement et enregistrement neuronal a permis de mieux caractériser ses corrélats neurophysiologiques. La prise de décision peut s'étudier dans un contexte relativement simple où le sujet doit déterminer dans quelle direction se déplacent un ensemble de points, ou bien elle peut s'inscrire dans un cadre mettant en jeu des processus qui vont au-delà de l'intégration sensorielle impliquant un apprentissage *stimulus-action-outcome*, comme par exemple l'association de contingences gratifiantes entre un stimulus et un lieu de réponse. Dans ce dernier cas, l'utilisation du terme perceptuel indique que la réponse correcte repose sur un critère externe objectif (Dutilh et Rieskam, 2016). Cette prise de décision perceptuelle n'est pas considérée comme une réponse réflexe mais comme un processus cognitif combinant des informations sensorielles avec la connaissance des choix alternatifs et des expériences passées. Ce pan de recherche a pour but de comprendre comment un individu intègre et utilise des informations objectives, notamment sur la mise en place des stratégies comportementales mais aussi en étudiant les substrats neuronaux impliqués dans ce processus.

Dans notre environnement, les stimuli sensoriels sont parfois incohérents (il pleut malgré un grand soleil), ou alors la conséquence d'une action associée au stimulus n'est pas toujours connue (vais-je tomber malade si je mange ce champignon ?), provoquant ainsi

une incertitude quant à la décision à prendre. Cette incertitude générée peut être donc liée à l'ambiguïté du stimulus sensoriel lui-même, qui peut se quantifier comme le ratio du signal sur bruit. L'incertitude peut également provenir d'une méconnaissance des contingences à inférer entre un stimulus et l'action associée, par exemple lors d'un processus d'apprentissage (Yu 2014).

3) Mesure comportementale

Initialement étudiée en psychologie, la prise de décision perceptuelle se mesure classiquement selon le temps de réaction du sujet, correspondant à la durée entre l'apparition du stimulus et l'exécution du choix ; ainsi que selon la justesse de la réponse. Ces performances représentent la facilité d'intégration de l'information sensorielle. Plus les réponses sont rapides et correctes, plus l'intégration sensorielle semblerait être efficace. A l'inverse, plus la réponse est lente et imprécise, moins l'intégration serait performante.

Par exemple, lorsque nous conduisons, nous devons intégrer, interpréter et utiliser de nombreuses et diverses informations sensorielles afin de sélectionner nos futures actions de manière appropriée. Face à un feu rouge, l'association stimulus-réponse est généralement renforcée et automatique. Notre prise de décision est alors rapide et efficace. Par contre lorsque le feu est orange, notre incertitude augmente et nous devons alors davantage considérer le contexte environnant. A quelle distance du feu je me trouve ? A quelle vitesse arrive la voiture derrière moi ? Un piéton s'est-il déjà engagé sur la voie ? L'intégration de toutes ces informations perceptuelles nous mène à prendre la décision la plus optimale (*Figure 10*).



Figure 10. Les êtres vivants prennent constamment des décisions dites perceptuelles afin d'évoluer de manière adaptée dans leur environnement. La prise de décision perceptuelle repose sur des informations sensorielles environnantes. Face à un stimulus non ambiguë (exemple : un feu rouge), l'association entre le stimulus et la prise de décision est généralement rapide et efficace. En cas de contexte ambiguë (exemple : feu orange), il est nécessaire de collecter plus d'information environnant afin de prendre la décision la plus optimale, cela nécessite alors une régulation du comportement afin d'éviter toute réponse inadaptée.

4) Illustration par un modèle computationnel

Les tâches perceptuelles sont très utiles pour étudier le processus de décision. D'une part, elles permettent de contrôler de manière précise la quantité et la qualité d'informations provenant du stimulus sensoriel disponible. D'autre part, elles permettent de suivre l'accumulation et l'utilisation de ces informations au cours du temps et d'en mesurer l'impact neurophysiologique et comportemental. Le processus de décision a notamment été modélisé sous le nom du drift diffusion model (DDM) (Ratcliff 1978). Classiquement utilisé pour modéliser l'échantillonnage séquentiel d'information, il prend également en

compte d'autres paramètres influençant la prise de décision et permet une représentation visuelle intuitive du processus (*Figure 11A*). Le DDM est une représentation graphique de l'accumulation d'information fournie par un stimulus sensoriel en fonction du temps. Deux alternatives de réponses compétitives A et B sont représentées sous forme de seuil à atteindre. La réponse est engagée lorsque l'un des deux seuils est atteint. Les paramètres du modèle sont les suivants :

Le taux de diffusion quantifie le taux d'intégration de l'information. Celui-ci est modulé par la cohérence de l'information sensorielle et reflète l'incertitude du sujet. Plus le taux de diffusion est bas, plus les temps de réaction sont longs et inversement.

Les valeurs des seuils définissent la quantité d'information nécessaire pour pouvoir prendre une décision. Elles reflètent la confiance de l'individu quant à la quantité d'information qui lui est nécessaire pour répondre. L'ajustement de ces deux premiers paramètres constitue ce que l'on appelle le « speed accuracy trade off », c'est-à-dire, le compromis entre la rapidité et la précision de la réponse.

Le point de départ de la prise de décision peut être biaisé vers une des deux alternatives soit par un biais interne au sujet (e.g. préférence naturelle pour choisir le côté gauche) soit par l'expérience passée. Ce biais peut affecter de façon non linéaire la prise de décision (*Figure 11B*). Trois autres paramètres, qui ne seront pas détaillés ici, fournissent des informations sur la variabilité inter-essais. Il est important de préciser que ce modèle n'est pas l'unique à décrire ces processus de prise de décision perceptuelle, et que, par ailleurs, des travaux récents ont remis en question la représentation du taux constant de diffusion dans le DDM, ainsi que ses seuils fixes, proposant plutôt un taux de diffusion variable au cours du temps jusqu'à atteindre un des seuils, eux-mêmes également ajustables au cours du processus (Smith et Ratcliff 2022).

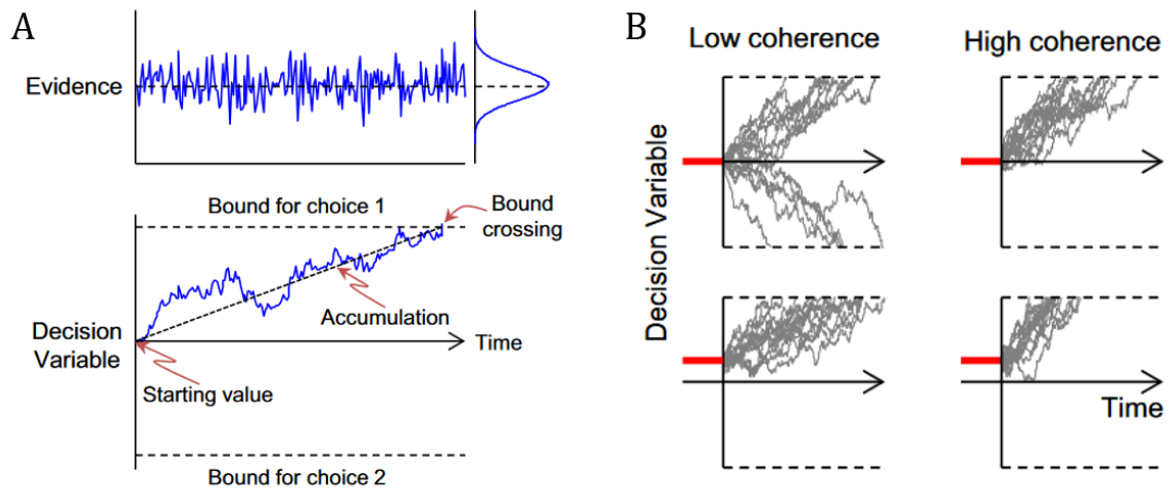


Figure 11. Modélisation de la prise de décision perceptuelle par le « Drift Diffusion Model ». **A.** Information sensorielle bruitée provenant d'une distribution Gaussienne. Cette information est accumulée au cours du temps. La vitesse d'accumulation est rapportée comme le taux de diffusion. Le choix est fait comme un des deux seuils est atteint. **B.** Simulation d'essais (lignes grises) montrant l'influence de la valeur du point de départ sur l'intégration d'informations sensorielles fortement ou faiblement cohérentes (Figure Ding et Gold, 2013).

2.1.2. Capturer de manière optimale le processus de prise de décision à l'aide de tâches comportementales

La prise de décision perceptuelle s'étudie dans un contexte motivationnel permanent. Cet état conduit l'Homme ou les animaux à exécuter diverses tâches comportementales permettant à l'expérimentateur de capturer des paramètres influençant le processus de décision, comme la détection d'accumulation d'évidence (Hanks et al., 2015), la confiance accordée à la décision (Kepecs et al., 2008) ou encore la motivation (Shanahan et al., 2021). Ces tâches impliquent différentes modalités sensorielles et peuvent être effectuées en tête fixée ou en mouvement libre. Chacune des conditions présente des avantages et limitations qui doivent être considérées autant d'un point de vue scientifique que pratique.

La prochaine section se focalise sur la description des paradigmes existants et leurs limitations dans le cadre de mon travail expérimental. Ces précisions permettent de mieux comprendre les besoins mis en jeu lors de mon premier objectif de thèse : l'élaboration d'une nouvelle tâche comportementale de prise de décision répondant précisément à mon hypothèse de travail.

La décision perceptuelle a été largement décrite grâce au développement du random-dot motion task (Williams et Sekuler 1984) (Figure 12). Cette tâche couramment utilisée chez l'homme et le macaque permet d'étudier la relation entre l'intégration de l'information sensorielle et la perception (Watamaniuk et Sekuler, 1992; Ding et Gold, 2010). Elle consiste en une première phase où le sujet fixe un point au centre d'un écran, puis apparaît pour une durée déterminée le stimulus qui est composé d'un ensemble de points se dirigeant indépendamment dans une direction préférentielle. Finalement le sujet doit exécuter une saccade vers la direction du mouvement global perçu. La tâche peut être découpée en trois séquences : l'intégration sensorielle, la prise de décision et l'exécution motrice (Newsome et Pare 1988).

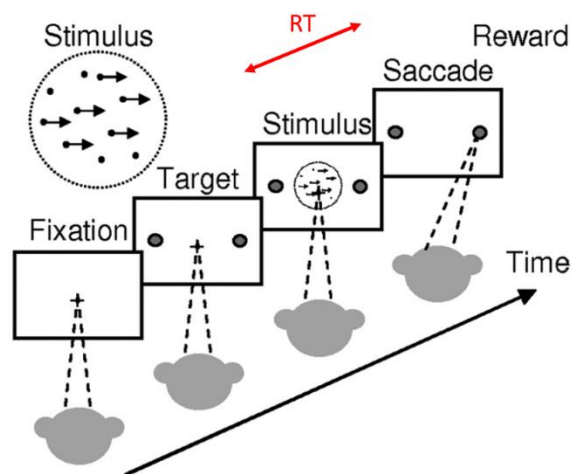


Figure 12. « *Random-dot motion discrimination task* ». Le macaque doit déterminer dans quelle direction se déplace la plus grande fraction de points sur un écran. Il indique son choix par une saccade oculaire vers l'une des deux cibles affichées. Il est récompensé en cas de réponse correcte. Une deuxième version de la tâche permet de mesurer le temps de réaction du sujet en autorisant le macaque à effectuer la saccade dès lors que sa décision est faite. (Figure d'après Ding et Gold, 2010).

Une deuxième version de la tâche consiste à afficher le stimulus jusqu'à ce que le sujet fasse un choix (Roitman et Shadlen 2002). Cette version permet non seulement de capturer ce que le sujet perçoit, mais également de mesurer le temps qui lui est nécessaire pour prendre une décision. Les résultats comportementaux montrent que la proportion de réponses correctes ainsi que le temps de réaction varient en fonction de la cohérence du stimulus. Plus le stimulus est cohérent (et donc facile à intégrer), plus le taux de réponse correcte est élevé et plus les temps de réaction sont bas, et vice versa (Ding et Gold 2010). Le taux de réponse correcte dépend également de la durée de visualisation du stimulus. Ainsi pour des stimulus à faible cohérence, la probabilité d'obtenir une réponse correcte est plus élevée lors d'une exposition plus longue au stimulus (Roitman et Shadlen, 2002).

Cette tâche présente l'avantage d'induire de l'incertitude perceptuelle sur le sujet et de pouvoir en étudier les conséquences sur sa prise de décision d'un point de vue comportemental et neurophysiologique.

Aujourd'hui, l'utilisation de rongeurs est de plus en plus fréquente pour l'étude de la prise de décision perceptuelle (Carandini et Churchland 2013). Ce modèle répond favorablement à plusieurs modalités sensorielles permettant une diversité de tâches comportementales. Le design le plus simple pour tester ce processus consiste à utiliser des tâches de type Go/NoGo. Par exemple, dans une tâche de discrimination tactile, des souris devaient lécher un bec de distribution si une texture rugueuse était appliquée sur leurs vibrisses (Go) afin d'obtenir une récompense, en cas de présentation d'une texture lisse (No Go) elles devaient retenir ce comportement (Lee et al., 2019) (*Figure 13A*). Ces tâches présentent l'avantage d'un apprentissage rapide par la souris mais sont très sensibles aux états motivationnels de cette dernière pouvant induire des biais d'interprétation sur leurs performances (la souris ne répond-elle pas par manque de motivation ou car c'est une réponse correcte de type No Go ?).

Pour éviter cet effet, l'utilisation de tâches où la nécessité d'une réponse active de la part de la souris indépendamment du stimulus est favorisée. C'est le cas par exemple dans l'étude de Thorn et al. (2010), où des rats évoluent dans un labyrinthe en T pour apprendre les contingences gratifiantes entre un stimulus auditif (haute ou basse fréquence) associé à un bras de réponse (*Figure 13B*). Le taux de réponse correcte évolue

au cours de l'apprentissage avec une valeur autour de 50% au début de l'apprentissage et autour de 90% lorsque le plateau d'apprentissage est atteint.

Une autre tâche de discrimination auditive a également été développée par Gage et al. (2010). Les rats font face à 5 ports, l'essai est initié par une indication lumineuse sur l'un des 3 ports centraux et le rat doit y placer sa tête, un stimulus auditif est ensuite diffusé et après un délai variable, un second stimulus auditif indique au rat qu'il peut donner sa réponse sur l'un des deux ports avoisinant. Si la réponse est correcte, un son indique l'obtention d'une récompense (*Figure 13C*).

Ces deux tâches permettent d'associer facilement une activité neurophysiologique enregistrée avec un événement particulier de la tâche, caractéristique amplifiée dans la tâche de Gage et al. (2010) où chaque étape d'un essai est parfaitement délimitée temporellement.

Pour étudier le processus d'accumulation d'information, une tâche appelée « auditory Poisson-click tasks » consistant à la diffusion de deux séquences différentes de clics auditifs aléatoires simultanément par des haut-parleurs gauche et droit a été développée (Brunton et al., 2013; Yartsev et al., 2018). Suite à la diffusion du stimulus, une lumière s'allume et la souris doit indiquer sur un port, de quel côté provenaient le plus de clics (*Figure 13D*). Cette tâche permet de mesurer la contribution de chaque quantile d'information (représenté par un clic) et son accumulation au cours du temps dans la prise de décision. Une autre version de cette tâche développée par Znamenskiy et Zador (2013) consiste à exposer les rats à un train de stimulus auditif composé de deux fréquences différentes (hautes et basses). Les rats doivent alors répondre dès qu'ils le souhaitent du côté associé à l'une des deux fréquences.

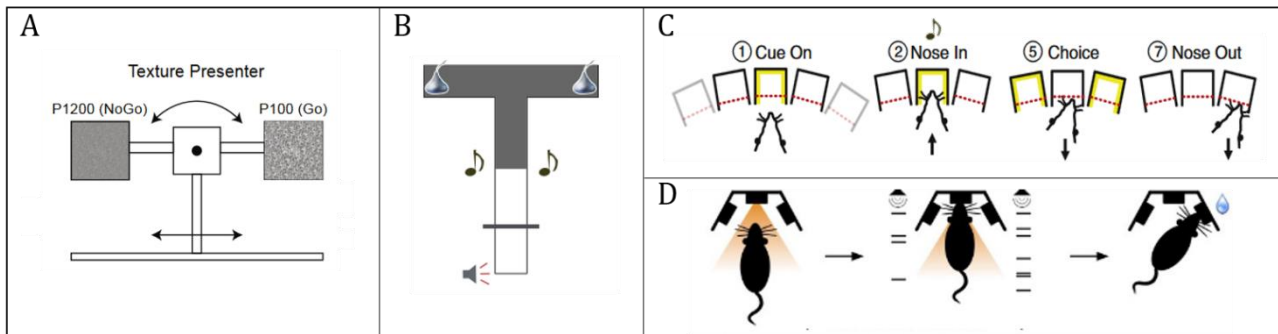


Figure 13. Etude de la prise de décision perceptuelle chez le rongeur. **A.** Tâche de discrimination tactile de type Go/NoGo. Les souris ont la tête fixée au centre. Un stimulus tactile lisse (P1200) ou plus rugueux (P100) est présenté à la souris au niveau de ses vibrisses. Si c'est la texture rugueuse, la souris doit alors lécher un bec de distribution (« hit ») et la souris reçoit une récompense. Si la texture lisse est présentée, la souris ne doit pas lécher le bec. En cas de mauvaise réponse (« false alarm ») la souris reçoit un souffle d'air (Figure adaptée de Lee et al., 2019). **B.** Tâche auditive de labyrinthe en T. Un son signal le début de l'essai, le rat est exposé ensuite à un stimulus auditif (1Hz ou 8Hz) pendant toute la période indiquée en grise. Le rat doit associer le son avec le côté récompensant (Figure Thorn et al., 2010). **C.** Tâche opérante à choix multiples. L'essai est initié avec l'illumination d'un des trois ports centraux (1). Le rat doit y placer sa tête et attendre le display du son auditif indicateur du côté récompensant (2), puis attendre le display d'un stimulus « Go » l'autorisant à donner sa réponse (5). Le rat peut ensuite aller chercher sa récompense (7) (Figure Gage et al., 2010). **D.** « Auditory Poisson-click task ». Après initiation de l'essai par une lumière, le rat se positionne dans le port central et écoute une séquence aléatoire de clic venant de la gauche et de la droite. Après l'arrêt du stimulus, la lumière s'éteint et le rat doit donner sa réponse dans l'un des deux ports indiquant de quel côté il a perçu le plus de clics. (Figure Yartzev et al., 2018).

Ces tâches présentent l'avantage de mettre en jeu l'incertitude du sujet en contrôlant expérimentalement les niveaux de difficulté de la tâche. Dans le random-dot motion task, la cohérence du mouvement des points peut être altérée en ajoutant une fraction variable de point se déplaçant de manière aléatoire. Dans la tâche auditive du « Poisson-click », la diffusion de séquences se rapprochant de 50% de son à gauche et 50% à droite (idem

pour les sons hauts et basses fréquences) ajoute de l'ambiguïté perceptuelle au stimulus. Cela permet d'étudier l'incertitude décisionnelle du sujet lors de l'intégration sensorielle et de son traitement lors de la prise de décision.

Cependant, chez le rongeur, et excepté dans la tâche de Znamenskiy et Zador (2013), il n'est pas possible de déterminer la durée du processus décisionnel, ni le moment précis où cette décision est prise. Dans la tâche de Thorn et al. (2010), le stimulus est diffusé depuis le milieu du bras central jusqu'à ce que le rat réponde, l'animal pourrait avoir pris sa décision alors qu'il n'est pas encore engagé dans un des deux bras de réponse. Dans le design de Gage et al, la durée du stimulus est fixée à 250 ms, le rat ne peut donner sa réponse qu'après autorisation par un « go » stimulus. Ici, le comportement de l'animal ne peut refléter le processus cognitif décisionnel et peut même se confondre avec d'autres mesures comportementales comme l'inhibition active de l'exécution du choix qui est requise avant que le sujet ne donne sa réponse, ou encore avec la mémoire de travail et l'attention prêtée à l'arrivée du « go » stimulus. De la même manière, l'utilisation d'un stimulus fixe (entre 0,1 et 1,2 seconde) dans la tâche de Yartzev et al. (2018) impose au sujet une durée de décision maximale. Pour capturer le processus, il faudrait pouvoir permettre au sujet d'initier lui-même l'essai et qu'il puisse rester exposé au stimulus le temps souhaité. Le temps de décision se calculerait alors comme la durée entre le début du stimulus, et la fin du stimulus coïncidant avec l'engagement du sujet dans son choix.

Le choix d'effectuer une tâche en condition de tête fixée ou en comportement libre dépend également des questions étudiées et des techniques utilisées. En condition tête fixée, l'animal est contraint de tout mouvement ce qui permet l'utilisation d'imagerie calcique de type 2-photons par exemple et de suivre la dynamique temporelle et spatiale d'un réseau neuronal. L'absence de mouvement permet également de s'affranchir de comportements parasites entraînant des activités neuronales confondantes. Cependant, cette contrainte physique peut influencer l'état motivationnel de l'animal, impacter les performances de l'animal et donc l'interprétation des résultats comme vu précédemment. Les tâches de comportement avec des animaux libres de leur mouvement permettent d'explorer davantage de processus liés à la prise de décision comme la planification et la sélection de l'action. De plus, le progrès des techniques d'imageries calciques conçues

pour les animaux en mouvement libre telles que les microscopes miniatures (Aharoni et Hoogland 2019), ou encore la manipulation de l'activité neuronale par optogénétique sans fil (Li et al., 2022; Yang et al., 2021) concilie ces deux facteurs qui étaient jusqu'à l'heure mutuellement exclusif.

Toutefois, aussi bien dans les conditions de tête fixée que comportement libre, l'environnement n'est pas écologique, les animaux sont soumis à des restrictions alimentaires ou hydriques dans le but de motiver l'exécution de la tâche. De plus, la présence et la manipulation de l'animal par l'expérimentateur constituent des facteurs stressant pour le sujet pouvant altérer ses processus physiologiques et comportementales.

Dans le but d'optimiser les différentes limitations évoquées ci-dessus, notre équipe a développé une tâche de prise de décision visuelle où les souris vivent dans une boîte opérante et évoluent en totale autonomie avec une intervention minimale de l'expérimentateur (Benzina et al., 2021). Cette boîte étant leur cage d'hébergement, les souris travaillent alors à leur rythme naturel et sont motivées par l'obtention de nourriture disponible lorsqu'elles le souhaitent (*Figure 14A*). Dans cette tâche, les souris initient volontairement un essai en effectuant un *nose-poke* dans la mangeoire de la chambre, située face à deux écrans. L'initiation d'un essai déclenche alors l'affichage de deux stimuli différents, les souris doivent apprendre lequel des deux stimuli est récompensant, puis vont ensuite répondre en touchant l'un des deux écrans (*Figure 14B*). Cependant dans cette tâche, les stimuli restent affichés sur les écrans jusqu'à ce que la souris aille répondre ne permettant alors pas de discriminer le processus décisionnel du processus moteur. L'adaptation de cette tâche comportementale dans le but d'acquérir une mesure précise de la prise de décision a constitué la première partie de mon travail expérimentale de thèse (voir 5.2. *Conception et mise en place d'une tâche innovante de prise de décision perceptuelle*).

A



B



Figure 14. Tâche de discrimination visuelle dans un environnement automatisé.

A. La souris vit dans une boîte opérante entièrement automatisée et effectue la tâche à son rythme, motivée par l'obtention de nourriture et sans intervention de l'expérimentateur. **B.** La souris initie activement un essai provoquant l'affichage de deux stimuli différents sur deux écrans tactiles. La souris doit déterminer quel est le stimulus récompensant et donner sa réponse en touchant l'écran approprié. Si la réponse est correcte, elle obtient une croquette.

En résumé, la prise de décision perceptuelle est un processus cognitif permettant la sélection d'une action parmi plusieurs alternatives suite à la discrimination et la quantification d'un stimulus sensoriel externe. Les performances de ce processus sont mesurées par le taux de réponse correcte et par le temps de réaction, deux paramètres altérés lorsque l'ambiguïté du stimulus perceptuel augmente, introduisant ainsi une incertitude décisionnelle chez le sujet. La prise de décision perceptuelle a d'abord été étudiée en psychologie comportementale chez l'homme avant de pouvoir en étudier ses bases neurobiologiques grâce à des techniques d'imageries fonctionnelles ou d'enregistrements électroencéphalogrammes (Summerfield et Koehlin, 2010; Kelly et O'Connell, 2013) ainsi que par le biais de modèles animaux. Les résultats comportementaux ont montré que plus la difficulté de la tâche augmentait, plus le taux de réponse correcte diminuait (Ding et Gold, 2010, 2012; Yartzev et al., 2018; Kepecs et al., 2008). Chez l'homme et le macaque, les temps de réaction augmentaient lorsque la difficulté de la tâche augmentait également (Ding et Gold 2010, 2012). Chez le rongeur, les conditions d'expérimentation en tête fixée ou en comportement libre ainsi que l'utilisation de différentes modalités sensorielles permettent une certaine flexibilité quant au design de la tâche de prise de décision, en fonction de la question expérimentale étudiée. Bien qu'à ce jour il existe diverses tâches étudiant ce phénomène, peu de paradigmes permettent une mesure précise du processus décisionnel.

2.2. BASES NEUROBIOLOGIQUES DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

De nombreuses études menées chez l'homme et l'animal ont tenté de déconstruire les mécanismes neurobiologiques mis en jeu dans le processus de prise de décision (Fatahi et al., 2018; Hanks et al., 2015; Lak et al., 2014; Shadlen et Newsome, 1996; Summerfield et Koechlin, 2010). Cependant, la majorité de ces études s'est focalisée sur le rôle fonctionnel de structures corticales, et moins sur la participation des structures profondes. Entre autres, la transmission vers les noyaux des GB et la régulation des processus décisionnels par ces derniers n'ont été que peu étudiées. Cela est notamment dû à la difficulté technique d'investigation fonctionnelle de structures profondes et de la très faible densité des populations interneuronales striatales, rendant leur accessibilité compliquée. Cependant, le développement de nouvelles technologies, comme l'imagerie calcique de structures sous-corticales et l'identification de populations neuronales spécifiques par génie génétique, ouvrent de nouvelles perspectives pour l'étude des circuits neuronaux impliqués lors de processus cognitifs.

2.2.1. Genèse de la prise de décision perceptuelle dans le cortex sensoriel et préfrontal

Afin de discuter du rôle du striatum dans l'intégration et la régulation des informations participant à la prise de décision perceptuelle, j'évoquerai ici brièvement le rôle de différentes régions corticales ayant été proposées pour participer au processus de prise de décision ; ainsi que leur lien anatomique avec le striatum en rappelant leur spécificité spatiale de projections sur ce dernier.

A la fin des années 1990, Shadlen et al. ont entrepris une série d'expériences enregistrant l'activité électrophysiologique de structures cérébrales lors de tâches de prise de décision perceptuelle chez le macaque. Elles ont permis de mettre en évidence que les neurones

du **cortex latéral intrapariétal** (LIP) avaient un taux de décharge qui augmentait lentement avec le temps lorsque la cohérence du stimulus était faible, et à l'inverse, augmentait rapidement lorsque la cohérence était élevée (Shadlen et Newsome, 1996; Shadlen et Newsome, 2001). Des résultats similaires ont été observés par la suite dans le champ oculomoteur frontal (« frontal eye field », FEF en anglais) (Ding et Gold, 2012).

Chez le rongeur, **le cortex pariétal postérieur** (PPC, également appelé cortex cingulaire postérieur, équivalent du LIP chez le macaque, (Vogt et Paxinos, 2014)) reçoit des projections des aires corticales auditives, visuelles et somatosensorielles, faisant de lui un lieu de convergence d'intégration d'informations multisensorielles (Reep et al., 1994). Hanks et al. (2015) ont montré que l'activité du PPC augmentait graduellement lors de l'accumulation d'informations sensorielles lors d'une tâche de décision perceptuelle. Le PPC semble être le premier relai dans la prise de décision après l'intégration des caractéristiques du stimulus par les aires corticales sensorielles pures. Le PPC projette jusqu'au striatum dorsal (Allen Brain atlas connectivity) mais aussi vers le cortex frontal, région impliquée dans de nombreuses fonctions cognitives comme l'apprentissage, la flexibilité cognitive et la prise de décision.

Parmi elles, **le cortex orbitofrontal (OFC)** joue un rôle important dans la prédiction de la récompense (Wallis 2007), la valeur du choix et la confiance du sujet dans sa réponse (Kepecs et al., 2008). Ces derniers auteurs ont montré que pendant une tâche de catégorisation d'odeur, l'activité de l'OFC augmentait linéairement avec la difficulté de la tâche, ce qui semble être un reflet de la confiance du sujet par rapport à sa réponse (Lak et al., 2014). Plusieurs études ont suggéré un rôle central de l'OFC dans la mise à jour des valeurs associées aux choix potentiels, ce qui permet alors une adaptation comportementale dans un environnement en perpétuelle évolution (Nogueira et al., 2017; Rushworth et al., 2007). L'OFC projette dans le striatum associatif central, médial mais aussi dans le striatum limbique ventromédial.

Le cortex cingulaire antérieur (ACC) a été décrit pour son rôle dans l'arbitrage du choix effort-bénéfice. En effet, lors d'une tâche testant la préférence du rat entre la sélection d'une récompense à « haute valeur » obtenue avec effort versus une récompense à « basse

valeur » obtenue sans effort, les rats dont l'ACC a été inactivé par lésions pharmacologiques présentent un biais de sélection vers le choix ne demandant pas d'effort, contrairement aux rats contrôles (Hart et al., 2017). Ce processus peut impacter le choix de l'action dans une tâche de prise de décision perceptuelle, où des stratégies comportementales peuvent être mises en place afin de limiter un effort cognitif n'altérant pas pour autant l'accès à la récompense. L'ACC dans les régions rostrales (ou ACC ventral) du cerveau projette dans des régions limbiques du striatum, tandis que l'ACC plus caudal (ou ACC dorsal) projette sur le striatum dorsomédial.

Terra et al. (2020) ont montré chez le rat, le rôle du *cortex préfrontal médial* (ou cortex prélimbique dorsal, **mPFC**) dans le contrôle inhibiteur du comportement lors d'une tâche de prise de décision perceptuelle mettant en jeu la capacité du sujet à attendre l'apparition du stimulus pour pouvoir répondre de manière adaptée. Plus précisément, ils ont montré que l'amplitude et la latence du changement d'activité des projections du mPFC jusqu'au striatum dorsomédial sont corrélées au comportement de réponses prématurées.

La communication entre ces aires corticales est essentielle pour une bonne contextualisation des différentes composantes de la décision perceptuelle. Par exemple, le PPC constitue un relai entre des aires strictement sensorielles et des régions frontales cognitives traitant ces informations. L'ACC et l'OFC ont une activité synchrone lors d'une tâche de discrimination de haute ou basse récompense à l'aide d'un stimulus auditif suggérant une communication fonctionnelle entre ces deux aires (Fatahi et al., 2018).

Ainsi, toutes ces aires corticales participent à l'élaboration de la prise de décision perceptuelle et projettent majoritairement dans des régions striatales médiales de manière plus ou moins convergente. Le striatum associatif semblerait alors intervenir dans ce processus de décision en intégrant les inputs corticaux de l'ACC, l'OFC et le mPFC et transmettrait en retour les informations pertinentes aux structures descendantes grâce à la régulation striatale locale (*Figure 15*).

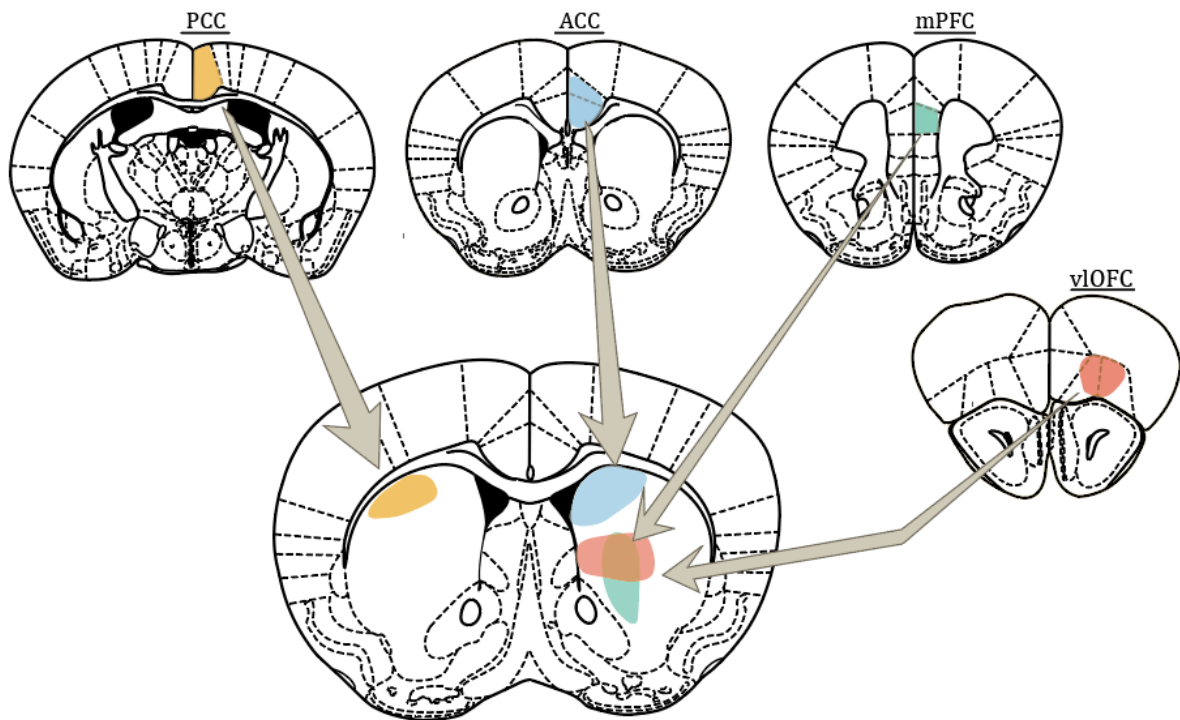


Figure 15. Aires corticales impliquées dans la prise de décision et leurs projections striatales. Le cortex pariétale postérieur (ou cortex cingulaire postérieur, PCC) projette en parti sur le striatum dorsal. Le cortex cingulaire antérieur dorsal (ACC) projette sur le striatum dorsomédial. Le cortex préfrontal médial (mPFC) projette sur le striatum central. Le cortex orbitofrontal ventrolatéral (vlOFC) projette sur le striatum centro-médial. Ces aires corticales projettent également dans l'axe antéro-postérieur du striatum. Ici, seule la section Br. 0,74 est représentée car une large proportion de projections corticales converge sur le striatum centrale, la sous-région striatale à laquelle je m'intéresse dans mes travaux de thèse.

2.2.2. Intégration et sélection de l'action dans le striatum

Une série de travaux de (Thorn et Graybiel, 2014; Thorn et al., 2010) a permis de mettre en évidence la dynamique d'activité du striatum dorsal pendant les différentes phases d'apprentissage d'une tâche de prise de décision perceptuelle dans un labyrinthe en T (Figure 13B). Plus spécifiquement, ils se sont intéressés à l'activité des neurones de

projections MSNs ainsi qu'aux interneurons striataux PV et ChAT en fonction du territoire striatal dorsomédial et dorsolatéral. Ces études permettent de montrer la dynamique d'activité neuronale des différentes régions du striatum en fonction de l'incertitude décisionnelle entre deux phases successives de l'apprentissage : la phase initiale d'acquisition action-outcome et la phase de surentrainement lorsque les performances atteignent un plateau. Les résultats ont montré qu'environ 75% des neurones enregistrés, aussi bien en dorsomédial qu'en dorsolatéral, voyaient leur activité modulée lors de la tâche. Dans le striatum dorsolatéral, l'activité des MSNs augmentait fortement lors des actions d'initiation et de terminaison d'un essai (initiation locomotrice (Ga/L), fin d'exécution du choix (TS-TE) et réponse (Go) (*Figure 16A*), suggérant une délimitation de séquence d'actions. Ils ont également observé une augmentation de la fraction de MSNs répondant à la tâche au cours de l'apprentissage, suggérant une consolidation de l'engagement du striatum dorsolatéral lorsque l'association était apprise.

Concernant les neurones du striatum dorsomédial, la dynamique d'activation semble différente, marquée par une forte activation des MSNs autour du processus de prise de décision. En phase précoce d'apprentissage, l'activité est augmentée au début de l'exécution de la prise de décision (TS). Lorsque les performances de réponses correctes croissent, l'augmentation de l'activité touche une plus grande fraction de MSNs dès la diffusion du stimulus jusqu'à l'exécution du choix, avant de diminuer rapidement. Puis, une fois le plateau de performance atteint, l'activité des neurones augmente uniquement après la prise de décision lorsque la souris est déjà engagée dans son choix (*Figure 16B*).

Concernant l'activité des PV dans le striatum dorsomédial, Thorn et al. ont montré qu'elle est fortement augmentée après la diffusion du stimulus jusqu'au début de l'exécution du choix (*Figure 16C*). Contrairement aux MSNs dorsomédiaux, la fraction des interneurons actifs semble être stable au cours de l'apprentissage.

Gage et al. (2010) se sont également intéressés au rôle des interneurons PV dans la prise de décision mais ici, dans la région dorsolatérale du striatum. Lors de la tâche de discrimination à 5 choix, ils ont montré une activation de ces interneurons spécifiquement au moment de l'exécution du choix. De plus, ils ont enregistré des paires de MSN-PV pour lesquelles les deux types de neurones enregistrés sur la même tétrode montraient une préférence directionnelle. Les paires MSN-PV ayant toujours des

préférences de direction opposées, suggère alors que les interneurons PV suppriment activement les choix alternatifs via le processus de « feedforward inhibition » des MSNs.

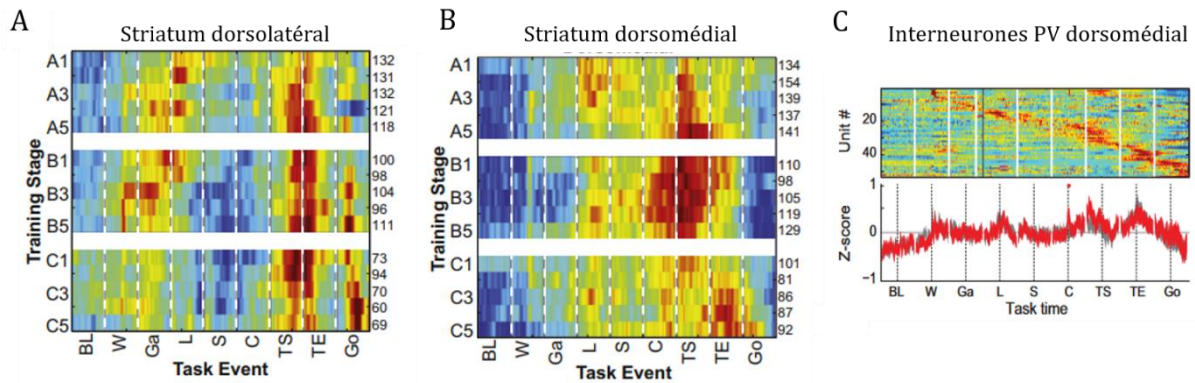


Figure 16. Dynamique différentielle des différentes populations striatales dans le striatum pendant une prise de décision perceptuelle. A, B. Illustration de l'activité normalisée de la population neuronale striatale et des interneurons PV dorsolatéral (A) et dorsomédial (B) au cours d'un essai et des différentes étapes d'apprentissage de la tâche. **C.** Activité normalisée pour chaque unité classée comme interneurone PV dans le striatum dorsomédial (C). La courbe représente l'activité moyenne de tous les interneurons PV en fonction du territoire striatal. BL, Baseline; W, warning click; Ga, gate opening; L, locomotion onset; S, out-of-start; C, cue onset; TS, turn start; TE, turn end; Go, goal-reaching

Une étude récente de Lee et al. (2019) a investigué le rôle des interneurons PV du striatum dorsolatéral lors d'une tâche de prise de décision perceptuelle de type Go/NoGo, impliquant une discrimination de stimulus tactile (*Figure 13A*). Ils ont d'abord montré que les projections corticales du S1 formaient plus de synapses avec les interneurons PV que les MSNs. Puis, ils ont montré par manipulation optogénétique que l'activation de la voie S1-cortico-striatale et l'activation des interneurons PV du striatum sensorimoteur provoquaient une diminution des réponses correctes (dites « hit ») ainsi qu'une

diminution des réponses incorrectes impulsives (dites « false alarm »), indiquant une baisse globale du taux de réponse du rat. Une seconde expérience activant la voie S1-corticostriatale et inhibant simultanément les interneurons PV a montré une restauration des niveaux initiaux du taux de réponse du rat, montrant ainsi le rôle central des interneurons PV dans la régulation de la réponse. Contrairement au S1, le cortex M1 n'a pas de sélection préférentielle entre les interneurons PV et les MSNs dans la formation de synapses. L'activation de la voie M1-corticostriatale à l'inverse du S1 provoque alors une augmentation du taux de réponse chez le rat. Pour conclure, cet ensemble de résultats suggère alors un rôle crucial des interneurons PV dans le contrôle comportemental lors d'une tâche de discrimination tactile via leur activation par le cortex S1, tandis que la réponse est favorisée par activation des MSNs via le cortex M1.

Dans ces trois études, bien que l'activité du striatum soit spécifiquement associée à des événements précis des paradigmes, le design de ces tâches ne permet pas pour autant de délimiter temporellement le processus cognitif de décision. Dans un cas, le stimulus auditif est diffusé jusqu'à ce que le rat donne sa réponse (Thorn et al., 2010, 2014), dans l'autre, le rat doit attendre un stimulus lui indiquant qu'il peut alors donner sa réponse (Gage et al., 2010) et dans la dernière étude, le paradigme ne permet pas de déterminer lorsqu'une décision est prise quand il s'agit des réponses de types NoGo (Lee et al., 2019).

Dans une étude récente, Yartzev et al. (2018) se sont intéressés au processus précis de l'accumulation d'informations lors de la prise de décision perceptuelle. Ils ont étudié ce processus dans le striatum dorsal antérieur (SDA), qui par sa position anatomique est crucial dans le relai des signaux liés à l'accumulation d'informations. En effet, cette région concentre des afférences corticales provenant du PPC et FOF/FEF, liées à ce processus d'accumulation, comme expliqué dans la section précédente (Gold et Shadlen, 2007; Ding et Gold, 2013).

Yartzev et al. (2018) ont enregistré l'activité de neurones uniques du SDA chez le rat lors de la tâche auditive « Poisson-click ». Ils ont montré que l'intégration temporelle de quantiles d'informations sensorielles (chaque clic) provoquait une augmentation croissante de l'activité des neurones striataux à une magnitude fixe (*Figure 17B*). Par

ailleurs, ils ont montré que l'activité de ces neurones était modulée lors de l'initiation d'un mouvement et qu'un tiers de ces neurones répondait de manière côté-dépendante, plusieurs centaines de millisecondes avant l'initiation du mouvement. Ces données suggèrent un rôle du SDA dans la sélection du choix à venir. Ils ont décrit une augmentation croissante de l'activité de ces neurones lors des stimuli associés au côté préférentiel et que cette augmentation était proportionnelle à la cohérence du stimulus (ratio de clics gauche-droite) (*Figure 17A*). Pour tester le rôle causal du SDA dans le processus d'accumulation d'informations, Yartzev et al. ont inhibé cette région par manipulation optogénétique (*Figure 17C*). Les performances des rats ont été altérées uniquement lorsque l'inhibition avait lieu pendant les 500 premières ou 500 dernières millisecondes du stimulus, et non avant la diffusion du stimulus ou au moment du choix (*Figure 1D*). Ces résultats soutiennent le rôle central et causal du striatum dorsal antérieur dans l'accumulation d'informations lors d'une prise de décision perceptuelle.

Il est important de préciser, bien que l'activité de ces neurones semble refléter le taux de diffusion dans l'accumulation d'informations selon le DDM, elle ne semble pas pour autant marquer un arrêt lorsqu'un des deux seuils est atteint, comme le suggère le DDM (Ratcliff et Frank, 2012; Yartzev et al., 2018; Ding et Gold, 2010) et comme observé dans le FEF chez le singe (Ding et Gold, 2012).

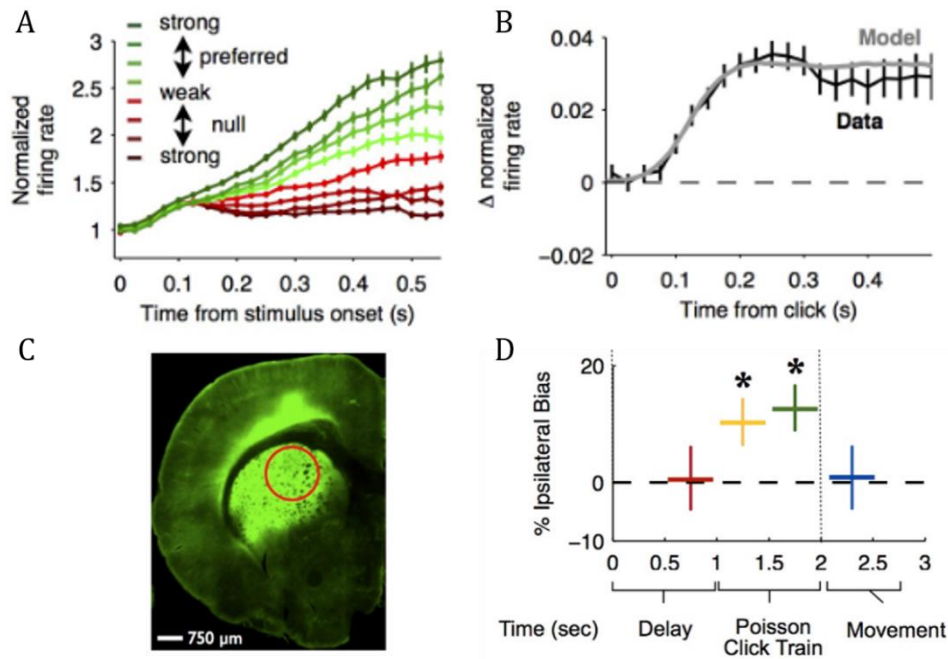


Figure 17. Représentation de l'accumulation d'informations et formation de la décision dans le SDA. **A.** Réponse des neurones striataux pendant la diffusion du stimulus auditif. Les neurones déchargent selon un côté préféré. Les essais sont regroupés en fonction de la force moyenne des stimuli sensoriels, les couleurs plus vertes et plus rouges correspondant aux stimuli dans la direction préférée et non préférée des neurones, respectivement. Chaque groupe d'essais est trié en fonction de la difficulté des essais, de facile à difficile, correspondant à des couleurs plus sombres et plus claires, respectivement. **B.** Réponse neuronale moyenne après chaque clic représentant un quantile d'information. L'activité neuronale enregistrée suit les prédictions théoriques (modèle en gris). **C.** Section coronale de l'hémisphère gauche montrant l'expression virale de l'opsine inhibitrice dans le SDA. Le cercle rouge indique une estimation de la zone inhibée. **D.** Biais comportemental induit par 500 ms d'inhibition pendant la période d'attente (rouge), pendant les 500 premières (jaune) et dernière (vert) ms du stimulus et pendant l'initiation du mouvement de réponse (bleu). Un biais comportemental est observé uniquement lors de l'inhibition du SDA pendant l'exposition au stimulus (Figure adaptée de Yartzev et al., 2018).

En résumé, chez le rongeur, le cortex préfrontal a largement été décrit dans la prise de décision perceptuelle motivée par l'obtention d'une récompense. Les différentes aires corticales traitant différentes modalités de la prise de décision transmettent les informations au striatum associatif via la voie corticosotriatale avant d'aboutir au comportement désiré. Cependant, la compréhension de la régulation et de l'intégration de ces différentes informations par le striatum aboutissant à la sélection du choix ainsi que son exécution n'est pas encore établie. A ce jour, quelques études proposent comme hypothèse un recrutement du striatum dorsomédial lors de ce processus et dont l'activité serait modulée par le réseau d'interneurones PV régulant ainsi le processus de prise de décision. Cependant, la majorité des études étudiant le rôle fonctionnel de ce réseau d'interneurones est réalisée dans le striatum dorsolatéral appuyant la nécessité d'investiguer l'activité fonctionnelle du réseau associatif.

C

HAPITRE 3. LES COMPORTEMENTS RÉPÉTITIFS, CONSÉQUENCES D'UNE DÉRÉGULATION DES BOUCLES CORTICO-BASALES

Dans ce dernier chapitre introductif, nous verrons dans un premier temps comment la dérégulation de certaines fonctions exécutives entraîne la surexpression de comportements répétitifs, symptômes majeurs de certaines maladies neuropsychiatriques. Nous verrons dans un second temps quels sont les circuits associés à ces fonctions exécutives, et notamment leurs dysfonctionnements observés dans les troubles obsessionnels compulsifs et le syndrome de Gilles de la Tourette, pathologies dont les symptômes majeurs sont les comportements répétitifs. Nous aborderons ensuite la pertinence de l'utilisation de modèles animaux dans l'étude de ces maladies neuropsychiatriques. Enfin, j'introduirai la souris *Sapap3-KO*, un modèle sur-exprimant des comportements répétitifs et qui a fait l'objet d'une partie de mes travaux. Je m'intéresserai particulièrement au rôle du réseau d'interneurones striataux dans ces comportements pathologiques.

3.1. D'UN COMPORTEMENT RÉPÉTITIF SAIN À PATHOLOGIQUE

Comme détaillé dans le chapitre 2, la régulation du comportement est essentielle pour l'apprentissage, l'acquisition de nouvelles compétences et l'automatisation cognitive ou motrice. La transition réciproque entre comportement dirigé vers un but et comportement habituel est nécessaire pour pouvoir réévaluer les conséquences d'une action et adapter son comportement dans un environnement ou un contexte différent.

La surexpression inadaptée de comportements répétitifs et l'incapacité de réguler ces comportements représente une des caractéristiques majeures des symptômes observés dans des maladies neuropsychiatriques telles que les troubles obsessionnels compulsifs (TOC), Gilles de la Tourette ou encore l'addiction.

3.1.1. Émergence du caractère répétitif

Les comportements répétitifs pathologiques sont caractérisés par l'expression excessive de comportements exécutés avec rigidité, une absence évidente de fonction et une persévération malgré l'apparition de conséquences négatives (Lewis et Kim, 2009). Bien qu'ils soient retrouvés dans plusieurs troubles, on distingue différents types de comportements répétitifs selon leur schéma d'expression, plus ou moins étroitement associés à une maladie en particulier. Par exemple, les stéréotypies sont caractéristiques du trouble du spectre autistique, les tics sont retrouvés dans le syndrome de Gilles de la Tourette, ou encore les compulsions présentes dans le TOC ou l'addiction (Stein et al., 2019; Zinner et Mink, 2010). Ces troubles sont souvent comorbides, partagent une même phénoménologie, suggérant que leur étiologie partage des voies pathophysiologiques communes. Dans ce chapitre, nous porterons notre attention sur les tics et les compulsions, symptômes étudiés dans mes travaux de thèse.

1) Les tics

Les tics sont décrits comme des mouvements moteurs exprimés de manière répétée, rapide et intrusive. Ils sont dits « simples » lorsqu'ils surviennent de manière brève et isolée. À l'inverse, les tics dits « complexes » impliquent un ensemble de groupes musculaires et peuvent également se manifester sous forme de vocalisation, que ce soit par des bruits, des mots ou des phrases (Zinner et Mink, 2010). Les tics sont souvent qualifiés comme un « besoin urgent » d'agir. Lorsqu'ils sont retenus, il s'en suit alors un effet rebond augmentant l'intensité des tics.

Les tics représentent le symptôme principal du syndrome de Gilles de la Tourette. Ce trouble neurodéveloppemental affecte entre 0,4 et 1% de la population générale (Robertson et al., 2017). L'âge moyen d'apparition des symptômes est généralement situé entre 4 et 7 ans. Cependant, l'apparition peut être plus tardive (âge adulte), conduisant dans ce cas aux formes les plus sévères (Bloch and Leckman, 2009; Lekman 2002). En général, les tics sont intensifiés par des facteurs tels que l'anxiété, la fatigue, la colère ou l'excitation, tandis que la concentration et l'effort fournis dans une tâche participent à leur réduction (Lombroso et al., 1991; Conelea et Woods, 2008).

En plus des comportements répétitifs, les patients présentent d'autres symptômes moteurs ou cognitifs comme des difficultés à l'exécution de mouvements moteurs précis ainsi que le contrôle de l'inhibition motrice (Crawford et al., 2005; Müller et al., 2003). Une étude montre également une altération de l'apprentissage automatique (Marsh et al., 2004). Les auteurs de cette étude proposent que les tics correspondent à des fragments de comportements moteurs normaux que les patients seraient incapables de concaténer. A ce jour, les thérapies cognitives comportementales sont souvent proposées en première ligne. Une des plus indiquées (« Comprehensive behavioral interventions for tics », CBIT en anglais) consiste à entraîner le patient à inhiber les tics via des comportements compétiteurs lorsqu'il ressent un besoin anticipatoire prédicteur du tic. Ces thérapies peuvent être accompagnées par des traitements pharmacologiques tels que des agonistes α -adrénergiques, des anti-épileptiques ou des anti-psychotiques, en fonction des comorbidités du patient ou des effets secondaires tolérés. Enfin, il existe d'autres types de traitements comme la stimulation magnétique transcraniale répétée (rTMS), la stimulation transcraniale par courant direct (tDCS) ou encore la stimulation cérébrale profonde (DBS). Ces traitements sont plus ou moins invasifs, la plupart du temps contraignants et ne sont pas accessibles à tous (Chadhumbe et Brown, 2019).

2) Les compulsions

Les compulsions sont définies comme des comportements répétitifs surexprimés qui persistent de manière inadaptée à la situation malgré les conséquences négatives qui en résultent (Dalley et al., 2011). Les compulsions sont exprimées sous forme de séquences

ou rituels moteurs, vocaux ou mentaux, de manière rigide et dans le but souvent de soulager un état d'anxiété. Les compulsions sont très souvent étudiées dans le cadre des troubles obsessionnels compulsifs (TOC). Les obsessions représentent le second versant symptomatique de cette maladie. Elles sont définies comme des pensées, des images, ou des impulsions indésirables, intrusives et répétées. Les compulsions et obsessions sont souvent exprimées en réponse à des stimuli internes et externes (Robbins et al., 2019) comme par exemple la perception de saleté sur les mains entraînant un lavage compulsif de celles-ci. Une hypothèse suggère que ces compulsions sont nourries par le manque de confiance du sujet sur sa perception, sa mémoire et son attention (Hermans et al., 2008). Cette incertitude se répercuterait alors sur les processus de prise de décision. En effet, des études ont montré une altération de l'accumulation de l'information dans des tâches de « Random Dots Motion Task ». Ces altérations sont traduites par une augmentation du temps de réaction des patients TOC par rapport aux sujets sains et sont d'autant plus accentuées lorsque l'incohérence du stimulus est plus haute, augmentant l'incertitude du sujet (Banca et al., 2015; Marton et al., 2019).

L'âge d'apparition de cette maladie est, comme les tics, bimodal. Il peut être précoce (11 ans en moyenne) ou tardive (23 ans en moyenne), suggérant l'implication de facteurs biologiques et étiologiques différents. Généralement, l'apparition précoce est plus sévère, familiale, prédominante chez les hommes et comorbide à d'autres symptômes tels que les tics (Taylor 2011). Parmi la population développant des TOC précoces, l'héritabilité de ce trouble, c'est-à-dire sa composante génétique, est de 45 à 65%, tandis qu'elle diminue de 27 à 47% parmi la population développant des TOC tardifs (van Grootheest et al., 2005). Le DMS-V classe les patients TOC dans la catégorie des « Obsessive-compulsive and related disorders », ce qui inclue également les troubles d'accumulation ou la trichotillomanie. Bien que ces troubles partagent des symptômes en commun, il n'est pas clair si cette compulsivité reflète une anomalie comportementale commune associée à un circuit neuronal spécifique.

Aujourd'hui les traitements de premières intentions sont les thérapies cognitives comportementales. Ces thérapies consistent à exposer graduellement les patients aux stimuli provoquant les compulsions tout en leur demandant de réfréner leurs compulsions. Ces thérapies ont pour but d'atténuer l'association renforcée et surexprimée de « stimulus-réponse » par un processus d'extinction. Ces thérapies sont accompagnées

de traitements pharmacologiques de type inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS). Pour les cas les plus sévères, des traitements chirurgicaux lésionnels (capsule interne) et de neuromodulation par stimulation cérébrale profonde du STN antérieur ventral (Mallet et al., 2008), du striatum ventral (Sturm et al., 2003), et du noyau caudé ventral (Alonso et al., 2015) ont montré des résultats probants mais restent rarement indiqués.

Que ce soit dans le cas des patients TOC ou des patients TS, les traitements comportementaux ou pharmacologiques actuels ne sont pas efficaces à 100%. Environ 20% des patients TS sont résistants aux traitements tandis que cette proportion augmente jusqu'à 30% chez les patients TOC (Bloch et Leckman, 2009; Haynes et Mallet, 2010). De plus, ces troubles sont souvent comorbides à d'autres maladies impliquant plusieurs circuits et plusieurs systèmes de neurotransmetteurs. Cette complexité d'interaction contribue au manque de cible spécifique pour le développement de traitements plus efficaces, d'où le besoin d'une meilleure compréhension de la pathophysiologie des différents symptômes.

3.1.2. Tic et toc, une étiologie et pathologie partagée ?

Plusieurs arguments indiquent que les troubles obsessionnels compulsifs et le syndrome de Gilles de la Tourette partagent des bases neuronales et une étiologie commune. Tout d'abord ces maladies partagent des symptômes communs tels que la surexpression de comportements répétés. Bien que ces comportements se distinguent par leur pattern d'expression, la classification peut parfois être arbitraire. En effet, il existe un chevauchement phénoménologique entre certains tics moteurs complexes et des compulsions dites « tics-like » comme des clignements d'yeux ou touchés répétés. Ce qui semble les différencier est l'absence de but précis dans l'exécution de ce comportement chez les TS. Cependant, cette classification montre aussi ses faiblesses car d'une part, l'exécution de compulsions sans objectif défini a également été décrite chez des patients TOC qui auraient automatisé des compulsions autrefois soulageant des obsessions.

D'autre part, des tics peuvent parfois se transformer en compulsions si une raison est donnée à cette exécution (Goodman et al., 2006).

Un autre faisceau d'arguments s'appuie sur la comorbidité de ces deux maladies. Environ 50% des patients TS développent des troubles obsessionnels compulsifs dans les années suivant l'apparition des tics. Le taux de co-occurrence de ces maladies est alors bien au-dessus de la chance (Goodman et al., 2006; Worbe et al., 2015). Il est intéressant de noter que des catégories de compulsions communes sont souvent retrouvées chez les TS et les TOC : les compulsions de comptage, rangement, toucher et de symétrie ; tandis que les obsessions et compulsions liées à la contamination sont peu retrouvées chez les TS (Leckman et al., 1994).

Une hypothèse serait que les patients TOC comorbides aux patients TS représentent un sous-type neurobiologique des patients TOC, avec une étiologie différente de la majorité des patients TOC. Ceux-ci conservent tout de même des voies pathophysiologiques finales communes, donnant naissance à des phénotypes cliniques similaires (Goodman et al., 2006).

Enfin, de nombreuses études montrent des anomalies anatomiques et fonctionnelles dans les ganglions de la base ainsi que leurs afférences corticales associées (Menzies et al., 2008; Tremblay et al., 2015), provoquant l'expression des différents types de comportements répétitifs.

3.1.3. Corrélats anatomiques des comportements répétés pathologiques

Afin de mieux cibler et de mieux traiter les troubles des comportements répétitifs, il est important d'obtenir une compréhension claire des circuits neuronaux impliqués et plus spécifiquement de comprendre la contribution de chaque circuit dans les composantes conduisant à l'apparition de ces symptômes. Les études scientifiques ont jusqu'alors suggéré que des altérations des boucles cortico-striato-thalamo-corticales seraient centrales à la pathophysiologie des TOC (Menzie et al., 2008). Des études volumétriques et fonctionnelles ont permis de mettre en évidence des altérations anatomiques et de connectivité chez les patients TOC ou TS. Ces études effectuées sur des patients au repos, lors de provocation de symptômes ou lors de tâches cognitives mettent en exergue les

caractéristiques cognitives des comportements répétitifs associées aux différentes boucles fonctionnelles des BG.

1) Altération de la boucle cortico-striatale limbique

L'altération de la boucle cortico-striatale limbique a été mise en évidence chez les patients TOC. Au niveau cortical, le cortex antérieur cingulaire, qui projette massivement vers le striatum ventrale (NAc), a un volume réduit chez les patients par rapport aux sujets contrôles (Kühn et al., 2013). Une étude a montré par IRM fonctionnelle une augmentation de la connectivité entre le striatum ventral et l'OFC médial au repos, cette connectivité fonctionnelle semble être prédictive de la sévérité de la maladie (Harrison et al., 2009). Cette hyperconnectivité a aussi été montrée lors de la provocation des symptômes (Anticevic et al., 2014) et lors de tâches de « monetary incentive delay », une tâche permettant de disséquer le calcul de la valeur attendue (motivation), versus la valeur ressentie (plaisir lié à la récompense) (Beucke et al., 2012). La boucle cortico-striatale limbique est connue pour régir des processus d'ordre motivationnel et émotionnel, des composantes essentielles à la planification d'action et à l'apprentissage, altérées chez les patients TOC.

2) Altération de la boucle cortico-striatale associative

L'OFC latéral, le PFC latéral et le cortex pariétal sont des régions corticales associatives hypoactives chez les patients TOC lors d'une tâche d'apprentissage inversée (S. R. Chamberlain et al. 2008). Une autre étude testant la flexibilité cognitive chez les patients TOC montre une diminution de la connectivité entre le PFC ventrolatéral et le noyau caudé. De la même manière, il semblerait que la circuiterie cortico-striatale associative soit affectée dans cette pathologie. Effectivement, une baisse de connectivité a été observée entre le PFC dorsolatéral et le putamen lors d'une tâche testant la planification dirigée vers un but (Vaghi et al., 2017). Enfin, une suractivité de l'OFC latéral a été mesurée lors de la provocation des symptômes, qui est toutefois normalisée au cours d'une thérapie comportementale (Morgiève et al., 2014). Cette circuiterie permet la réalisation d'actions

dirigées vers un but mais permet aussi l'adaptation de son comportement face à un environnement volatil.

3) Altération de la boucle cortico-striatale sensorimotrice

Concernant les patients TS, les études de neuroimagerie portant sur le substrat anatomique des tics ont montré une convergence générale entre les anomalies structurelles et fonctionnelles des circuits cortico-basaux moteurs et l'apparition des tics. Plus spécifiquement, elles montrent une diminution de l'épaisseur du cortex sensorimoteur (cortex prémoteur primaire, cortex prémoteur et cortex pariétal) ainsi qu'une augmentation de la connectivité structurelle entre le cortex sensorimoteur et les GB (Sowell et al., 2008; Worbe et al., 2010).

L'inhibition des tics est considérée comme un processus actif apparenté à la suppression d'actions volontaires. Une étude a montré une augmentation de l'activité frontale de zones associatives lorsqu'il était demandé à des patients TS d'inhiber volontairement leurs tics, suggérant une compensation de la baisse d'activité observée dans certaines zones frontales au repos (Mazzone et al., 2010).

3.1.4. Corrélats cellulaires striataux des comportements répétés pathologiques

Dans le but de mieux comprendre les anomalies d'activité observées dans les troubles des comportements répétitifs, des études post-mortem sur des tissus de patients TS ont été réalisées. En effet, une hypothèse soutenue par Kataoka et al. (2010) suggère que ces altérations d'activité trouvent leur origine dans un défaut de régulation de l'activité striatale exercée par les interneurons striataux. Comme vu dans le chapitre « 1.2.1 La micro-circuiterie striatale », les interneurons striataux sont activés par des projections corticales et modulent en retour l'activité des MSNs. Une diminution d'inhibition striatale par ces interneurons entraînerait alors un manque de régulation des comportements moteurs ou cognitifs, selon la région striatale affectée.

Les études histologiques de patients TS ont permis de montrer une diminution de la densité des interneurons striataux PV et ChAT. Plus exactement une diminution de 55,7% des interneurons PV a été observée dans le striatum, sans distinction entre les différentes sous-régions striatales. A l'inverse, une augmentation de la densité des interneurons PV a été observée dans le GPi des patients TS.

Concernant les interneurons ChAT, une réduction de 49,4% a été observée dans le striatum associatif et sensorimoteur, mais aucune réduction n'a été rapportée dans le striatum limbique.

En revanche, aucune différence de densité n'a été observée pour les interneurons calrétinine et les MSNs striataux (Kalanithi et al., 2005; Kataoka et al., 2010). A ce jour, aucune étude post mortem estimant les densités des interneurons striataux chez les patients TOC n'a été réalisée.

En résumé, la diversité des aires corticales et striatales mise en évidence chez les patients TOC et TS par neuroimagerie fonctionnelle reflète l'hétérogénéité des symptômes cliniques observés. Plusieurs hypothèses basées sur ces résultats comportementaux et fonctionnels tentent d'expliquer l'émergence des comportements répétitifs chez ces patients. L'inflexibilité cognitive comme la vulnérabilité émotionnelle favorisent un déficit du contrôle de l'action dirigée vers un but en faveur d'une expression excessive de comportements répétitifs. L'incertitude des patients TOC liée à leur état interne (mémoire, attention) et aux états externes (perception) semble impacter les prises d'information et favoriser le développement de compulsions. Ces différentes hypothèses mettent en jeu la nécessité de réguler la prise d'information et de réguler l'action qui en découle, des processus impliquant les boucles corticostriatales associatives (striatum dorsomédial) et limbiques (striatum ventral).

Chez les patients TS, ces études ont permis de faire émerger un consensus quant à la suractivité des voies motrices des GB comme substrat des tics. Cependant la présence de tics complexes associés à une altération des boucles plus associatives nous rappellent la convergence de symptomatologie entre les différentes maladies.

Ces études de neuroimagerie fournissent de précieux liens entre anatomie et comportement. Cependant, cette limitation corrélationnelle laisse de nombreuses questions sans réponse : pourquoi certains comportements pathologiques se cristallisent chez certains individus et pourquoi s'expriment-ils de manière si variée ? Les altérations d'activité neuronale observées chez ces patients sont-elles une cause ou une conséquence du caractère pathologique de ces comportements ? Quels sont les mécanismes cellulaires dysfonctionnels à l'origine de ces activités anormales au sein des GB ? La combinaison d'études en neuroimagerie et l'utilisation de modèles animaux permet d'explorer des hypothèses de manière causale et à échelle cellulaire pour répondre à ces questions et fournir des éléments mécanistiques sur la genèse et la régulation de ces comportements répétitifs pathologiques.

3.2. UTILISATION DE MODÈLES ANIMAUX POUR L'ÉTUDE DE MALADIES NEUROPSYCHIATRIQUES

L'utilisation de modèles animaux a démontré l'implication des ganglions de la base dans les comportements répétitifs pathologiques, au niveau de la circuiterie neuronale (Ahmari et al., 2013; Burguiere et al., 2013; Welch et al., 2008) et cellulaire (Xu et al., 2016; Xu et al., 2015; Martos et al., 2017). Ces progrès vont de pair avec le développement de nouvelles thérapies permettant de cibler spécifiquement les voies affectées dans ces maladies. Cependant, aujourd'hui encore, entre 20 et 30% des patients TOC et TS sont résistants aux traitements conventionnels (Bloch et Leckman, 2009; Haynes et Mallet, 2010), justifiant la nécessité de poursuivre les recherches dans ce domaine.

3.2.1. Développement de modèles animaux en neuropsychiatrie

Le développement de nouvelles techniques permet de mieux disséquer les voies anatomo-fonctionnelles et les acteurs intervenants dans la mise en place de comportements pathologiques. Les progrès technologiques ont permis l'utilisation de modèles animaux génétiquement modifiés, qui permettent de se rapprocher de l'étiologie génétique d'un symptôme, mais aussi d'étudier le rôle d'une population neuronale spécifique. De récentes techniques comme l'imagerie spatio-temporelle *in vivo* de populations neuronales profondes, ou encore l'utilisation d'outils optogénétiques pour modifier l'activité neuronale, permettent de renforcer la causalité entre l'activité des circuits étudiés et les comportements pathologiques observés.

1) Défis de modélisation des traits neuropsychiatriques

L'utilisation de modèles animaux pour l'étude de maladies neuropsychiatriques soulève cependant plusieurs interrogations. En effet, le diagnostic de ces maladies repose en partie sur le rapport personnel subjectif du patient. C'est particulièrement vrai pour les

obsessions décrites dans les TOC et qui ne peuvent évidemment pas être rapportées par un modèle animal, omettant alors une partie de la symptomatologie clinique. D'autre part, certains symptômes chez la souris peuvent être confondus, bien qu'il s'agisse d'entités cliniques différentes. C'est par exemple le cas entre les stéréotypies et les tics, deux types de comportements répétitifs qui peuvent être distingués par un besoin anticipatoire (« premonitory urge » en anglais), caractéristique des tics, et, encore une fois, décrit par le rapport subjectif du patient.

Enfin, les maladies neuropsychiatriques sont très souvent multifactorielles. Il existe des susceptibilités génétiques (mis en évidence par GWAS et twins studies) qui, généralement, se traduisent par des changements neurologiques structurels et fonctionnels. Les facteurs de risques environnementaux comme les facteurs neuroendocrines, les maladies auto-immunes ou des situations psychosociales, impactent également la survenue de ces troubles souvent de manière synergique à la vulnérabilité génétique, ce qui constitue un défi supplémentaire de modélisation.

C'est pourquoi il est important de comprendre précisément la construction du modèle et d'en connaître ses limitations afin d'éviter toute surinterprétation.

2) Les critères de validité

Afin de caractériser au mieux la validité du modèle animal, trois propriétés sont prises en compte : 1) la validité conceptuelle, cela correspond au développement du modèle basé sur l'hypothèse pathophysiologique de la maladie, 2) la validité apparente, correspondant à l'apparenté des symptômes exprimés chez le modèle animal et le patient et enfin 3) la validité prédictive, cela correspond à la capacité du modèle à répondre à un traitement similaire aux patients. La modélisation des maladies neuropsychiatriques est un défi en partie dû à la diversité des symptômes au sein d'une même maladie (par exemple les symptômes dit positifs versus négatifs dans la schizophrénie, ou encore la diversité du type de compulsions chez les patients TOC (contamination versus symétrie)). Une nouvelle approche de recherche en neuropsychiatrie voudrait considérer l'étude de domaine contribuant à l'apparition de symptômes retrouvés dans différents troubles plutôt que l'étude d'une pathologie caractérisée par l'ensemble de ses symptômes (Insel et al., 2010).

3) Approche de modélisation

Il existe plusieurs approches permettant de mimer l'origine pathologique ou les symptômes cliniques d'une maladie. Cela peut être effectué par protocole comportemental, par manipulation pharmacologique, ou par manipulation génétique. Nous allons voir ici les avantages et limites des différentes approches afin d'obtenir un modèle animal.

Approche Comportementale

Chez le rongeur, il est possible de provoquer un phénotype comportemental s'apparentant à des compulsions en exposant l'animal à un contexte environnemental particulier. C'est le cas par exemple du protocole de SIP : Schedule-Induced Polydipsia, développé par Falk (1961). Après avoir exposés des rats à un protocole de renforcement alimentaire intermittent, avec à disposition un biberon d'eau, ces derniers ont consommé beaucoup plus d'eau durant l'attente de l'obtention de nourriture. Ce protocole induit chez la souris des comportements répétés et persistants. L'utilisation de ce genre de modèle est intéressante car ils sont faciles à mettre en place et peu coûteux, et sont en outre transposables à l'Homme (Brown 1992). Cependant, ils fournissent une information pathophysiologique limitée de la maladie.

Approche Pharmacologique

L'administration répétée de quinpirole (agoniste des récepteurs D₂ et D₃ à la dopamine) provoque chez le rat un comportement compulsif de vérification. Cela est traduit par une préoccupation exagérée d'un lieu précis dans son environnement (Dvorkin et al., 2006). La provocation de symptômes par agent pharmacologique a permis par la suite de disséquer des circuits neuronaux dans l'émergence de ces compulsions. Par exemple, Sun et al. (2019) ont montré que la manipulation optogénétique ou chémogénétique de la voie entre l'amygdale basolatérale et le PFC médial restaure le comportement compulsif chez le rat.

Approche Génétique

Les progrès en ingénierie génétique ont permis le développement de nombreux modèles animaux par le biais d'expression d'opsines, de chémorécepteurs, de protéines

recombinantes, ou par la délétion de gènes spécifiques, dans des populations neuronales d'intérêt. En effet, il existe de nombreux modèles reproduisant les symptômes d'une pathologie à la suite de la délétion d'un gène. Dans ce contexte, il est important de se rapprocher le plus possible de l'étiologie génétique de l'homme avant de pouvoir investiguer quelles pourraient être les causes des symptômes observés, au niveau cellulaire, moléculaire et de la circuiterie. C'est pourquoi ces modèles reposent souvent sur les résultats d'études génétiques menées à très grande échelle sur une population de patients identifiant des gènes candidats.

Par exemple, des variants dans le gène *Slitrk1* ont été identifiés chez des patients TS et associés à une perte de fonction dans le soutien de la croissance dendritique pendant le développement de nombreux composants du circuit cortico-striato-thalamo-cortical (Abelson et al., 2005). Pour étudier le rôle que pourrait avoir cette protéine dans la pathophysiologie du TS, une souris KO pour ce gène a été développée. Cette souris montre des niveaux élevés de norépinephrine et d'anxiété associée, symptôme soulagé par administration d'agoniste α -adrénergique, traitement typique des patients TS.

En 2008, Welch et al. observent chez un modèle de souris knockout pour le gène de la protéine SAPAP3, des niveaux de toilettage anormalement élevés. Cette protéine d'échafaudage est localisée dans les neurones postsynaptiques des synapses excitatrices et est particulièrement enrichie dans le striatum de la souris. Welch et al. (2008) montrent alors une altération de la voie corticostriatale chez ces souris proposant cette altération comme validité conceptuelle du modèle suggérant la souris *Sapap3*-KO comme modèle des comportements compulsifs.

A la suite de cette découverte, deux études d'association pangénomiques (« Genetic Wide Association Study » (GWAS) en anglais) ont été réalisées dans le but d'identifier des gènes associés à la pathologie des TOC (Stewart et al., 2013; Mattheisen et al., 2015). Les résultats de cette étude montrent l'implication de 2 variants localisés dans le gène *Dlgap1* codant pour la protéine SAPAP1, isoforme de la famille de la protéine SAPAP3.

Ce modèle de souris *Sapap3*-KO est depuis largement utilisé dans l'étude des comportements répétitifs et fera l'objet de la section suivante (3.2.3. La souris *Sapap3*-KO : définition). Suite à la validation de ce modèle animal comme surexpression de comportements répétitifs, Zuchner et al. (2006) ont mené une étude montrant le rôle de

la protéine SAPAP3 dans la trichotillomanie chez l'homme. Cet exemple ici montre bien l'enrichissement réciproque des découvertes entre Homme et souris.

Les maladies neuropsychiatriques sont bien souvent multifactorielles, avec une composante génétique et environnementale importantes. On peut alors se demander dans quelle mesure une maladie repose exclusivement sur l'altération d'un locus génétique, comme c'est le cas dans ces modèles animaux. Il peut alors être intéressant de se focaliser sur l'étude de la manifestation d'un symptôme en particulier, qui peut être présent dans plusieurs maladies neuropsychiatriques plutôt que de chercher à reproduire une maladie dans son entièreté.

Approche Anatomo-fonctionnelle

Grâce au développement de lignées de souris transgéniques et aux développements technologiques comme l'optogénétique, plusieurs études ont transposé les résultats obtenus en neuroimagerie des patients TOC et TS dans la souris. Les altérations de connectivité fonctionnelle décelées entre deux régions corticostriatales sont reproduites chez la souris en modifiant l'activité de ces voies. C'est le cas par exemple de l'étude menée par Ahmari et al. (2013) qui, par activation optogénétique répétée de la voie corticostriatale allant de l'OFC médial au striatum ventromédial, a induit une augmentation progressive du toilettage chez des souris. Ce phénotype est accompagné d'une augmentation progressive de l'activité striatale associée à une surexpression de toilettage, tous deux restaurés suite à l'administration de fluoxétine. Ces modèles animaux permettent de tester causalement des observations corrélationnelles entre l'anatomie et les symptômes chez l'Homme. Cela permet aussi d'étudier les possibles conséquences neurobiologiques engendrées par ces altérations au niveau du circuit, comme la plasticité cérébrale.

Approche cellulaire

Suite aux résultats de l'étude de Kataoka et al. (2010) montrant une diminution des interneurons ChAT et PV dans le striatum, plusieurs modèles animaux ont émergé, fondés sur l'altération des interneurons striataux. Xu et al. (2015) ont réalisé une ablation des interneurons ChAT dans le striatum dorsomédial ou dorsolatéral par

délétion induite après recombinaison avec la protéine Cre recombinase. La diminution d'interneurones ChAT dans le striatum dorsolatéral a provoqué une augmentation de l'initiation au toilettage chez la souris quand celle-ci était exposée à des facteurs stressants. Ce symptôme n'a pas été observé lorsque l'ablation des interneurones ChAT était faite dans le striatum dorsomédial. Par ailleurs, les performances motrices des souris lésées sont restées inchangées. Par la suite, Xu et al. (2016) ont répété cette expérience en procédant cette fois à une ablation des interneurones PV dans tout le striatum dorsal. De la même manière que dans l'étude précédente, les souris ont présenté une augmentation de l'initiation au toilettage à la suite de situations stressantes. Ces souris avaient également un niveau d'anxiété élevé par rapport aux souris contrôles, et ne présentaient pas de déficit moteur.

Bien que ces études ne reflètent pas l'entière de la nosologie clinique ni le caractère neurodéveloppemental TS, elles permettent de montrer la suffisance du déficit des interneurones ChAT ou PV pour provoquer des symptômes similaires.

Une étude s'est intéressée cette fois à l'émergence de comportement sociaux compulsifs après ablation d'environ 75% des interneurones ChAT striataux. Les niveaux de toilettage spontané étaient similaires entre les souris après lésion et les souris contrôles, tout comme les niveaux d'anxiété. Cependant les souris avec lésion ont montré une augmentation du nombre de contacts sociaux dans le test d'interaction sociale « three-chamber », une tâche permettant d'évaluer la préférence d'un individu à explorer un nouveau congénère plutôt qu'un objet. L'activité sociale soutenue observée chez les souris avec lésion se manifestait sous la forme d'une séquence très structurée de réexploration répétitive des souris. Cette étude suggère que ces symptômes reflètent certains aspects de la vie sociale altérée des patients comme le besoin exacerbé de vérification observé chez les patients TOC ou encore des comportements de désinhibition sociale dans certaines formes de TS (Martos et al., 2017).

3.2.2. Le toilettage excessif comme indicateur du comportement compulsif

Les comportements répétitifs habituels s'expriment de manière séquentielle et automatisée et pour lesquels l'exécution ne requiert aucun contrôle ni effort cognitif. Le toilettage chez la souris est utilisé comme marqueur de comportements compulsifs (Welch et al., 2008; Xu et al., 2015, 2016; Martos et al., 2017; Lamothe et al., 2021, bioRxiv). Son utilisation en tant que telle a permis des avancées sur la compréhension des bases pathophysiologiques et de l'émergence de comportements répétitifs dans les maladies neuropsychiatriques telles que le TOC (Burguière et al., 2013; Ahmari et al., 2013).

Chez la souris, le toilettage est également organisé sous forme de séquence fonctionnelle qui peuvent conduire à des lésions lorsqu'elles sont surexprimées dans des formes pathologiques (*Figure 18*). De plus, ces comportements semblent reposer sur des bases neurobiologiques communes à l'apprentissage automatisé d'actions, à savoir les boucles fonctionnelles des ganglions de la base (Kalueff et al. 2016).

Le toilettage est un comportement inné chez la souris. Il remplit plusieurs fonctions telles que le maintien de l'hygiène, la cicatrisation de plaie, la thermorégulation ou encore la communication sociale. Le toilettage peut être orienté vers les autres individus (hétéro-toilettage), ou orienté vers soi-même (homo-toilettage ou auto-toilettage). L'auto-toilettage présente un niveau élevé de complexité comportementale et d'organisation : une série de mouvements individuels forment une séquence fonctionnelle fortement stéréotypée décrite comme une chaîne syntaxique. Cette séquence est organisée de manière céphalo-caudale avec une première phase consistant au nettoyage des pattes puis du nez par des mouvements elliptiques effectués près du nez. La deuxième phase consiste au nettoyage du visage dans sa globalité via des coups de pattes unilatéraux depuis les vibrisses jusqu'en dessous des yeux. La troisième phase correspond au nettoyage de la tête par des mouvements circulaires des pattes de manière bilatérale vers l'arrière et vers le haut. Et enfin, la dernière phase consiste au léchage du corps dans son intégralité. Il est important de noter que, dans des conditions non pathologiques, seul 10 à 15% du temps passé au toilettage suit de manière stricte cette séquence, tandis que le reste du toilettage s'effectue de manière plus flexible. Toutefois, ces séquences sont

également significativement altérées ou interrompues si les souris sont soumises à des facteurs stressants (Kalueff et al., 2016).

Les circuits neuronaux qui sous-tendent le toilettage chez la souris impliquent les voies anatomo-fonctionnelles des GB. En effet, des lésions du striatum antérieur dorsolatéral provoquent l'incapacité de la souris à compléter intégralement la séquence de toilettage décrite par Kalueff et al., mais n'altèrent pas pour autant la capacité de la souris à initier l'action (Cromwell et Berridge, 1996). De plus, les neurones striataux dorsolatéraux sont actifs durant l'exécution de la séquence de toilettage mais sont inactifs lorsque les mêmes mouvements sont effectués en dehors d'une chaîne syntaxique. Ceci montre le rôle du striatum dans l'exécution et la concaténation d'actions sous forme de séquence jusqu'à l'automatisation du comportement (Aldridge et al., 2004).

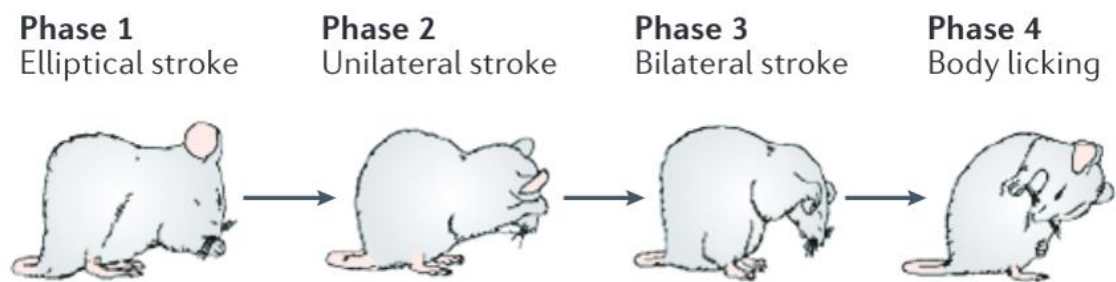


Figure 18. Chaîne syntaxique de l'auto-toilettage chez la souris. 10 à 15% du toilettage de la souris est organisée de manière séquentielle et céphalo-caudale. Ce comportement hautement répétitif met en jeu les boucles cortico-basales. (Figure Kalueff et al., 2016).

Les caractéristiques séquentielles, rituelles et répétées du toilettage chez la souris, de surcroît régis par les boucles des ganglions de la base, expliquent que ce comportement inné est, à ce jour, un des meilleurs analogues de comportements compulsifs observés chez l'Homme.

3.2.3. La souris *Sapap3-KO* : définition

1) La protéine d'échafaudage SAPAP3

Les protéines Sapap pour « SAP90/PSD95-associated protein » sont des protéines dites d'échafaudages (« scaffold protein en anglais) postsynaptiques localisées aux synapses excitatrices exclusivement. Elles interagissent avec d'autres protéines d'échafaudages (PSD95 et Shank) pour former un complexe protéique soutenant et adressant les récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA à la membrane postsynaptique (*Figure 19*). Ayant une fonction de support, elles déterminent également la structure et la plasticité de la synapse. Ces protéines de soutien sont fortement régulées en termes de synthèse et dégradation (Kim et Scheng, 2004). Ils existent plusieurs polymorphes de ces protéines Sapap distribués à travers le cerveau, mais la protéine SAPAP3 est l'unique forme qui s'exprime fortement dans le striatum (Welch et al., 2004) (*Figure 20A*). La délétion de cette protéine entraîne alors un défaut de transmission synaptique des projections excitatrices corticostriatales mimant les altérations de connectivité fonctionnelle corticostriatale observées chez les patients TOC, faisant de la souris *Sapap3-KO* un modèle avec une bonne validité conceptuelle animale (Welch et al., 2008; Vaghi et al., 2017) (*Figure 20B*).

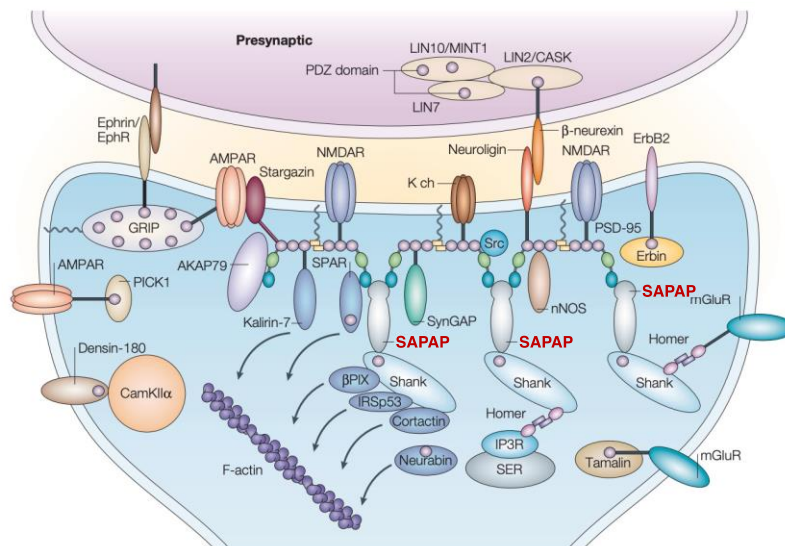


Figure 19. Schéma organisationnel des protéines d'échafaudages à une synapse excitatrice. La protéine SAPAP forme un complexe protéique avec d'autres protéines d'échafaudages. Ces complexes adressent et soutiennent les récepteurs au glutamate de

type AMPA et NMDA à la membrane synaptique permettant une bonne transmission du signal (Figure adaptée de Kim et Sheng, 2004)

2) Dérégulation des comportements répétés

Pour la première fois, Welch et al. montrent alors que la délétion complète de cette protéine chez la souris entraîne un phénotype s'apparentant à des compulsions. En effet, ces souris s'engagent dans de l'auto-toilettage de manière excessive. Cela se traduit par une augmentation drastique de la fréquence de séance de toilettage et ce malgré l'apparition de conséquences négatives caractéristique des comportements compulsifs telles que des lésions cutanées (*Figure 20C, D*). En effet, des lésions sur la tête, le cou et le flanc sont observées à partir de l'âge de 5-6 mois. Ces lésions ne sont par ailleurs pas causées par des processus d'inflammation ou des défauts périphériques cutanés mais par la répétition excessive de ces comportements compulsifs (Welch et al., 2008). Une étude affirme que le développement des symptômes de toilettage se manifeste à partir de l'âge de 4-5 mois environ. Ce symptôme s'aggrave avec l'âge chez environ 50% des souris, sous-groupe caractérisé également par le développement de lésions (Manning et al., 2021). Les travaux de Hadjas et al., (2021) montrent à l'inverse une absence de corrélation entre la sévérité des symptômes et l'âge. Cependant, l'âge maximale des souris dans cette étude n'atteint pas l'âge où les lésions sont observées dans l'étude de Manning et al., (2021).

Ce phénotype est accompagné de niveaux anormalement élevés d'anxiété comparé aux souris contrôles lorsqu'elles sont testées dans des paradigmes tels que le « zero maze », « open field » ou le « dark-light emergence test » (*Figure 20E*). Depuis, de nombreux travaux sur ce modèle animal ont montré la présence de symptômes divers. Une étude récente menée dans notre équipe a montré par une analyse plus fine du comportement de ces souris, qu'en plus de présenter une augmentation de la fréquence de toilettage, la séquence de toilettage était désorganisée et ne suivait pas le pattern classique décrit par Kalueff et al. (2016). Cette étude montre également une forte augmentation de la durée et du nombre d'engagements de grattage par la souris. Ce comportement effectué avec les pattes arrières est distinct du toilettage syntactique et semble être la première cause des lésions observées. Des travaux au sein de notre équipe pour lesquels j'ai participé ont pour la première fois mis en évidence des mouvements moteurs (élongation des membres

et/ou torsion du cou), brefs, répétés dans ce modèle proposant ce phénotype comme des tics-like (Lamothe, Schreiweis, *Lavielle*, Mallet et Burguière, 2021, BioRxiv). Nous avons également observé qu'une proportion des séquences de toilettage était avortée dès l'exécution d'un unique mouvement en phase 2. De plus la fréquence de ces simples mouvements corrélait avec la fréquence des tics chez les souris *Sapap3*-KO suggérant une potentielle neurobiologie commune entre ces deux comportements. Ce modèle est suggéré pour la première fois comme un modèle de comorbidité des troubles TOC et TS.

3) Altérations cognitives

D'autres études ont mis en évidence des déficits cognitifs chez la souris *Sapap3*-KO. Lors d'une tâche visuelle de conditionnement Pavlovien, les souris devaient discriminer entre un stimulus récompensant et un stimulus non récompensant. Après apprentissage, les contingences étaient inversées. Les souris *Sapap3*-KO ont acquis la tâche au même rythme que les souris sauvages, mais ont persévéré dans leur réponse du stimulus anciennement récompensant après changement des contingences (van den Boom et al., 2019). Ce comportement témoigne d'une inflexibilité cognitive, caractéristique des patients TOC. Dans une tâche de prise de décision visuelle à renversement, Benzina et al. (2021) ont montré qu'un sous-groupe de souris *Sapap3*-KO présentait un retard d'apprentissage des contingences gratifiantes. À la suite du renversement des contingences, ces souris exprimaient une labilité excessive dans leur choix de réponse retardant le nouvel apprentissage du côté récompensant. La raison de ce déficit d'apprentissage s'oppose ici directement avec les résultats de l'étude de van den Boom (2019) décrit plus haut qui suggère une persévération du côté de réponse anciennement récompensant. Enfin, une étude de Burguière et al. (2013) a suggéré un renforcement pathologique de l'association « stimulus-réponse » traduit par un défaut d'inhibition de réponse conditionnée à la suite d'un stimulus neutre. Plus exactement, les souris se toilettaient de manière conditionnée lorsqu'elles recevaient une goutte d'eau sur leur front, annoncée en amont par un signal sonore. Rapidement, les souris *Sapap3*-KO ont répondu au stimulus neutre plutôt qu'à l'arrivée de la goutte d'eau attestant d'une mauvaise adaptation comportementale. Ce défaut d'adaptation a été ensuite restauré par stimulation optogénétique des neurones de l'OFC latéral projetant vers le striatum central.

En plus d'avoir une bonne validité apparente ainsi qu'une bonne validité conceptuelle, les souris *Sapap3*-KO répondent positivement aux traitements adressés aux patients TOC et TS. L'administration prolongée de fluoxétine (ISRS) atténue l'expression excessive du toilettage et des niveaux élevés d'anxiété (*Figure 20F*) (Welch et al., 2008; Ahmari et al., 2013) tandis que le traitement à l'aripiprazole (antipsychotique) diminue la fréquence de tic-like et de mouvements simples de toilettage (Lamothe et al., 2021, bioRxiv).

Enfin, pour s'assurer que le phénotype observé soit bien causé par cette délétion, la restauration de la protéine Sapap3 dans le striatum de la souris par injection de lentivirus a montré une diminution de la fréquence de toilettage, une diminution des niveaux d'anxiété, et une réduction des lésions générées. Ce phénotype est accompagné d'une restauration de la transmission synaptique corticostriatale (Welch et al., 2008).

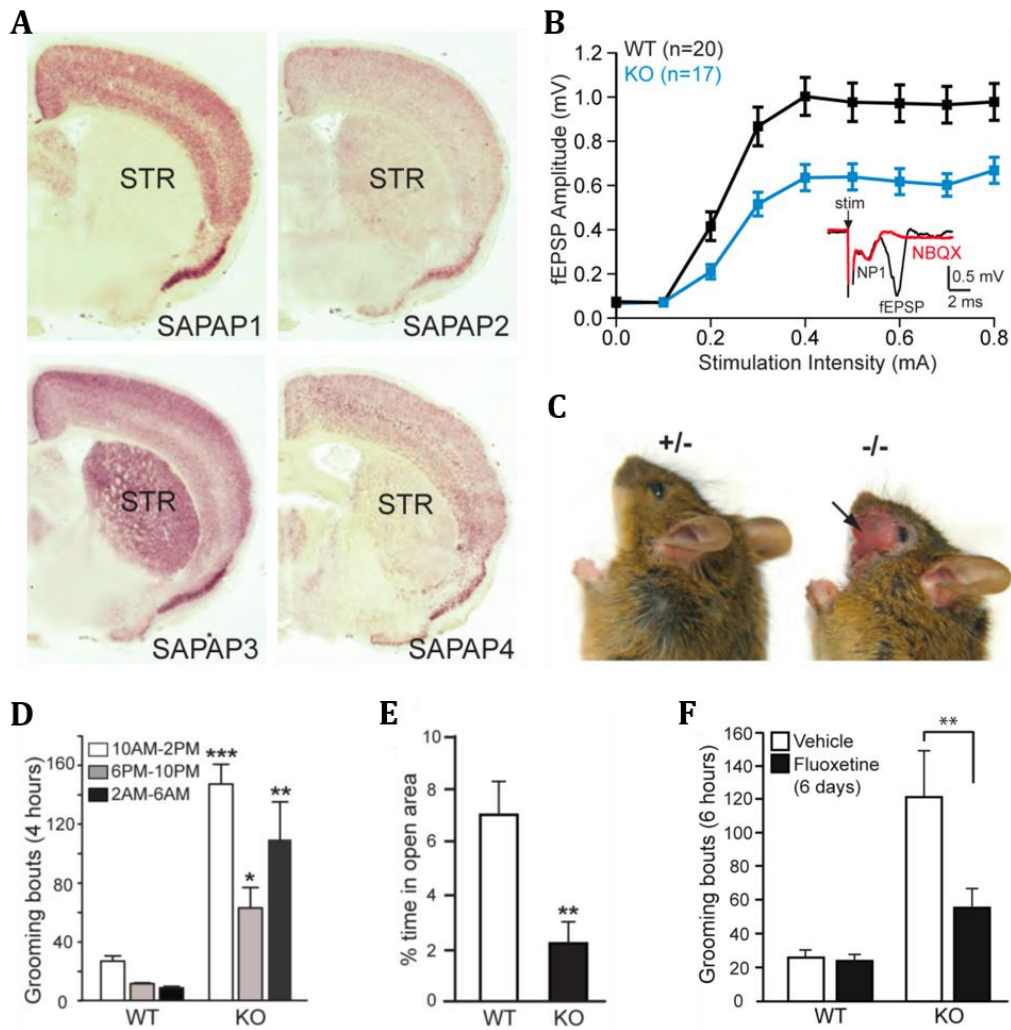


Figure 20. La souris *Sapap3*-KO comme modèle animal de comportements compulsifs. **A.** Forte expression des ARNm de la protéine SAPAP3 dans le striatum. **B.** Enregistrements de champs potentiels corticostriataux in vitro. Les EPSC sont diminués chez la souris *Sapap3*-KO. **C.** Les comportements répétés surexprimés provoquent des lésions chez la souris *Sapap3*-KO. **D-F.** Les souris *Sapap3*-KO engagent plus souvent dans des séquences de toilettage, (E) montrent des niveaux plus élevés d'anxiété, (F) et voient leur fréquence de toilettage diminuée après traitement à la fluoxétine. (Figure adaptée de Welch et al., 2008).

3.3. IMPLICATION DU RÉSEAU D'INTERNEURONES STRIATAUX DANS LA RÉGULATION DES COMPORTEMENTS COMPULSIFS

3.3.1. L'hyperactivité striatale chez les souris *Sapap3-KO*

En plus d'un comportement mal adapté chez les souris *Sapap3-KO*, Burguière et al. (2013) puis Ramirez-Armenta et al. (2022) ont montré une activité basale et lors du toilettage, une activité anormalement élevée des MSNs du striatum central chez les souris *Sapap3-KO* comparée aux souris sauvages. Burguière et al. (2013) ont également montré une activité anormale des MSNs lors de la provocation des symptômes durant la tâche de conditionnement. Leur activité augmente et reste soutenue à la suite du stimulus conditionnel (signal sonore) dans les stades tardifs de la tâche tandis que chez les souris sauvages, l'activité des MSNs augmentent seulement à partir de l'arrivée de la goutte d'eau. Cette absence d'inhibition des MSNs chez les *Sapap3-KO* pourrait être la cause du manque d'adaptation comportementale lors de la tâche. Par extension, la suractivité striatale basale détectée pourrait être à l'origine des compulsions observées chez la souris *Sapap3-KO*. A ce jour, l'origine de cette altération striatale reste encore incertaine. Cette suractivité pourrait être due à des anomalies au niveau des afférences striatales ou à une dysfonction striatale intrinsèque causée par exemple par une diminution de la densité des interneurons PV comme suggérée par Burguière et al., 2013.

3.3.2 Un défaut de transmission synaptique ?

Une possible explication de la suractivité striatale observée serait via une augmentation de la transmission synaptique des afférences striatales. Cela semble contre-intuitif étant donné que la protéine SAPAP3 absente de ce modèle a pour rôle le bon fonctionnement des synapses excitatrices. Welch et al. (2008) ont par ailleurs montré une diminution des sEPSP (« field excitatory postsynaptic potentials » en anglais) striataux chez la souris

Sapap3-KO après stimulation électrique non spécifique des fibres du corpus callosum, proposant ainsi une transmission synaptique altérée d'origine postsynaptique. Ils ont aussi montré que l'excitabilité axonale et présynaptique restaient inchangées.

Bien qu'en plus faible densité que les projections corticales, le striatum reçoit également des afférences thalamiques. Wan et al. (2014) ont montré que la transmission thalamostriatale au niveau des synapses excitatrices n'était pas affectée par la délétion du gène codant pour la protéine SAPAP3 et ceci grâce à la présence de la protéine SAPAP4 spécifiquement exprimée aux épines dendritiques des MSNs recevant des projections thalamiques. Enfin, Burguière et al. (2013) ont montré une absence de différence d'activité dans l'OFC latéral entre les souris *Sapap3*-KO et les souris sauvages. Ces informations indiquent que la suractivité striatale des *Sapap3*-KO ne semble pas provenir des afférences striatales thalamiques ni ne serait le reflet d'une suractivité de l'OFC latéral.

Des études plus récentes se sont intéressées à une hétérogénéité des niveaux de transmission synaptique corticostriatale. Cette hétérogénéité pourrait être liée aux structures afférentes, aux sous-régions striatales, ou à la population neuronale ciblée par les projections corticales. Chez des souris *Sapap3*-KO jeunes adultes, l'enregistrement d'EPSP suite à la stimulation par optogénétique des terminaisons synaptiques provenant du M1/M2 et du Cg1/M2 a montré une diminution du ratio des récepteurs AMPA/NMDA dans les MSNs du striatum dorsolatéral et dorsomédial respectivement, suggérant une diminution de la transmission synaptique. Cependant, cette diminution n'a pas été observée dans la voie de l'OFC jusqu'au striatum central (Hadjas et al., 2020). Ces derniers résultats diffèrent des résultats obtenus par Corbit et al.,(2019). Ces derniers se sont intéressés spécifiquement aux synapses de cette région striatale en fonction des différentes aires corticales y projetant. Ils ont montré par stimulation optogénétique des terminaisons neuronales provenant de l'OFC latéral, une légère diminution des EPSP dans les MSNs. A l'inverse, ils ont observé une très forte augmentation des EPSP dans les MSNs et les interneurons PV après stimulation des terminaisons neuronales provenant du M2. Aucune différence de transmission synaptique venant de l'OFC latéral sur les interneurons PV n'a été observée chez les souris *Sapap3*-KO (Corbit et al., 2019; Hadjas et al., 2020).

Hadjas et al. suggèrent alors que ce phénotype observé chez les souris *Sapap3*-KO est dû à une diminution du ratio des récepteurs AMPA/NMDA au niveau des synapses corticostriatales sur les MSNs, induisant une baisse de la force synaptique. A l'inverse, Corbit et al. (2019) suggèrent que ce phénotype est dû à une forte augmentation de la transmission synaptique sur les synapses des MSNs et interneurons PV provenant de l'aire corticale M2.

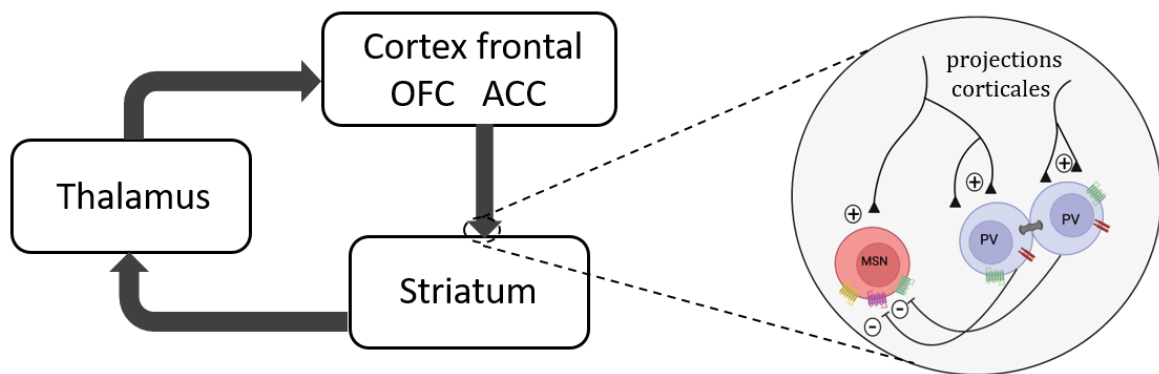
3.3.3. Une dérégulation intrinsèque de la micro-circuiterie striatale ?

Une autre explication possible quant à la suractivité du striatum centrale serait une baisse d'inhibition par le réseau d'interneurones striataux. Les interneurons PV étant la plus grande source d'inhibition du striatum (Silberberg et Bolam, 2015) et de surcroit leur densité étant diminuée chez les patients TS (Kalanithi et al., 2005; Kataoka et al., 2010), plusieurs études ont proposé qu'une baisse de leur densité ou de leur excitabilité entrainerait une désinhibition des MSNs striataux (*Figure 21*). Burguière et al. (2013) ont montré une diminution du nombre de ces interneurons dans le striatum central par marquage au DAB (Diaminobenzidine) chez les souris *Sapap3*-KO. A l'inverse, Corbit et al. (2019) décrivent une absence de différence de densité entre ces deux groupes. Ils ont montré par ailleurs que ces interneurons n'avaient pas de défaut d'excitabilité excluant une diminution de leur fonctionnalité. Enfin, Hadjas et al. (2020) ont montré une tendance à la baisse des interneurons PV dans le striatum dorsolatéral, dorsomédial et central chez les souris *Sapap3*-KO. Cette diminution semble restrictive au striatum car aucune différence n'a été observée dans le cortex M1 et S1.

Si la diminution de la densité des interneurons PV reste à ce jour encore une hypothèse, des travaux récents de notre équipe ont montré que l'activation optogénétique de ces interneurons était suffisante pour restaurer l'activité physiologique des MSNs et soulager les symptômes compulsifs de toilettage de la souris *Sapap3*-KO (Mondragón-González et al., 2022, bioRxiv). L'absence de consensus malgré ces différents éléments convergents pourrait être expliquée par une méthodologie hétérogène des surfaces striatales quantifiées appuyant la nécessité d'une comparaison non supervisée de cette

population interneuronale sur l'ensemble du striatum. Enfin, concernant la densité des interneurones ChAT également diminuée chez les patients TS, aucune étude n'a encore quantifié leur densité chez les souris *Sapap3-KO* alors que l'ablation spécifique de ces interneurones est à l'origine de modèles animaux de comportements répétitifs surexprimés (voir 3.2.1. *Développement de modèles animaux en neuropsychiatrie*).

A



B

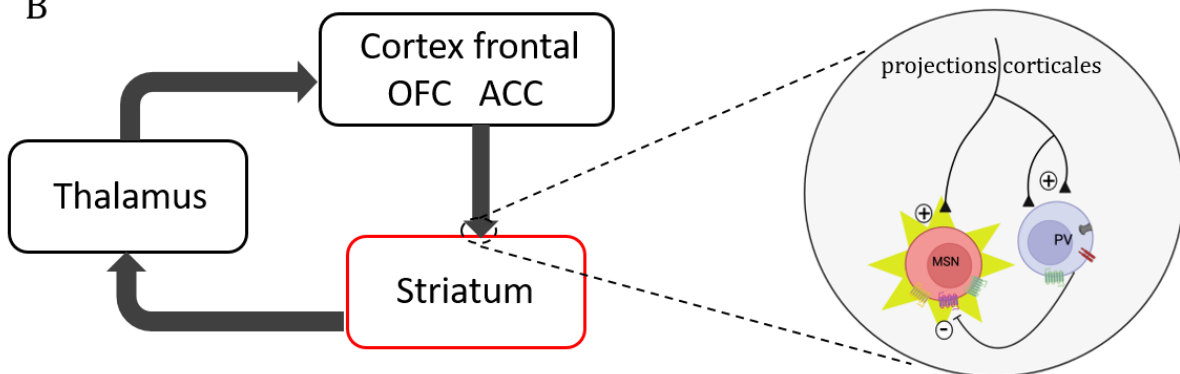


Figure 21. Cause hypothétique du dysfonctionnement corticostriatale chez les patients TOC. A. Chez des personnes saines, les projections corticostriatales modulent l'activité striatale via une balance d'inhibition et d'excitation. L'activité des MSNs est modulée par un réseau d'interneurones PV. **B.** Dans des conditions pathologiques (TOC), le striatum est suractivé, possiblement due à une diminution de la densité du nombre

d'interneurones PV favorisant l'activité des MSNs et provoquant une dérégulation des boucles cortico-basales. (Figure d'après Burguière et al., 2015).

En résumé, la dérégulation des boucles corticostriatales a été documentée par imagerie fonctionnelle chez des patients présentant une incapacité à adapter leur comportement dans un environnement volatil, conduisant à une surexpression de comportements répétitifs. Ces études ont mis en évidence l'altération de la voie corticostriatale limbique et associative lors de l'expression de symptômes de type compulsif, tandis que la voie corticostriatale sensorimotrice semble être impliquée dans des symptômes de type moteur. Ces études donnent de précieuses indications sur la pathophysiologie de ces troubles mais ne permettent cependant pas d'établir de lien causal entre anatomie et pathologie, ni de comprendre l'origine des dérégulations fonctionnelles décrites.

L'utilisation de modèles animaux devient alors essentielle pour tester et valider des hypothèses, aussi bien à l'échelle moléculaire, cellulaire ou de la circuiterie neuronale. Le développement de modèles génétiques tels que la souris Sapap3-KO permet d'avoir un modèle d'étude reproduisant des symptômes s'apparentant à ceux déclarés chez les patients TOC et TS. Plusieurs études ont montré l'implication des interneurones PV striataux dans la restauration de symptômes chez la souris Sapap3-KO, cependant à ce jour aucun consensus n'a été trouvé quant à l'altération de ces interneurones comme facteurs de dérégulation striatale à l'origine des symptômes.

HYPOTHÈSE DE TRAVAIL

Mon travail consiste à investiguer la contribution des interneurons striataux PV et ChAT dans la régulation de l'activité striatale lors de comportements motivés impliquant des processus cognitifs et moteurs.

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, le striatum reçoit des afférences corticales excitatrices impliquées dans une multitude de fonctions. Il transmet ensuite à son tour ces informations corticales aux structures efférentes des ganglions de la base via les neurones de projections (MSNs).

Ces boucles anatomo-fonctionnelles permettent la mise en place de processus cognitifs tels que la sélection de l'action, ainsi que des processus moteurs permettant la bonne exécution du programme sélectionné. Les interneurons striataux, également recrutés par les afférences corticales, exercent une modulation puissante de l'activité des MSNs et, par conséquent, sur l'activité de sortie du striatum. Ces interneurons semblent donc avoir un rôle crucial dans la régulation de l'action. Plusieurs études ont mis en évidence une altération de l'activité des voies corticostriatales dans le TOC et TS, deux troubles caractérisés par une dérégulation du contrôle de l'action. L'étude de ces troubles grâce à l'utilisation de la souris *Sapap3-KO*, un modèle de dérégulation des comportements répétés, a mis en évidence des niveaux anormalement élevés de l'activité du striatum.

Nous faisons l'hypothèse alors, qu'un déficit du réseau d'interneurones striataux serait à l'origine de l'hyperactivité striatale observée. Selon le territoire striatale affectés, cela pourrait conduire aux différents types de symptômes décrit chez la souris *Sapap3-KO*, et plus largement chez les patients TOC et TS.

L'objectif de cette étude a consisté :

1) au développement d'une approche méthodologique permettant la comparaison de la distribution des interneurons PV et ChAT dans l'ensemble du striatum des souris *Sapap3-KO* et des souris sauvages.

2) Cette étude vise à déceler de manière non supervisée des possibles altérations du réseau d'interneurones striataux pouvant être une cause dans l'émergence des symptômes observés dans ces troubles.

Un des symptômes caractéristiques des patients TOC est le niveau anormalement élevé d'incertitude au cours d'un processus décisionnel. Il a été suggéré qu'une mauvaise intégration de l'information lors de ce processus, impactant alors la mise en place de comportements adaptés. Le cortex orbitofrontal a longuement été décrit comme étant impliqué dans les processus de prise de décision ainsi que sur la gestion de la confiance du sujet accordé à ses choix. Cette aire corticale projette vers le striatum centromédial et semble recruter ce territoire striatal lors de la prise de décision.

Nous faisons l'hypothèse ici que les interneurons PV du striatum centromédial pourraient permettre d'intégrer cette information corticale et jouer un rôle majeur en inhibant l'activité striatale tant que le processus décisionnel est en cours, évitant ainsi des réponses prématurées et mal adaptées. Ce mécanisme permettrait ainsi de retarder l'exécution du choix afin d'accumuler suffisamment d'information pour proposer une réponse adaptée. La durée de la prise de décision serait d'autant plus importante en contexte d'incertitude et cela grâce à une plus forte activation des interneurons PV.

Pour adresser cette hypothèse, nous avons réalisé une seconde étude dont le premier objectif a consisté :

1) à concevoir et valider une tâche comportementale de prise de décision perceptuelle en mouvement libre chez la souris. Le but était alors de capturer des variations de la durée de prise de décision à l'aide de niveaux de difficulté dans la tâche, augmentant l'incertitude de la souris quant au choix à prendre.

2) à la mise en place et à l'enregistrement de l'activité des interneurons PV du striatum centromédial par photométrie pendant la tâche de prise de décision perceptuelle. Nous nous attendons ici à un recrutement des interneurons PV durant la durée du processus décisionnel.

TRAVAIL EXPÉRIMENTAL

Sommaire

4. Chapitre 4 : Le rôle des interneurones striataux dans la régulation des comportements répétitifs	109
4.1. Résumé	109
4.2. Article : Unbiased comparison of striatal neuronal density map..... reveals altered PV and ChAT interneurons distribution in the Sapap3-KO..... mouse model.....	111
5. Chapitre 5 : Le rôle des interneurones PV striataux dans la prise de décision perceptuelle.....	138
5.1. Matériels et méthodes : mise en place, acquisition et analyse d'enregistrements neuronaux par photométrie lors d'une tâche de prise de décision perceptuelle en comportement libre.....	138
5.2. Mise en place d'une tache innovante de prise de décision..... perceptuelle.....	152
5.3. Validation expérimentale de la tache comportementale : variation..... du temps de décision en contexte d'incertitude.....	158
5.4. Recrutement et désengagement des interneurones PV lors du processus décisionnel.....	176

CHAPITRE 4. LE RÔLE DES INTERNEURONES STRIATAUX DANS LA RÉGULATION DES COMPORTEMENTS RÉPÉTITIFS

4.1. RÉSUMÉ D'ARTICLE

Les compulsions et les tics sont des comportements répétés exprimés respectivement dans le trouble obsessionnel compulsif (TOC) et dans le syndrome de Gilles de la Tourette (TS), deux maladies neuropsychiatriques souvent comorbides (Goodman et al., 2006). Des études de neuroimagerie ont mis en évidence une altération de l'activité d'aires du cortex préfrontal impliquées dans des fonctions limbiques et associatives chez les patients TOC, et motrices chez les patients TS. Ces régions projettent de manière topographique vers le striatum antérieur, une structure dont l'activité est également altérée dans ces troubles (Vaghi et al., 2017; Worbe et al., 2010). L'activité striatale est finement régulée par un réseau d'interneurones PV et ChAT, également recrutés par ces aires corticales. Des études *post-mortem* ont effectivement montré une diminution de ces deux populations neuronales chez les patients TS (Kataoka et al., 2010). Cette dérégulation de l'activité striatale a été décrite chez la souris *Sapap3-KO*, le modèle actuellement le mieux validé pour étudier ce type de comportements répétés (Burguière et al., 2013). Cependant, aucun consensus n'a encore été établi permettant d'expliquer les mécanismes sous-jacents responsables de cette activité perturbée.

Dans cette première étude, nous avons étudié la densité des interneurones PV et ChAT dans le striatum antérieur de la souris *Sapap3-KO*. Pour cela, nous avons développé une méthodologie permettant d'évaluer la distribution cellulaire dans une structure d'intérêt en normalisant les coordonnées de chaque sujet dans un même référentiel spatial. Cela a permis une détection fine et non supervisée de clusters différentiels de densité de ces

interneurones dans des régions discrètes du striatum antérieur entre les souris WT et *Sapap3-KO*.

D'une part, cette étude reproduit des résultats précédemment publiés décrivant un gradient de densité des interneurones PV du striatum dorsolatéral vers le striatum ventromédial (Kita et al., 1990). Un gradient de densité des interneurones ChAT du striatum latéral vers le striatum médial ainsi que du striatum dorsal vers le striatum ventral a été également observé dans notre étude. D'autre part, les résultats ont montré chez les souris *Sapap3-KO* une diminution des interneurones PV dans le striatum centromédial et ventromédial de la région la plus antérieure du striatum. De manière inattendue, la densité de ces interneurones est augmentée dans la région plus postérieure du striatum centromédial de ce modèle. Ce gradient différentiel de densité dans le striatum centromédial postérieur à antérieur soulève l'hypothèse alors d'un défaut de migration des interneurones PV chez les souris *Sapap3-KO*.

Concernant les interneurones ChAT, une diminution de leur densité a été observée spécifiquement dans le striatum dorsolatéral des souris *Sapap3-KO* par rapport aux souris WT.

En conclusion, ces résultats montrent la présence d'altérations du réseau d'interneurones dans des régions discrètes du striatum chez les souris *Sapap3-KO*, sans à priori sur les limites spatiales des territoires fonctionnels à analyser, contrairement à ce qui avait été fait précédemment. La variété des régions striatales affectées pourraient contribuer à l'hétérogénéité des symptômes observés. En effet, l'altération des interneurones PV dans les régions centromédial et ventromédial du striatum semble impacter l'activité des boucles associatives et limbiques entraînant une expression compulsive de séquences comportementale complexes. Le déficit d'interneurones ChAT dans le striatum dorsolatéral pourrait être quant à lui à l'origine de la dérégulation de l'activité de la boucle sensorimotrice décrite chez les patients TS.

4.2. UNBIASED COMPARISON OF STRIATAL NEURONAL DENSITY MAPS REVEALS ALTERED PV AND CHAT INTERNEURONS DISTRIBUTION IN THE *SAPAP3*-KO MOUSE MODEL

Unbiased comparison of striatal neuronal density maps reveals altered PV and ChAT interneurons distribution in the *Sapap3*-KO mouse model.

Lavielle Oriana¹, Schreiweis Christiane¹, Travert Youenn¹, Criniere-Boizet Baptiste¹, Burguière Eric¹,

¹ Sorbonne Université, INSERM U 1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau, F-75013 Paris, France

Abstract

Compulsion and tics are repetitive behaviors (RB) respectively expressed in obsessive compulsive disorders (OCD) and Tourette syndrome (TS), two neuropsychiatric disorders that are often comorbid. The pathophysiology of these excessive RB points towards abnormalities in cortico-striatal loops, in particular in prefrontal regions and in one of their main projecting structure, the anterior striatum area. An abnormal elevated neuronal activity of the anterior striatum has also been observed in the *Sapap3*-KO mouse, a widely used model to study such RB. No consensus has yet been made about the underlying mechanisms of this perturbed activity but post-mortem studies from TS patients highlighted a decreased number of PV and ChAT interneurons in the striatum, two neuronal populations known as key regulators of striatal activity.

Here, we studied the population density of PV and ChAT interneurons in the anterior striatum of the *Sapap3*-KO mouse model. We developed a novel methodology to assess accurate cellular distribution within the striatum by normalizing spatial coordinates of every subject on the same referential. This methodology allows an unsupervised fine detection of differential clusters of density. With this approach, we showed that PV interneurons density in the *Sapap3*-KO mouse model was affected in the centromedial and ventromedial areas of the striatum, which belong to the associative and limbic circuits, respectively. Concerning the ChAT interneurons, their density was decreased in the sensorimotor striatum of *Sapap3*-KO mice.

Together, these results are in line with the idea that the emergence of RB could result from a loss of control in the execution of complex behavioral sequences (compulsions) or isolated motor bout (tics).

Introduction

Pathological repetitive behaviours are a core feature of some specific neuropsychiatric disorders such as Obsessive Compulsive Disorder (OCD) and Tourette Syndrome (TS). OCD patients suffer from intrusive thoughts, called obsessions, and excessive repetitive behaviours known as compulsions, which are expressed as complex motor or mental sequences. TS patients exhibit brief and repetitive motor movements or vocalizations called tics, often preceded by an “urge to do”. A high comorbidity has been observed between these two disorders, with up to 50% of TS patients suffering from OCD as well (Goodman et al. 2006). Therefore, these two pathologies show similar phenotypes of repetitive behaviours (compulsions and tics) and high co-occurrence, suggesting that their aetiology shares common pathophysiological pathways.

Imaging studies in humans highlighted dysregulations of the cortico-striatal loops activities in OCD and TS (Posner et al. 2014; Anticevic et al. 2014; Worbe et al. 2015). These loops are structurally and functionally segregated into distinct pathways that range from limbic to associative to motor depending on the nature of the cortical areas and their associated projections targets (Alexander et al. 1986). Prefrontal cortices involved in cognitive processes project to the dorso-medial region of the striatum, sensorimotor cortices project to the dorso-lateral striatum, and limbic cortices reach the ventral

striatum (Ramanathan et al. 2002; Hintiryan et al. 2016). These circuits are well described for the acquisition, regulation and automatization of actions and their implications in the emergence of distinct types of pathological repetitive behaviors when they are dysfunctional (Graybiel 2008; Burguière et al. 2015). Indeed, it has been reported that abnormal anatomy or activity in the cortical motor areas (e.g., primary motor cortex, supplementary motor areas) and dorsal striatum is often associated with expression of simple tics (Bohlhalter et al. 2006; Worbe et al. 2015). In contrast, the pathological repetition of more complex sequences of actions has been associated with dysfunction predominantly in associative and limbic cortico-basal ganglia loops with altered functional connectivity between associative striatum and prefrontal regions in OCD patients such as anterior cingulate or orbitofrontal cortices (Anticevic et al. 2014).

On the cellular level, recent studies, have raised interest in the possible implication of the striatal inhibitory networks, among them parvalbumin (PV) and choline acetyltransferase (ChAT) interneurons, which strongly modulates the striatal activity (Burguière et al. 2013; Kataoka, Paul S A Kalanithi, et al. 2010). Due to their anatomical and physiological properties, PV and ChAT interneurons tightly regulate the activity of medium spiny neurons (MSN), which represent more than 90% of the striatal neurons and the only striatal output. On the one hand, PV interneurons receive projections from the cortex, and exert a fast and powerful inhibition on MSN through a feedforward inhibition process (Gittis et al. 2010; Mallet 2005). On the other hand, ChAT interneurons act on MSN but also on PV interneurons, adding complexity to the regulation of this striatal microcircuitry (Koós and Tepper 2002). Therefore, a slight decrease of their density could have a major impact on the overall activity of the striatum. Interestingly, postmortem studies in TS patients have shown 50 to 60% decrease in both PV and ChAT interneurons in the caudate and putamen. The density of ChAT interneurons was decreased in the associative and sensorimotor regions of the striatum, whereas the density of PV interneurons was equally decreased throughout the entire striatum (Kalanithi et al. 2005; Kataoka et al. 2010). Due to the topographical organization of the striatum, the resulting phenotype might differ depending on the striatal region affected. Indeed, a decrease of PV and ChAT interneurons has been reported in TS patients but no study has explored this phenomenon in OCD patients. Here, we aim to investigate the underlying mechanisms of behavioural dysregulation in the widely used *Sapap3*-KO mouse model of OCD. This model presents

pathological repetitive behaviors including excessive grooming qualified as compulsive-like behaviour and abnormal tic-like movements (Welch et al. 2008; Lamothe et al., 2021, bioRxive). Burguière et al. (2013) showed an increase in the basal firing rate of MSN activity in the centro-medial striatum of *Sapap3*-KO mice, which could explain the phenotype of excessive repetitive behaviors, although the origin of this activity remains elusive. In line with Kataoka et al. (2010), one of the proposed hypotheses underlying the emergence of pathological repetitive behaviors is based on the decrease in striatal inhibition, mediated by PV and ChAT interneurons. While Burguière et al (2013) showed a decrease in PV interneurons in the centro-medial striatum of *Sapap3*-KO mice, Hadjas et al. (2020) only found a tendency and Corbit et al. (2019) did not find any difference. However, any of these results could be conclusive since the quantification was done on a relatively low number of animals and the regions of interest which were analysed varied across studies.

In this study, we aimed to identify potential changes in interneuron distribution in the *Sapap3*-KO mouse model, which could account for the spectrum of repetitive behaviour phenotypes. We propose a method that allows comprehensive characterization of neuronal population density within a structure of interest, here PV and ChAT interneurons in the mouse striatum. By homogenising each individual anatomical structure while maintaining intra-animal variability, we generated averaged density heatmaps of striatal PV and ChAT interneurons in relatively large cohorts of WT and *Sapap3*-KO mice, allowing precise and unsupervised comparison of their striatal interneuron distribution.

Materials and Methods

Animals

Thirty-eight male mice were used in this study (21 *Sapap3*-KO and 17 wildtypes littermates), aged from 6 to 13 months old. They were maintained in 12h light/dark cycles with ad libidum food and water access at the Paris Brain Institute animal facility.

Histology

Mice were deeply anesthetized with pentobarbital (0,01mg/kg; euthasol) and transcardially perfused with cold 0.9% sodium chloride followed by 4% paraformaldehyde (PFA) in 0.1M PB. Brains were extracted out of the skull and kept overnight in 4% PFA at 4°C before being dehydrated in 30% sucrose. Brains were then frozen in the cryostat chamber and 40 µm thick coronal sections were obtained with the cryostat.

Immunohistochemistry and interneurons quantification

Sections were washed 3 times in PBS for 10 minutes followed by 3 baths of 10 minutes in 0.1% Tween and 0.2% Triton in PBS (PBST). Blocking was performed during 2 hours at room temperature in PBST with 5% normal donkey serum. Sections were then incubated overnight at 4°C with a rabbit anti-parvalbumin (1/1000, Swant) and a goat anti-acetylcholine antibody (1/500, Millipore).

Next day, sections were washed 3 times in PBST before 2 hours of incubation with a donkey anti-rabbit Alexa 488 (1/400) and a donkey anti-goat Alexa 555 (1/400) antibody at room temperature and covered with aluminium foil. Sections were then washed 2 times with PBST and once with PBS. Nuclei staining was performed using DAPI solution (10ug/ml) for 2 minutes and sections were then washed 3 times with PBS. Sections were mounted with Fluoromount-G (Southern Biotech) and imaged the day after with an Axioscan microscope 10X objective (Zeiss). For image acquisition, we performed a 3 slices z-stack over a range of 10 µm. Images were visualized as hyperstack.

Three brain sections per animal were selected for cell counts: AP: +0.98mm, +0.74mm, +0.50mm. The striatum side was selected to anatomically match the closest bregma of interest and was equally balanced between the total number of left and right hemispheres. The striatum was defined based on the Paxinos Atlas. Parvalbumin and ChAT interneurons were automatically detected using a threshold chosen to optimise the signal-to-noise ratio, and quantified using the Image J software. Cells and striatum boundaries coordinates were saved for further analysis.

Anatomical homogenisation of the striatum

All striatum borders and cells coordinates were axially rotated to be all aligned along the same orientation. Striatum borders and cells from the right hemisphere were transformed to left-like striatum by axial symmetry. Striatum borders and cells coordinates were then normalized by the minimum and maximum (x, y) striatum borders coordinates and by the striatum center of mass in order to display all individuals data on a common spatial referential. An averaged striatum silhouette was calculated based on all striatum borders coordinates. For each animal, new cells coordinates relative to the averaged striatum silhouette were calculated. The normalization was realized by calculating the distance between each (x, y) cell coordinates relative to its striatal border as a normalized ratio between [0, 1]. All cells were then remapped in the common striatum silhouette according to the relative distance previously calculated.

Heatmap generation

We superimposed all cells coordinates of each animal from the same genotype in the averaged striatum that we then segmented into bins resulting in a density of cells per bin. To avoid border effect, we corrected the density of the bins that were crossed by the striatum border by conserving the area of the truncated bin only. If more than 87.5% of the bin was out of the striatum, we excluded it. For each genotype, we calculated the averaged density heatmap by dividing each bin by the number of mice of the same genotype. We were then able to calculate the density heatmap difference by subtracting each bin of the WT heatmap group from the corresponding bin from the *Sapap3*-KO heatmap group. All analysis were performed with custom MATLAB scripts available upon request.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Prism 8.4 (GraphPad, San Diego, USA) and R version 3.6.3 (R Development Core Team, 2019). All data sets are reported as mean \pm SEM and statistical significance was assessed using Mann-Whitney's U-test for WT and *Sapap3*-KO group comparison. Mix-effect analysis was performed for multiple group comparison. Permutation tests were performed to detect cluster of differences between the WT and

Sapap3-KO heatmaps. All sample sizes are reported in the text or in the supplementary tables.

Results

Overall striatal PV and ChaT interneurons density does not differ between WT and *Sapap3*-KO mice

The anterior striatum receives cortical projections from associative cortices, in particular from the anterior cingulate and the orbitofrontal cortices (ACC and OFC, respectively), which are known to be involved in the emergence of repetitive behaviours (Anticevic et al. 2014). We therefore selected anterior striatal coordinates which received most of the projections from the ACC and the OFC. Three different antero-posterior bregma levels were chosen according to their dense ACC and OFC projections: + 0.98mm, +0.74mm, +0.50mm relative to bregma reference (**Fig. 1A**). We selected the mouse striatum side to anatomically match the closest bregma of interest and we equally balanced the total number of left and right hemispheres. To quantify striatal PV and ChAT interneurons population of WT and *Sapap3*-KO mice, neuronal cells were labelled by immunohistochemistry against PV protein and ChAT and semi automatically counted using Image J software. We delimited the mouse striatum from one hemisphere according to the Paxinos atlas at three different antero-posterior bregma levels: + 0.98mm, +0.74mm, +0.50mm (**Fig. 1A**). The anterior striatum receives cortical projections from associative areas and is known to be involved in processes participating to the emergence of repetitive behaviours such as action automatization and behavioural inhibition (Burguiere et al. 2013; Terra et al. 2020). We therefore selected this striatal region based on the hypothesis that anatomical alterations could contribute to pathological repetitive behaviours. We selected the mouse striatum side to anatomically match the closest bregma of interest and we equally balanced the total number of left and right hemispheres.

We first determined if the striatum size was different between WT and *Sapap3*-KO mice. Regardless of the bregma level, the striatal area between the two groups did not show statistical difference (Br 0.98: $3.42\text{mm}^2 \pm 0.1$ for WT, $3.13\text{mm}^2 \pm 0.09$ for *Sapap3*-KO; Br 0.74: $3.82\text{mm}^2 \pm 0.09$ for WT, $3.76\text{mm}^2 \pm 0.09$ for *Sapap3*-KO; Br 0.50: $4.11\text{mm}^2 \pm 0.08$ for

WT, 4.03 ± 0.08 for *Sapap3*-KO, two-way ANOVA $p = 0.1430$) (**Fig. 1B**). The striatal PV and ChAT interneurons density were then calculated for each bregma level. We did not observe any significant difference of PV nor ChAT interneurons density for the three bregma levels between the two groups (see table 2 for mean, SEM and test values) (**Fig. 1C,D**). This first line of results showed that WT and *Sapap3*-KO mice have similar striatum areas as well as PV and ChAT interneurons global density.

We next asked whether the interneuronal distribution could be altered in the *Sapap3*-KO mouse striatum, inducing interneuronal density changes in localized striatum areas that could account for the different phenotypes observed in the *Sapap3*-KO mouse model.

Methodological homogenisation of the anatomical striatum and interneuron populations

To obtain comparable distribution between animals, we performed anatomical analysis to homogenise the striatum shape removing the inter-animal variability while conserving the intra-animal interneurons relative position. We first axially rotated all striatum and their respective interneurons coordinates to align them on the same origin (**Fig. 1E**). The striatal neuronal density between the left and right striatum was similar (**Supplementary fig. 1**), therefore we performed an axial symmetry transformation of all striatum from the right hemispheres to left-like striatum (**Fig. 1F**). To circumvent size variability, each striatum and their interneurons were normalized by its maximum and minimum striatum coordinates for the y and x axis and by its centre of mass (**Fig. 1G-H-K**). To sidestep shape variability, we calculated the coordinates of an averaged striatum for WT mice (**Fig. 1H**) and for *Sapap3*-KO mice (**Fig. 1K**). No major difference was found between the two averaged striatum shapes, and we therefore averaged them into a single common striatum. (**Fig. 1L**).

To preserve spatial PV and ChAT interneurons relative position in the common striatum, we calculated for each interneuron new coordinates relative to their distance from their striatum border in x and y axis (**Fig. 1G**). Interneurons were then individually remapped within the common striatum according to their new coordinates (**Fig. 1L**). With this anatomical analysis, we were therefore able to characterize striatal interneurons distribution in WT and *Sapap3*-KO mice and compare them at the group level.

Dorsal and lateral striatum of WT and *Sapap3*-KO mice are enriched in PV and ChAT interneurons

We first examined striatal PV interneurons distribution along the dorso-ventral and the latero-medial axes. For each bregma level, we calculated the density at 10 discrete coordinates from 0 to 1 for both x and y-axis. At the 3 different bregma levels, we observed a global decrease in both WT and *Sapap3*-KO mice of the neuronal density from dorsal to ventral regions of the striatum (Br 0.98 dorsal to ventral: 85 ± 5.5 (WT)– 83 ± 5.6 (KO) PVI/mm² to 62.4 ± 7.5 – 42.7 ± 6.3 PVI/mm²; Br 0.74 70.3 ± 5.4 (WT) – 72.1 ± 7.9 (KO) PVI/mm² to 36.9 ± 4.3 – 36.7 ± 3.8 PVI/mm²; Br 0.50 62.5 ± 6.3 – 70.9 ± 5.5 to 40.8 ± 6.2 – 33.8 ± 4.7 , **Fig. 2A-C**). For the medio-lateral interneurons distribution, the density remained stable along the striatum in the section Br 0.98. **Fig. 2A**). The two consecutive sections Br 0.74 and Br 0.50 showed a decrease of the density from the lateral to the medial part in both groups (Br 0.74 lateral to medial: 37.4 ± 3 – 35 ± 3 PVI/mm² to 19.1 ± 4.6 – 15.7 ± 3.8 PVI/mm²; Br 0.50 42.6 ± 3.7 – 34.1 ± 2.1 PVI/mm² to 25.1 ± 6.8 – 15.8 ± 4 PVI/mm², **Fig. 2B, C**)

We next investigated the ChAT interneurons distribution. The pattern between WT and *Sapap3*-KO mice appeared similar. We observed a net increase of the density in the dorsal part of the striatum for the 3 sections reaching up to 61.9 ± 2.7 (WT)– 58.9 ± 3.2 (KO) ChAT/mm² in Br 0.98; 63.3 ± 4.3 – 58.7 ± 4.9 ChAT/mm² in Br 0.74 and 54.6 ± 2.7 – 57.7 ± 3.6 ChAT/mm² in Br 0.50 and then a decrease in the ventral striatum down to 22.4 ± 2.2 – 22.8 ± 2.8 ChAT/mm² in Br 0.98; 25.3 ± 2.9 – 21.6 ± 3.1 ChAT/mm² in Br 0.74 and 27.7 ± 3.2 – 27.2 ± 2.2 ChAT/mm² in Br 0.50. For all sections and mice groups, the density increased again at the very ventral part of the striatum (**Fig. 2D-F**). For the latero-medial axis, the ChAT interneurons distribution was stable along the striatum in the section Br 0.98 (**Fig. 2D**). We observed a decreasing gradient in section Br 0.74 from 52.3 ± 7.2 – 44.3 ± 5.9 ChAT/mm² in the lateral region to 32.7 ± 4.3 – 32.3 ± 3.2 ChAT/mm² in the medial region. This decreasing gradient was enhanced in section Br 0.50 ranging from 63.7 ± 7.9 – 55.7 ± 7 ChAT/mm² in the lateral region to 21.5 ± 2.8 – 22 ± 2.1 ChAT/mm² in the medial region (**Fig. 2E, F**).

Although this representation allows a good visualization of the global distribution along both x and y striatal axes, it reduces the spatial information to a single spatial dimension (either x or y), considerably reducing the precision in the exact location of potential density variation. It is particularly visible in the medial region of the striatum where one

given density encompasses very high density in the dorsal region whereas density in the ventral region of this same medial coordinate is very low. To circumvent these limitations, we therefore combined both distribution analyses to obtain a density heatmap of the entire striatum for each group of mice.

Heatmap generation and unsupervised differential cluster detection

Unsupervised comparative whole-striatum heatmaps of cell density between *Sapap3*-KO and WT mice enhances the detection of finer variations in cellular topography without manually delimitating striatal regions *a priori*. To be able to calculate the averaged density distribution of striatal interneurons of WT and *Sapap3*-KO mice before comparative analyses, we first segmented the striatum into bins, each of them containing from 0 up to 3 interneurons in averaged (**Fig. 3A, D**). The size of the bin was chosen fairly large to get enough inter-bins variation, but small enough to keep striatal sub-region specificity. A first heatmap was obtained for WT and *Sapap3*-KO mice, representing the total number of interneurons per group (**Fig. 3B, E**). However, because the sample size was not equal in both groups, we calculated an averaged density distribution heatmap for each group by their corresponding number of WT and *Sapap3*-KO mice. To avoid density bias in bins positioned on the striatum edges, we corrected the density of the bins that were crossed by the striatum border by the area of the truncated bin (**Fig. 3C, F**). Finally, to visualize the comparative heatmap of differences, we subtracted the averaged WT heatmap to the averaged *Sapap3*-KO one (**Fig. 3G**).

To identify regions of significant cell density difference, we applied an unsupervised analysis based on permutation to assess the probability of obtaining a cluster of a specific number of bins depending on the intensity of the difference.

Based on the comparative heatmap of differences, we extracted the bins where the amplitude of intensity exceeded a chosen threshold value corresponding to at least 25% of difference between the WT and *Sapap3*-KO groups (**Fig. 3H**). Then, clusters of difference were defined as a continuous grouping of neighbouring bins (top-bottom and left-right) with the same sign of difference (either negative or positive). We then performed permutation testing to determine whether the size (number of bins) of the

areas identified were statistically significant; if the distribution of bins between both groups was random, then high intensity bins would not be grouped into zones. Hence, we randomly permuted the heatmaps between the two groups of animals, and subsequently generated an averaged map to detect the areas of high difference intensity. We repeated the process 100 times to derive the null distribution of the area sizes. We defined the p-value by the frequency of size on the null distribution that exceeded the size of the observed average heatmap (**Fig. 3I**).

Striatal PV interneurons density is altered in *Sapap3*-KO mice

Heatmap representations of cell distribution allows to extensively characterize any neuronal population distribution within a structure of interest. Regardless of the mouse genotype, we confirmed a dorso-ventral gradient of PV interneurons density for the three slide sections (**Fig. 4A**), with a marked enrichment in the dorsal part of the striatum compared to the ventral part. The density is particularly lower in the medio-ventral part of the striatum, known as the nucleus accumbens. For the section Br 0.98, in both WT and *Sapap3*-KO mice, we observed a net increasing gradient of PV interneurons density from the dorso-lateral to the dorso-medial striatum. Lastly, we found a density gradient decreasing from the anterior striatum (Br 0.98) to the more posterior striatum (Br 0.50) in both WT and *Sapap3*-KO mice (Kruskall-Wallis $p < 0.001$ for both WT and *Sapap3*-KO group).

To precisely investigate the putative differences of PV interneurons distribution between WT and *Sapap3*-KO mice without *a priori* on striatal areas of interest, we subtracted the averaged WT heatmap from the averaged *Sapap3*-KO heatmap. At the section Br 0.98, we observed a significant decrease of PV interneurons in the centro-medial striatum reaching the medio-ventral area of *Sapap3*-KO mice (red line area; **Fig. 4B**) (25 ± 2.71 number of PV interneurons for WT mice, 17.62 ± 2.63 number of PV interneurons for *Sapap3*-KO mice, $p < 0.01$, **Fig. 4E**) as well as a decreased number of PV interneurons in the medial area of the striatum (5.18 ± 0.58 number of PV interneurons for WT mice, 3.48 ± 1.94 number of PV interneurons for *Sapap3*-KO mice, $p < 0.05$, **Fig. 4F**). At the section Br 0.74, we found a small decrease of PV interneurons in the ventro-lateral striatum of *Sapap3*-KO mice (**Fig. 4C**) (9.78 ± 1.08 for WT, 6.94 ± 0.95 number of PV interneurons for *Sapap3*-KO mice, $p < 0.05$, **Fig. 4G**). At the section Br 0.50, we observed two areas with an increased level of

PV interneurons in the *Sapap3*-KO mice (**Fig. 3D**). A higher number of PV interneurons was found in the dorso-lateral region (22.31 ± 1.33 for WT mice, 28.5 ± 1.41 for *Sapap3*-KO mice, $p < 0.01$, **Fig. 4H**) and a small increase of PV interneurons in the centro-medial region of the striatum (5.94 ± 0.93 number of PV cells for WT mice, 8.9 ± 1.02 number of PV cells for *Sapap3*-KO mice, $p < 0.05$, **Fig. 4I**).

ChAT interneurons density is decreased in the dorso-lateral striatum of *Sapap3*-KO

We next applied the same methodology to explore the striatal ChAT interneurons distribution. We observed an increased density in the dorsal part of WT and *Sapap3*-KO mice striatum. This increased density was more central for the section Br 0.98 whereas a net decreasing gradient was observed from the dorso-lateral to the dorso-medial striatum for sections Br 0.74 and Br 0.50 (**Fig. 5A**). No difference in ChAT density was found in the anterior posterior axis for both WT (Kruskall-Wallis; $p = 0.78$) and *Sapap3*-KO group (Kruskall-Wallis; $p = 0.52$).

In the comparative heatmap of differences, we observed a decrease of ChAT interneurons in the *Sapap3*-KO dorso-lateral part in sections Br 0.98 (6.98 ± 1.08 number of ChAT interneurons for WT, 4.6 ± 0.61 number of ChAT interneurons for *Sapap3*-KO mice, $p < 0.05$, **Fig. 5B-E**) and Br 0.74 (9.94 ± 1.24 number of ChAT for WT, 6.940 ± 0.95 number of ChAT for *Sapap3*-KO, $p < 0.05$, **Fig. 5C-F**). No difference was observed in the section Br 0.50 (**Fig. 5D**).

Discussion

In this study, we examined the distribution of striatal PV and ChAT interneurons in the context of repetitive behaviour disorders using the *Sapap3*-KO mouse as a model that mimics compulsive-like and tic-like phenotypes. To extensively characterize potential differences between WT and *Sapap3*-KO mice throughout the entire striatum, we created a density heatmap of the two neuronal populations for each mouse genotype. By striatal morphing at the individual level, we were able to obtain an averaged heatmap for WT and *Sapap3*-KO mice and then generate a comparative heatmap of density differences. Regardless of the genotype, our results supported the existence of a decreasing gradient of striatal interneurons from the dorsal to the ventral area and from the lateral to the medial area, and specifically the ventro-medial part, particularly poor in interneurons.

Concerning the integrity of the striatal interneuronal networks of the *Sapap3*-KO, our results better describe the alteration of these networks in this model. We first confirmed an altered density of PV interneurons in striatal centro-medial areas of *Sapap3*-KO mice compared to WT mice in the most anterior part of the striatum, but also an increase in the same areas of the more posterior part. We also showed for the first time a decrease in the density of ChAT interneurons in the dorso-lateral anterior striatum.

This study has several strengths that have not been exploited in other studies. First, it includes a large number of animals (17 WT and 21 *Sapap3*-KO), reducing inter-animal variability that is known to be particularly high regarding PV interneurons number even in WT mice (Burguiere et al. 2013; Fino et al. 2018; Hadjas et al. 2020). Second, the mouse striatum is a large structure without clear anatomical boundaries between the different territories, which required manual delineation of the investigated areas in previous studies. This increases the likelihood that zones with differences will be missed if, for example, the selected area of interest is too large or overlap with another area without any difference. We solved this problem by creating a density heatmap of the entire striatum that allows unsupervised detection of differences. Third, we performed striatum morphing in order to preserve the intra-striatal interneurons distribution and relative position allowing for group comparison. This methodology can be applied to any type of molecular or cellular population in a delimited space.

Our results regarding the overall PV interneurons distribution were at first sight consistent with a number of previous studies. Indeed, the latero-medial decreasing gradient of PV interneurons was first described by Kita et al. (1990) and later by Ma et al. (2014) and Fino et al. (2018); as well as a decreasing dorso-ventral gradient (Ma et al. 2014). However, finer observation of the latero-medial gradient according to the dorso-ventral position reveals opposite density gradients. In the dorsal region of the striatum, the density is higher in the medial region and decreases toward the lateral region, and the contrary is observed in the ventral part the striatum.

The literature about ChAT density distribution is less clear. Similar to PV interneurons, we found a clear decreasing gradient from the dorsal area to the ventral part, whereas Ma et al. (2014) found no difference. On the other hand, human studies performed on

postmortem brain tissue reported an increased density in the caudate compared to the putamen (Bernácer et al. 2007) and more particularly in the associative region of the dorsal striatum. Thus, the advantage of our approach is that we can readily visualize the continuous distribution of cells in the striatum without dividing subregions of the striatum as it is classically done.

An altered network of striatal interneurons represents a good hypothesis for the emergence of pathological behaviors as interneurons are known to tightly regulate striatal activity by modulating neurons of projections under the control of cortical projections (Gittis et al. 2010; Tepper et al. 2008; Klug et al. 2018). Optogenetic activation of lateral orbitofrontal cortex and the PV interneurons of the corresponding projection area in centro-medial striatum is sufficient to alleviate the compulsive grooming observed in *Sapap3*-KO mice (Burguière et al. 2013; Mondragón-González et al. 2022, bioRxiv). These observations suggest a reduced inhibition of MSN activity by PV interneurons in the *Sapap3*-KO mouse model (Burguière et al. 2015). Several studies have therefore quantified the density of PV interneurons in the *Sapap3*-KO mouse model, but no consensus had been reached to date (Burguière et al. 2013; Corbit et al. 2019; Hadjas et al. 2020). Our study including a larger number of animals with an unsupervised method is then better characterizing the altered striatal PV interneuronal network of the *Sapap3*-KO mouse model. Our results indicates a net decrease of PV interneurons in the anterior striatum and more specifically in the centro-medial to centro-ventral striatum confirming and expanding the previous results from Burguière et al. (2013). Unexpectedly, we also observed an increased density in the centro-medial as well as dorsal region of the striatum of the *Sapap3*-KO group when reaching more posterior sections (Br 0.50). It is the first time that such increased density is reported in the *Sapap3*-KO mouse model.

Despite a growing body of evidence supporting the role of striatal ChAT interneurons in cognitive and movement disorders, their topography was not yet assessed in the *Sapap3*-KO mouse model nor in other mouse models expressing repetitive behavioural. This present study was therefore conducted to fill this knowledge gap. We reported a decreased density of ChAT interneurons in the dorso-lateral striatum of two consecutive sections. This result is coherent with Kataoka and colleagues (2010) study that found a reduction of ChAT density in the sensorimotor area of TS patients. Additionally, the

ablation of ChAT interneurons specifically in the dorso-lateral striatum also triggered behavioural manifestations observed in TS patients (Xu et al. 2015), corroborating Kataoka and colleagues' findings. In this study, 50% reduction of ChAT interneurons in this region induced tic-like stereotypies after acute stress or d-amphetamine administration. Here, we also showed a diminution of 31% of ChAT interneurons in the dorso-lateral striatum of *Sapap3*-KO mice, which could partially explain the recently reported tics-like movement observed in this model (Lamothe et al. 2021, bioRxiv).

A remaining interrogation concerns the origin of such a spatial pattern of the altered PV interneuronal distribution, with a decrease in the more anterior part of the striatum and an increase in the more posterior part. A hypothesis could be a migratory interneurons default during embryogenesis. 70% of the interneurons are generated in the medial ganglionic eminence (precursor to the globus pallidus) and migrate toward the lateral ganglionic eminence (precursor to the striatum) as well as the cortex and the hippocampus. These interneurons migrate dorsally to their final destination driven by simultaneous activity of chemoattractive and chemorepulsive factors produced by intermediates targets or by the cortex and striatum themselves (Villar-Cervino et al. 2015). 30% of the remaining interneurons derived from the caudal ganglionic eminence and partly migrate rostrally to deep brain structures such as the striatum (Touzot et al. 2016). Our results indicate a decreasing gradient of density specifically in the centro-medial striatum from the caudal to the rostral part of the striatum suggesting an altered caudo-rostral interneurons migration.

Figures

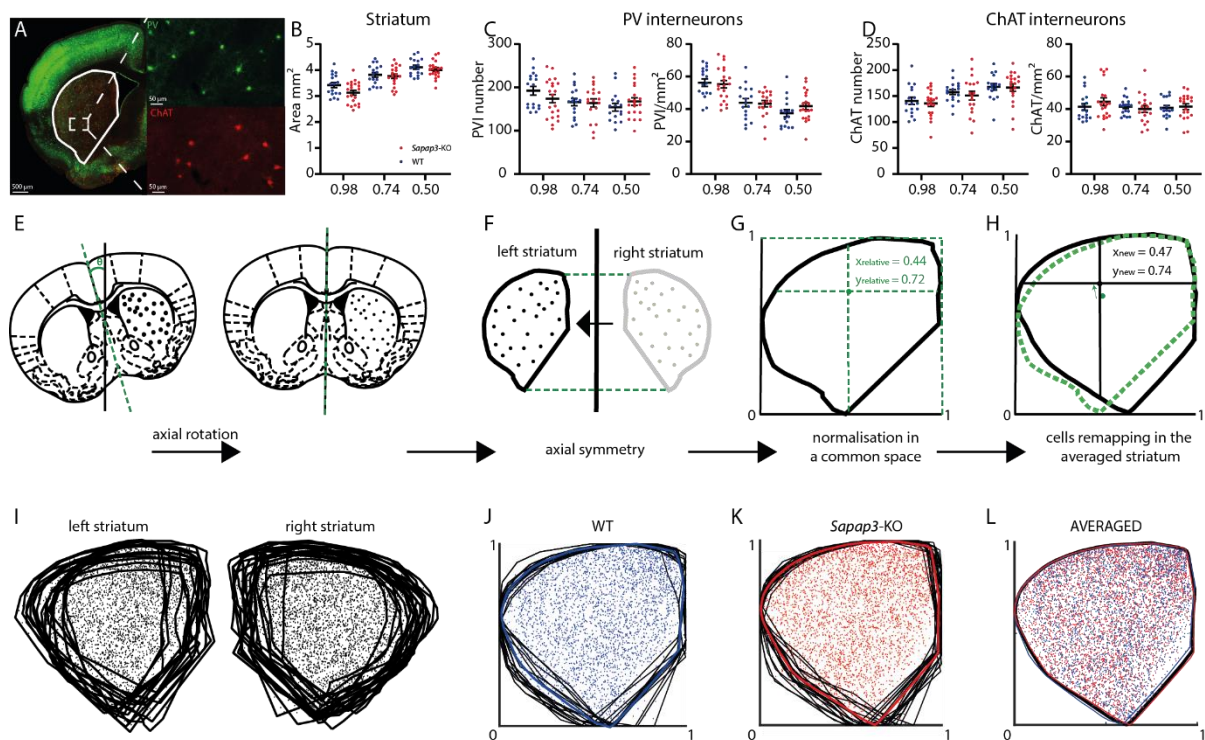


Figure 1. Anatomical homogenisation of striatal topology allowing for WT and *Sapap3-KO* mice group comparison. **A.** Co-immunolabeling of PV and ChAT interneurons. The white ROI represents the striatum delimitation based on the paxinos atlas and used for cell quantification. Three sections were selected (AP +0.98mm, +0.74mm, +0.50mm) **B.** Striatum area (mm²) for WT and *Sapap3-KO* mice for the three bregma levels along the antero-posterior axis. **C-D.** Absolute number and density of PV (C) and ChAT (D) interneurons in the striatum of WT and *Sapap3-KO* mice for the three bregma levels. **E.** Striatum and interneurons alignment by axial rotation. **F.** Transformation of the right hemisphere striatum and interneurons to a left-like hemisphere striatum by axial symmetry. **G.** Normalisation of the striatum and interneurons coordinates within a common space. Calculation of new interneurons coordinates relative to the normalised striatum. **H.** Interneurons remapping in a calculated averaged striatum. **I.** Example of raw data for PVI at Br. 0.98 of all left and right striatum before data homogenisation. **J-K.** Superimposed normalized interneurons and striatum of WT (J) and *Sapap3-KO* (K) mice and the calculated averaged striatum (thicker coloured line) for WT and *Sapap3-KO* mice. **L.** Remapping of all interneurons independently of the mouse group in the averaged striatum (black line) allowing for group comparison. Transparent blue and red lines represent the averaged striatum of WT and *Sapap3-KO* mice respectively.

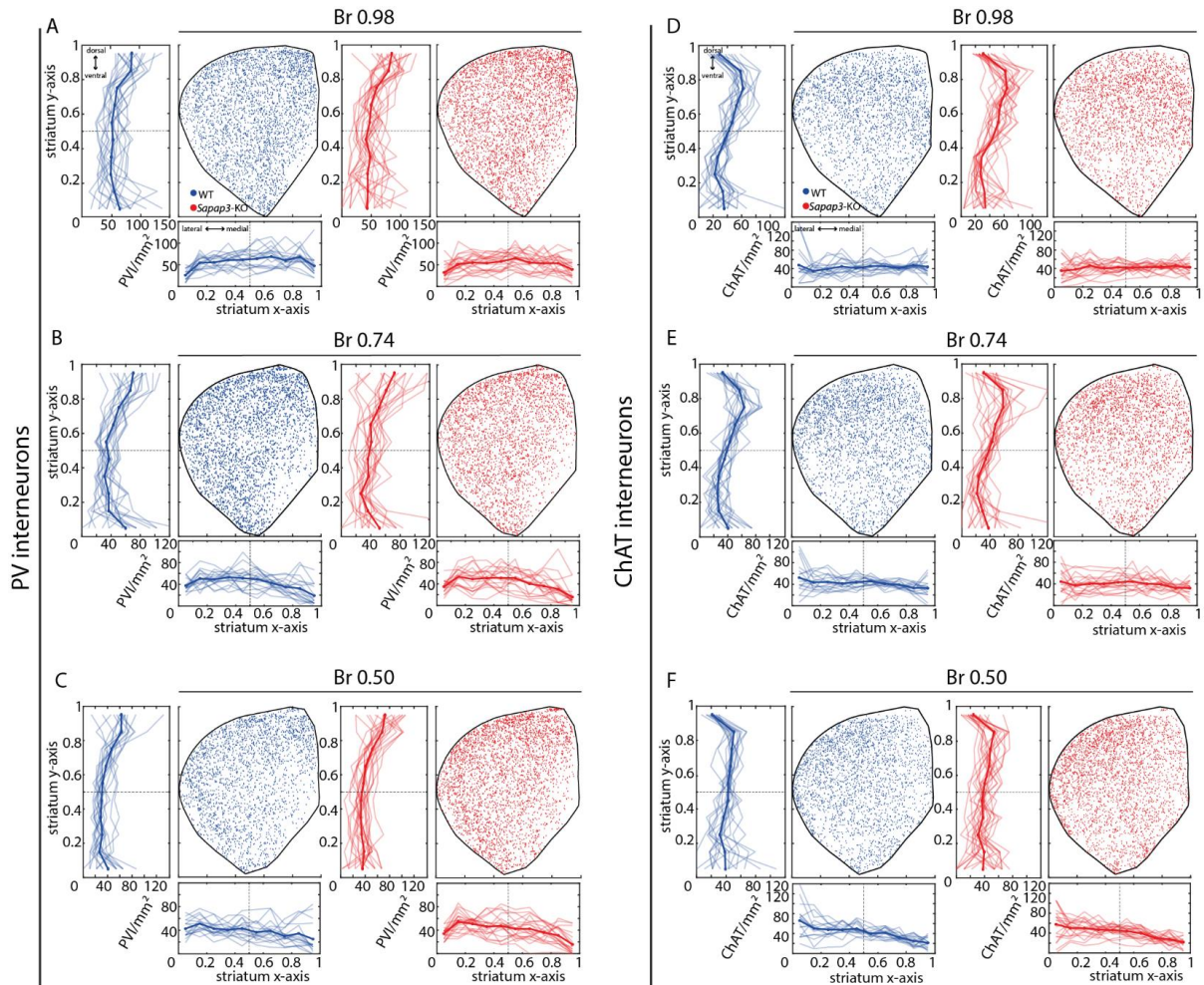


Figure 2. PV and ChAT interneurons distribution in WT and *Sapap3*-KO mice along the dorso-ventral and latero-medial axes. A-C. Cumulative scatter plot of PV interneurons localization in the striatum in WT (blue) and KO (red) mice for Br 0.98 (A), Br 0.74 (B) and Br 0.50 (C). Vertical and horizontal boxes represent the distribution of interneurons density along the dorso-ventral (y) axis and the medio-lateral (x) axis respectively. Each transparent line represents one mouse, and the dark lines represent the group mean. **D-F.** Same representation for ChAT interneurons distribution.

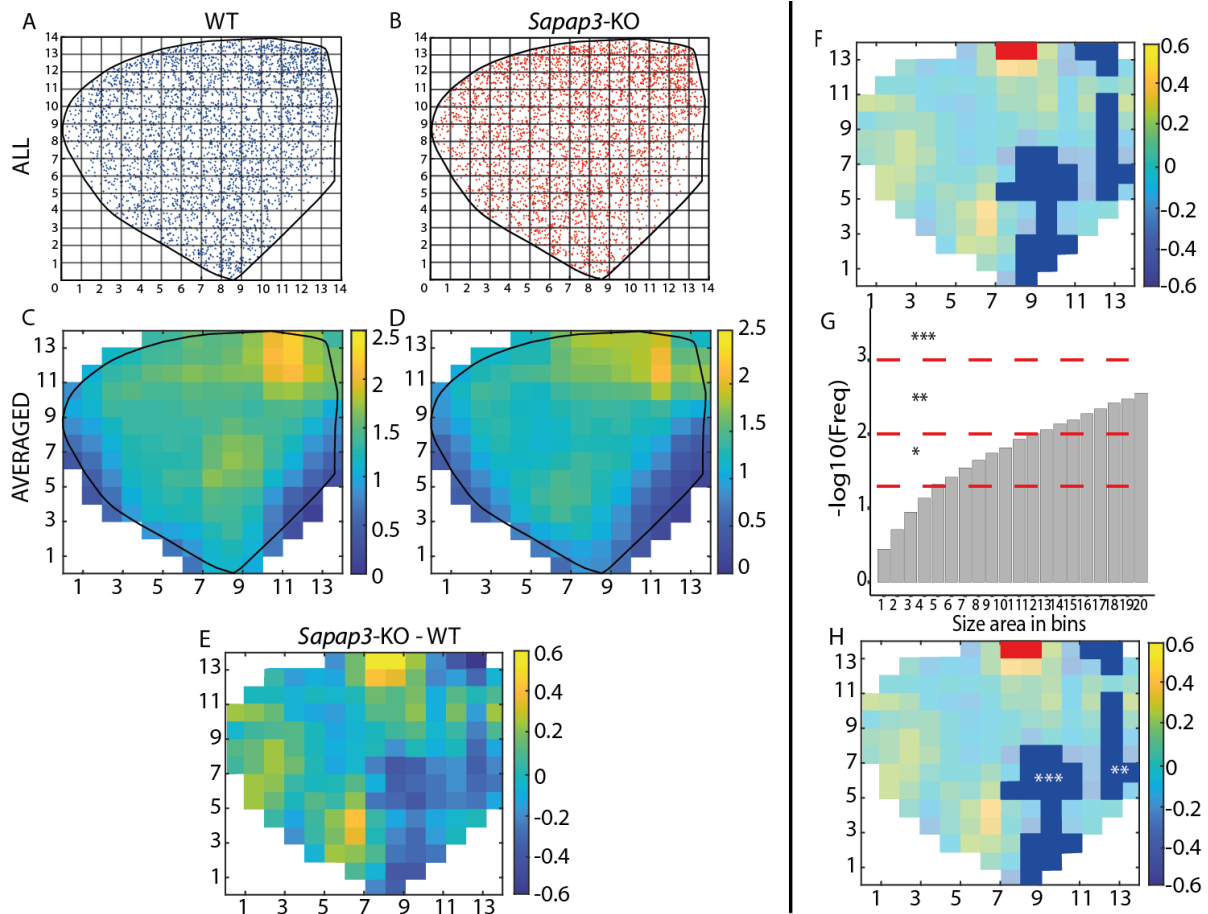


Figure 3. Heatmap generation allowing the unsupervised detection of the difference in interneurons density in the striatum between WT and *Sapap3*-KO mice. **A, B.** Representation of the averaged striatum (Br 0.98) with the superimposition of PV interneurons from all WT mice (n=17, A) and all *Sapap3*-KO mice (n=21, B). Lines represent the striatum segmentation in a chosen number of bins. **C, D.** Averaged heatmap of PV interneurons density in the WT (C) and in the *Sapap3*-KO (D) groups. Each bin was averaged by the number of mice from each group. **E.** Representation of the comparative heatmap of differences. Each bin from the *Sapap3*-KO averaged heatmap was subtracted with the corresponding bin of the WT averaged heatmap. **F.** In dark blue and red are represented the bins with a density smaller (blue) or greater (red) than at least 25% difference with the according bin of the WT averaged. **G.** Representation of the size areas frequency obtained after permutation test. **H.** Cluster of bins statistically different between the two groups.

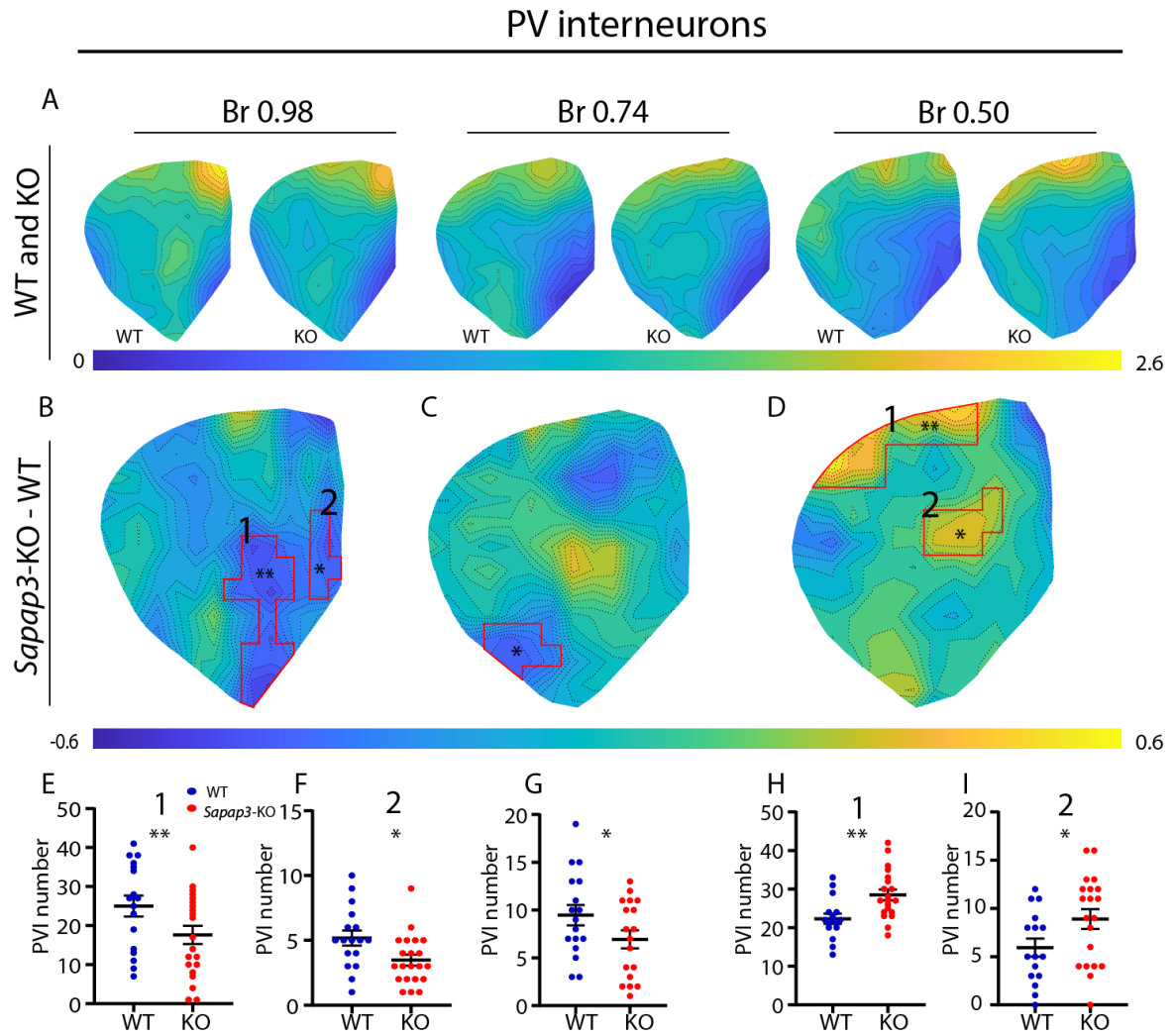


Figure 4. Altered PV interneurons density in the *Sapap3*-KO striatum. **A.** Averaged density heatmap for the WT and *Sapap3*-KO mice group for the three bregma levels. **B-D.** Comparative heatmap of differences between both groups for the three bregma levels. The red line shows the significant areas of different density between both groups. **E-I.** Absolute number of PV interneurons per animal in the detected areas (same superficies) in both groups for bregma levels Br 0.98 (E, F), Br 0.74 (G), and Br 0.50 (H, I).

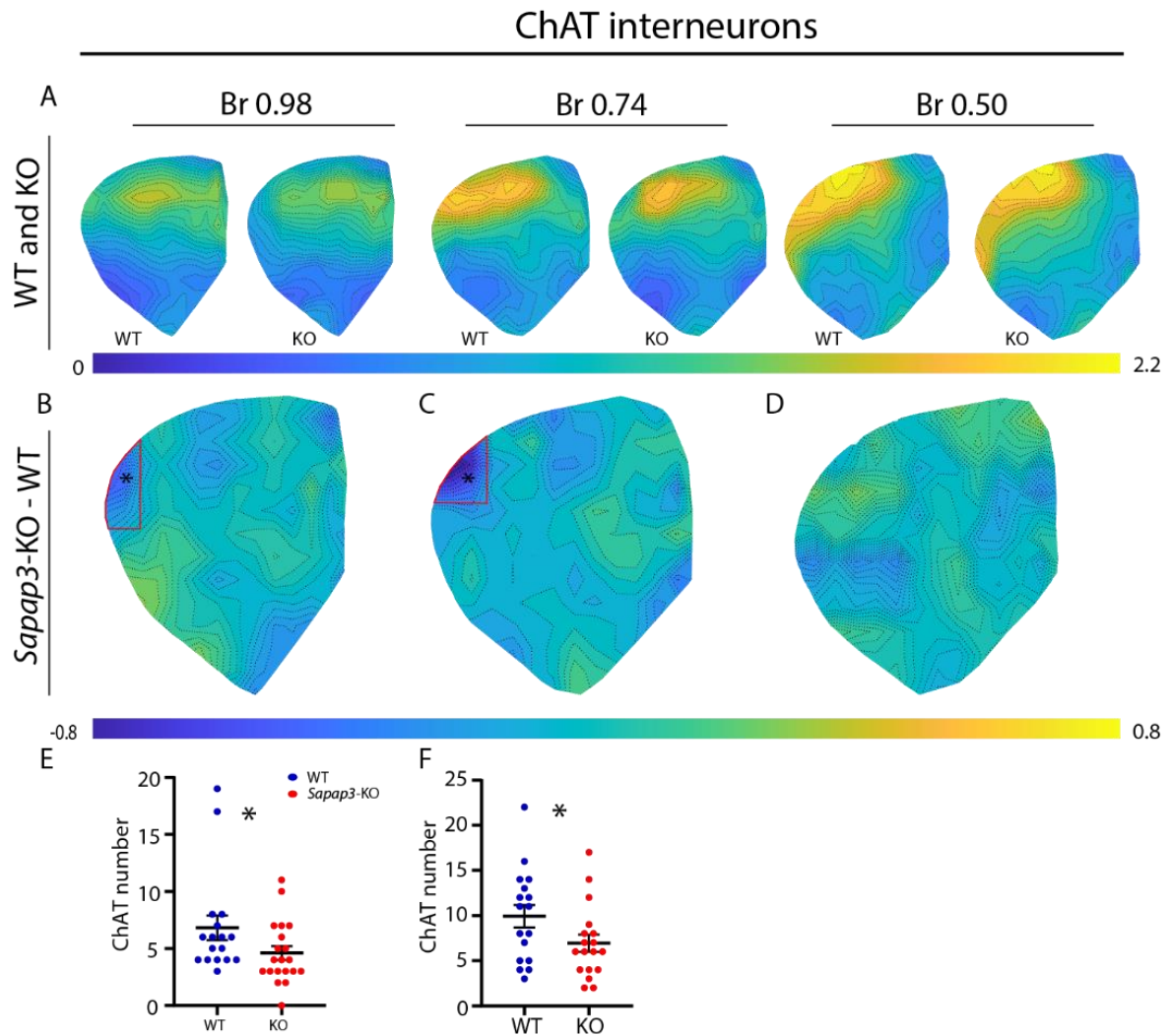


Figure 5. Decreased ChAT interneurons density in the *Sapap3*-KO dorso-lateral striatum. A. Averaged density heatmap for the WT and *Sapap3*-KO mice group for the three bregma levels. **B-D.** Comparative heatmap of differences between both groups for the three bregma levels. The red line shows the significant areas of different density between both groups. **E, F.** Absolute number of ChAT interneurons per animal in the detected areas (same superficialities) in both groups for bregma levels Br 0.98 (E), Br 0.74 (F).

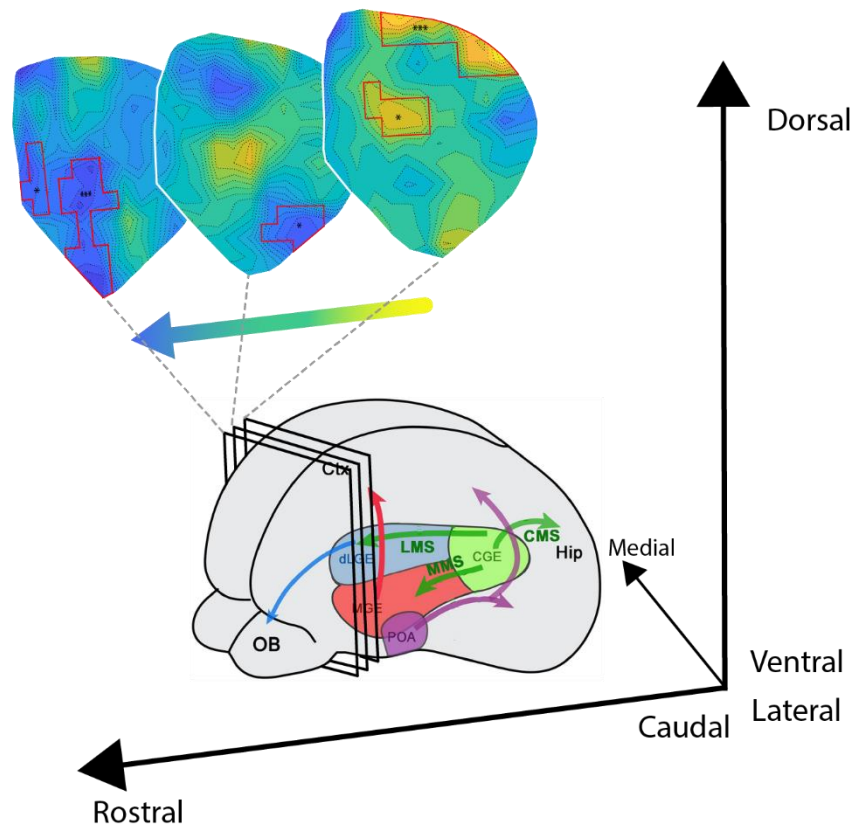
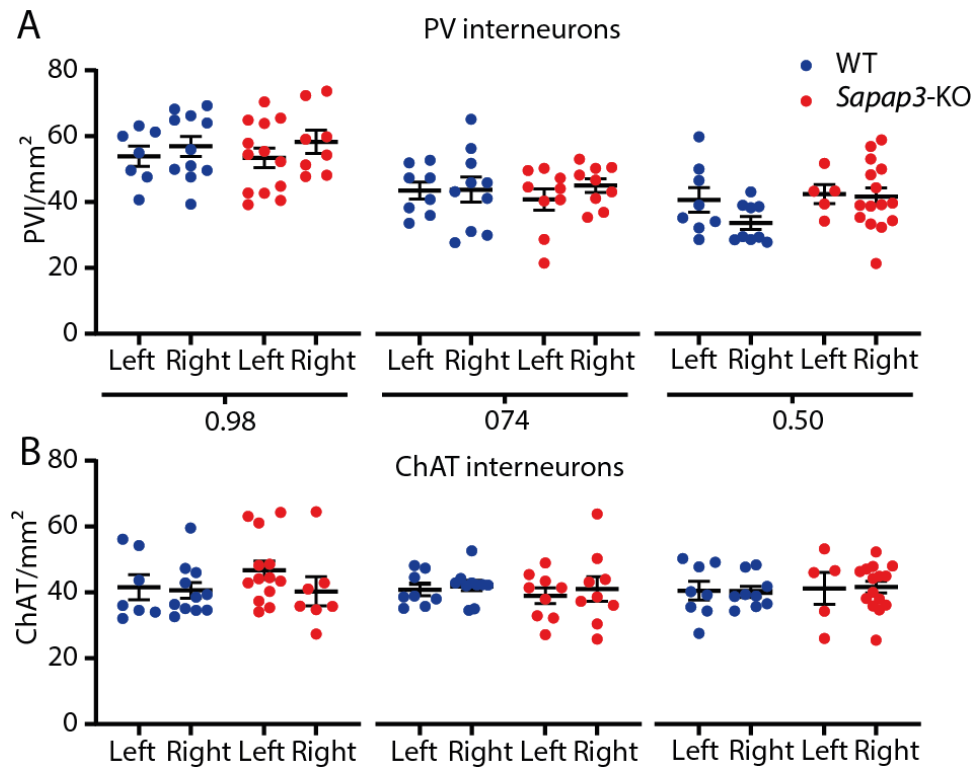


Figure 6. Proposed hypothesis explaining the altered interneuronal distribution in the striatum of the *Sapap3-KO* mouse model. During embryogenesis, interneurons are generated in the medial and caudal ganglionic eminence (MGE and CGE). Interneurons migrate following various migration stream, MGE-derived interneurons migrate dorsally and CGE-derived interneurons migrate caudally (CMS) but also laterally (LMS) and medially (MMS). (*Figure adapted from Touzot et al., 2016*).



Supplementary Figure 1. No difference of PV and ChAT interneurons density is observed between the left and right striatums. A. PV and ChAT (B) striatal interneurons density for the three bregma sections according to the group genotype and the selected side striatum used for density quantification.

	WILD TYPE			<i>Sapap3</i> -KO			Statistics
Bregma	n	Area (mm ²)	SEM	n	Area (mm ²)	SEM	Test
0.98	17	3.423	0.102	21	3.127	0.093	MannWhitney 0.064
0.74	17	3.818	0.094	18	3.764	0.089	MannWhitney 0.731
0.50	16	4.109	0.079	20	4.014	0.074	MannWhitney 0.442

Supplementary Table 1. No difference is observed in the striatal area between WT and *Sapap3*-KO group. The table reports the number of animals per group and per sections as well as the averaged area and SEM associated. The p-value of the associated statistical test is indicated in the last column.

		WILD TYPE					<i>Sapap3</i> -KO					Statistics	
	Br	n	Number	SEM	cells/mm ²	SEM	n	Number	SEM	cells/mm ²	SEM	Test Number	Test Density
PVI	0.98	17	192.4	9.95	56.25	0.026	21	174	9.7	55.31	0.023	0.15	0.75
	0.74	17	166	8.372	43.92	0.025	18	164	9.429	43.29	0.02	0.994	0.935
	0.50	16	154.3	8.867	37.50	0.022	20	167.5	8.663	41.87	0.021	0.226	0.62
ChAT	0.98	17	140.6	6.949	41.37	0.021	20	135.9	5.718	44.48	0.024	0.827	0.283
	0.74	17	157.7	4.947	41.46	0.012	18	150.8	8.692	40.02	0.022	0.666	0.463
	0.50	16	176.6	6.343	40.71	0.016	20	166.4	6.999	41.52	0.017	0.759	0.888

Supplementary Table 2. No difference observed in the total number nor the density of PV and ChAT interneurons between WT and *Sapap3*-KO mice group. The table reports per bregma section the average of the total number of striatal interneurons and the averaged striatal density per genotype. The p-values of the associated statistical tests are also indicated.

		WILD TYPE		<i>Sapap3</i> -KO		Statistics
	Br	Cells number	SEM	Cells number	SEM	Permutation test
PVI	0.98 (1)	25.0	2.708	17.62	2.355	p <0.01
	0.98 (2)	5.176	0.577	3.476	0.4232	p <0.05
	0.74	9.747	1.078	6.944	0.95	p <0.05
	0.50 (1)	22.31	1.328	28.50	1.413	p <0.01
	0.50 (2)	5.94	0.933	8.90	1.021	p <0.05
ChAT	0.98	6.824	1.082	4.60	0.609	p <0.05
	0.74	9.94	1.24	6.94	0.95	p <0.05
	0.50					

Supplementary table 3. Altered substriatal areas of PV and ChAT interneurons density were found between WT and *Sapap3*-KO mice. The table reports the averaged number of cells found in the substriatal regions where differences of interneuronal density were found. The p-values calculated following permutations test are indicated in the last column.

Contributions

OL, CS, EB conceptualized the research; OL, CS, YT conducted experiments; OL, BC, analyzed data; OL, EB wrote and edited the manuscript.

References

GE. Alexander *et al.*, Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex. *Annu Rev Neurosci* **25**, (1986).

A. Anticevic *et al.*, Global Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging Analysis Identifies Frontal Cortex, Striatal, and Cerebellar Dysconnectivity in Obsessive-Compulsive Disorder. *Biological Psychiatry* **75**(8), 595–605, (2014).

J. Bernácer, L. Prensa, and JM. Giménez-Amaya, Cholinergic Interneurons Are Differentially Distributed in the Human Striatum. *PLoS ONE* **2**(11):e1174 (2014).

S. Bohlhalter *et al.*, Neural Correlates of Tic Generation in Tourette Syndrome: An Event-Related Functional MRI Study. *Brain* **129**(Pt 8):2029–2037 (2006).

- E. Burguiere *et al.*, Optogenetic Stimulation of Lateral Orbitofronto-Striatal Pathway Suppresses Compulsive Behaviors. *Science* **340**(6137):1243–1246 (2013).
- E. Burguière *et al.*, Striatal Circuits, Habits, and Implications for Obsessive–Compulsive Disorder. *Current Opinion in Neurobiology* **30**:59–65 (2015).
- VL. Corbit *et al.*, Strengthened Inputs from Secondary Motor Cortex to Striatum in a Mouse Model of Compulsive Behavior. *Journal of Neuroscience* **39**(15):2965–2975 (2019).
- E. Fino *et al.*, Region-Specific and State-Dependent Action of Striatal GABAergic Interneurons. *Nature Communications* **9**(1):3339 (2018).
- AH. Gittis *et al.*, Distinct Roles of GABAergic Interneurons in the Regulation of Striatal Output Pathways. *Journal of Neuroscience* **30**(6):2223–2234 (2010).
- WK. Goodman *et al.*, Obsessive-Compulsive Disorder in Tourette Syndrome. *Journal of Child Neurology* **21**(8):704–714 (2006).
- AM. Graybiel, Habits, Rituals, and the Evaluative Brain. *Annual Review of Neuroscience* **31**(1):359–387 (2008).
- LC. Hadjas *et al.*, Projection-Specific Deficits in Synaptic Transmission in Adult Sapap3-Knockout Mice. *Neuropsychopharmacology* **45**(12):2020–2029 (2020).
- H. Hintiryan *et al.*, The Mouse Cortico-Striatal Projectome. *Nature Neuroscience* **19**(8):1100–1114 (2016).
- PSA. Kalanithi *et al.*, Altered Parvalbumin-Positive Neuron Distribution in Basal Ganglia of Individuals with Tourette Syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**(37):13307–13312 (2005).
- Y. Kataoka *et al.*, Decreased Number of Parvalbumin and Cholinergic Interneurons in the Striatum of Individuals with Tourette Syndrome. *Journal of Comparative Neurology* **518**(3):277–291 (2010).
- H. Kita *et al.*, Parvalbumin-Immunoreactive Neurons in the Rat Neostriatum: A Light and Electron Microscopic Study. *Brain Research* **536**(1–2):1–15 (1999).
- JR. Klug *et al.*, Differential Inputs to Striatal Cholinergic and Parvalbumin Interneurons Imply Functional Distinctions. *ELife* **7**:e35657 (2018).
- T. Koós *et al.*, Dual Cholinergic Control of Fast-Spiking Interneurons in the Neostriatum. *Journal of Neuroscience* **22**(2):529–535 (2002).
- Y. Ma *et al.*, Morphological Diversity of GABAergic and Cholinergic Interneurons in the Striatal Dorsolateral and Ventromedial Regions of Rats. *Cellular and Molecular Neurobiology* **34**(3):351–359 (2014).

N. Mallet, Feedforward Inhibition of Projection Neurons by Fast-Spiking GABA Interneurons in the Rat Striatum In Vivo. *Journal of Neuroscience* **25**(15):3857–3869 (2005).

J. Posner *et al.*, Reduced functional connectivity within the limbic cortico-striato-thalamo-cortical loop in unmedicated adults with obsessive-compulsive disorder. *Hum Brain Mapp.* **35**(6):2852-60 (2014).

S. Ramanathan *et al.*, Synaptic Convergence of Motor and Somatosensory Cortical Afferents onto GABAergic Interneurons in the Rat Striatum. *Journal of Neuroscience* **22**(18):8158–8169 (2002).

JM. Tepper *et al.*, Feedforward and Feedback Inhibition in Neostriatal GABAergic Spiny Neurons. *Brain Research Reviews* **58**(2):272–281 (2008).

H. Terra *et al.*, Prefrontal Cortical Projection Neurons Targeting Dorsomedial Striatum Control Behavioral Inhibition. *Current Biology* **30**(21):4188-4200.e5 (2020).

A. Touzot *et al.*, Molecular Control of Two Novel Migratory Paths for CGE-Derived Interneurons in the Developing Mouse Brain. *Development*: dev.131102 (2016).

V. Villar-Cervino *et al.*, Molecular Mechanisms Controlling the Migration of Striatal Interneurons. *Journal of Neuroscience* **35**(23):8718–8729 (2015).

Y. Worbe *et al.*, Neuroimaging of Tic Genesis: Present Status and Future Perspectives. *Movement Disorders* **30**(9):1179–1183 (2015).

M. Xu *et al.*, Targeted Ablation of Cholinergic Interneurons in the Dorsolateral Striatum Produces Behavioral Manifestations of Tourette Syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**(3):893–898 (2015).

CHAPITRE 5. LE RÔLE DES INTERNEURONES PV STRIATAUX DANS LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

5.1. MATÉRIELS ET MÉTHODES ; MISE EN PLACE, ACQUISITION ET ANALYSE D'ENREGISTREMENTS NEURONAUX PAR PHOTOMÉTRIE LORS D'UNE TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE EN COMPORTEMENT LIBRE

5.1.1. ANIMAUX

21 souris mâles PV-cre C57BL/6J ont été utilisées pour la mise en place et la validation de la tâche comportementale et 16 souris PV-cre C57BL/6J (12 mâles, 4 femelles) ont été utilisées pour les expériences de photométrie. Toutes les souris étaient hébergées à l'animalerie de l'Institut du Cerveau avec nourriture et eau *ad libitum* avant le début des expériences suivant un cycle de lumière jour/nuit de deux fois 12 h. Les souris étaient incluses dans le protocole expérimental à l'âge minimum de 4 mois. Au démarrage des expériences, les souris sont isolées et hébergées dans des chambres opérantes individuelles avec un accès à l'eau *ad libitum*. Les souris se nourrissent que des pellets obtenus pendant la tâche (20 mg AIN-76 rodent tablets, Test Diet) et en sont complémentées si nécessaire. L'élevage ainsi que les expériences ont été menées sur la plateforme PHENO-ICMice de l'Institut du Cerveau. Toutes les expériences ont été menées en accord avec les règles de bioéthiques françaises et européennes.

5.1.2. TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE EN COMPORTEMENT LIBRE DANS UNE CHAMBRE OPÉRANTE AUTOMATISÉE A HAUT RENDEMENT

5.1.2.1. La BEATBox : une chambre opérante automatisée à haut rendement pour l'étude comportementale de rongeurs

La BEATBox, pour BEhavioural and AuTonomous Box, est une chambre opérante développée par le laboratoire permettant la réalisation de tâches comportementales variées chez le rongeur. Ces chambres ont été conçues pour pallier les différents inconvénients que peuvent présenter les cages opérantes actuelles sur le marché (Euvrard, 2021; Benzina et al., 2021). Outre le très faible coût de production, l'expérimentateur a une maîtrise complète depuis la conception jusqu'à la réalisation des tâches comportementales. Ceci est possible grâce à la grande modularité de ces chambres ; en effet, il est très facile d'ajouter ou de retirer des modules et de les implémenter dans le logiciel (*Figure 22A*). Ceci m'a permis d'adapter leur design afin de répondre spécifiquement à ma problématique.

Ces chambres opérantes sont également entièrement automatisées. Les souris y vivent 7 jours sur 7, 24 h sur 24, permettant la réalisation de tâches comportementales sur de très longues durées (plusieurs semaines) et sans intervention de l'expérimentateur, assurant la collecte de plusieurs milliers d'essais par animal. Ceci permet un gain de temps considérable pour l'expérimentateur et surtout une manipulation minimale des animaux limitant leur stress. En vivant dans ces chambres automatisées, les souris travaillent à leur rythme, elles sont motivées par l'obtention de nourriture suivant leur besoin. Ce haut rendement de production de données et cet environnement écologique permettent de diminuer considérablement la variabilité inter- et intra-animal, particulièrement marquée dans toute tâche comportementale.

La chambre opérante est construite en plexiglas noir, à l'exception du toit qui est transparent, permettant ainsi de suivre les cycles lumineux de l'animalerie. Les dimensions sont de 330 x 290 x 305 mm, pour la hauteur, largeur et longueur. Elle est composée d'une mangeoire, qui distribue automatiquement un pellet lorsque son faisceau

infrarouge est rompu par le museau de la souris, d'un biberon d'eau, et de deux « tunnels » se faisant face dans lesquels se trouvent deux couples de LEDs infrarouges permettant de détecter le passage de la souris. Ces tunnels mesurent 5cm de large et se trouvent à 6cm de l'écran. La chambre comprend également un écran affichant le stimulus visuel, et deux « nosepokes » placés sur les parois de part et d'autre de l'écran. Ces deux nosepokes sont couplés à des LEDs infrarouges, qui permettent la détection de la réponse de la souris à l'aide de son museau (*Figure 22B-D*).

Une caméra placée sur le toit de la chambre permet la visualisation en temps réel de l'activité de la souris, et des LEDs sur le toit permettent le déclenchement d'un flash lumineux en cas de mauvaise réponse.

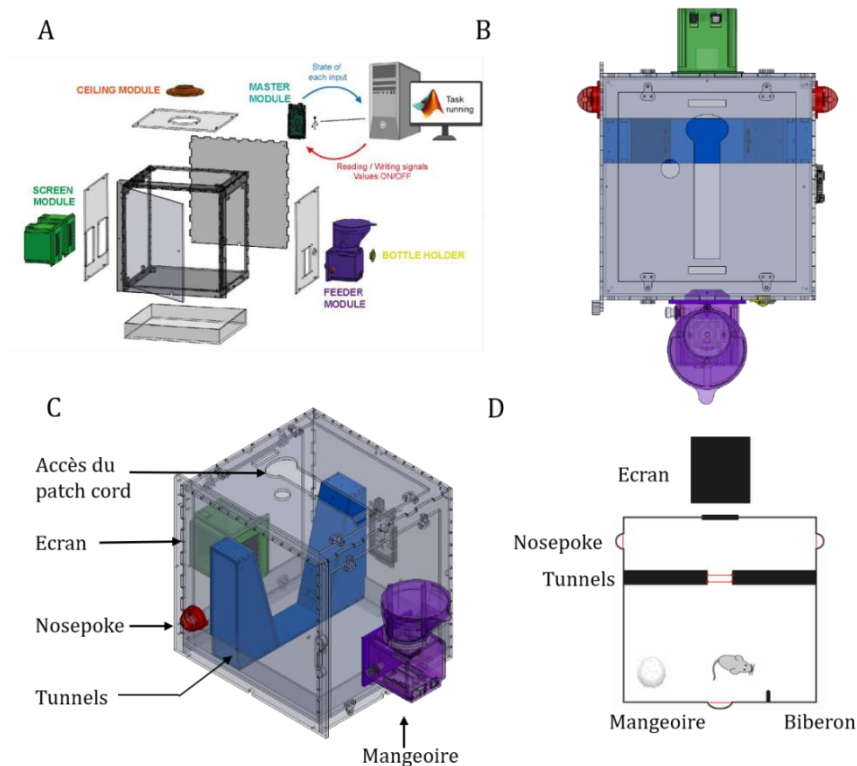


Figure 22. Descriptif de la BEATBox, une chambre opérante automatisée à haut rendement pour l'étude de la prise de décision perceptuelle chez le rongeur. A. Illustration de la modularité de la BEATBox permettant le développement de tâches comportementales variées. **B, C.** Vue de haut (B) et latérale (C) de la BEATBox avec les différents modules qui la composent. **D.** Schéma représentatif de la chambre opérante vue du haut avec ses différents modules. (*Figure 22A, Euvrard 2021*).

5.1.2.2. Tâche comportementale de prise de décision perceptuelle

1) Pré-entraînement : découverte de la boîte par la souris

Afin de familiariser l'animal avec le fonctionnement de la boîte, une première phase de pré-entraînement a lieu. Cette première phase a pour but de créer et de renforcer des associations entre action-outcome. L'enchaînement de plusieurs de ces associations permet *in fine* l'obtention de récompense.

La première étape consiste en la découverte de la mangeoire : lorsque la souris est placée dans la boîte, un pellet est distribué toutes les 30 secondes. Après la distribution de 30 pellets, le passage à la **deuxième étape** a lieu. Cette fois-ci, la souris doit placer son museau dans la mangeoire pour provoquer la distribution du pellet. L'obtention de 30 pellets déclenche le passage à la **troisième étape**, qui consiste en la découverte de l'utilisation des nosepokes pour répondre. Lorsque la souris nosepoke à droite ou à gauche, un pellet est automatiquement distribué, renforçant l'action de réponse à l'obtention d'une récompense. Si la souris réalise 15 fois cette association de manière consécutive avec comme critère de récupérer le pellet en moins de 15 secondes, alors la tâche de prise de décision perceptuelle peut commencer.

2) Paradigme de la tâche :

Niveau 1

Les souris doivent exécuter une tâche déterministe de prise de décision perceptuelle basée sur un stimulus visuel. Sur l'écran, lorsque les barres affichées sont verticales, la souris doit répondre à droite, lorsque les barres sont horizontales, la souris doit répondre à gauche. Ces contingences ou les contingences contraires sont attribuées de manière aléatoires pour chaque souris en début d'expérience (*Figure 23B*).

Pour réaliser la tâche, la souris initie un essai en rompant le premier faisceau infrarouge des tunnels. Un des deux stimulus apparaît sur l'écran et la souris doit déterminer quelle est la contingence gratifiante entre ce stimulus et le côté de réponse associé. Le stimulus reste affiché sur l'écran tant que l'un des deux couples de faisceaux infrarouges des tunnels est rompu par la présence de la souris. Lorsque la souris quitte les tunnels, l'écran s'éteint et la souris n'a plus accès à l'information (*Figure 23A*). De cette manière, la souris

est libre de choisir elle-même combien de temps elle reste exposée au stimulus. Depuis l'affichage du stimulus, la souris a 60 secondes pour répondre dans le nosepoke de gauche ou de droite.

Si la réponse est *correcte*, le stimulus est de nouveau affiché sur l'écran comme renforcement positif, et la souris a 15 secondes pour aller jusqu'à la mangeoire afin de déclencher la distribution d'une récompense. Si la réponse est *incorrecte*, un flash lumineux apparaît comme renforcement négatif. Si la souris donne une réponse correcte mais ne va pas chercher sa récompense, l'essai est qualifié de « *récompense non collectée* », si la souris ne répond pas dans les 60 secondes, l'essai est annulé et comptabilisé comme « *essai non répondu* ». Enfin si la souris s'engage dans les tunnels mais en ressort sans donner de réponse dans les 60 secondes, l'essai est qualifié comme « *essai abandonné* ». Afin d'éviter un phénomène de latéralisation de réponse de la souris (persévérance de réponse d'un côté indépendamment du stimulus affiché), un système de « correction d'essai » a été mis en place. Lorsque la souris donne une mauvaise réponse, le stimulus suivant est automatiquement gratifiant pour le côté opposé par rapport au côté où la souris vient de répondre, afin de forcer l'animal à visiter les deux côtés.

Grâce aux différentes LEDs infrarouges détectant temporellement de manière précise la position de la souris dans la chambre, plusieurs paramètres sont ainsi enregistrés :

- le nombre total d'essais réalisés, le taux de chaque type d'essais réalisés, la durée d'exposition au stimulus (correspondant à la durée d'affichage du stimulus).
- la durée de déplacement de la souris pour répondre (correspondant à la durée entre la disparition du stimulus et la réponse de la souris dans le nosepoke).
- la durée du déplacement entre la réponse de la souris et l'obtention de sa récompense.

Lorsque la souris atteint un plateau de taux de réponse correcte, un minimum de 1000 essais est collecté avant de poursuivre au niveau 2 de la tâche.

Niveau 2

Ici, des niveaux de difficulté sont ajoutés à la tâche en variant le ratio du nombre de barres horizontales et verticales tout en conservant la même intensité lumineuse. La souris doit associer le stimulus avec le plus de barres orientées de la même façon avec un côté de

réponse. La difficulté 1 correspond à 100 % des barres orientées de la même manière, la difficulté 2 correspond à 70 % des barres orientées de manière verticales ou horizontales, et la difficulté 3 correspond à 50 % des barres orientées horizontalement et verticalement. Pour cette dernière difficulté, il est impossible pour la souris de déterminer quel est le côté récompensant. Les stimuli des différentes difficultés sont présentés à la souris de manière aléatoire au cours du niveaux 2 mais en nombre équilibré. Un minimum de 1000 essais par difficulté est collecté avant de terminer la tâche (Figure 23C).

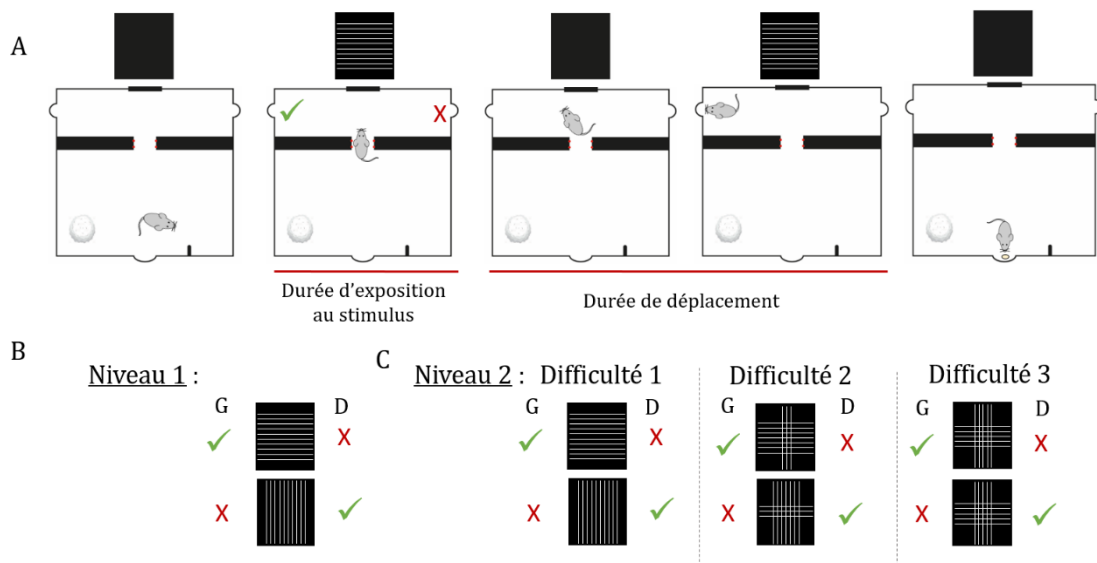


Figure 23. Tâche visuelle de prise de décision perceptuelle chez le rongeur. A. Déroulé de la tâche. Un essai est déclenché par la souris lorsque que celle-ci traverse les tunnels déclenchant l'apparition du stimulus sur l'écran. Le stimulus reste affiché tant que la souris reste entre les tunnels. Une fois que la souris s'engage dans une réponse, le stimulus disparaît. Ce temps d'exposition au stimulus est enregistré et utilisé comme proxy du temps de décision de la souris. La souris va ensuite donner sa réponse sur l'un des deux nose-pokes. Le temps passé entre la disparition du stimulus et la réponse de la souris est appelé durée de déplacement. Si la réponse est correcte, le stimulus est de nouveau affiché sur l'écran et la souris à 15 secondes pour se rendre à la mangeoire et obtenir une récompense. **B.** Contingence gratifiante pour le niveau 1. **C.** Ajout de niveaux de difficulté en modifiant le ratio de barres horizontales et verticales. G = gauche, D = droite.

5.1.2.3. Filtrage des données

Un filtrage des données est effectué pour le calcul des performances globales de la souris. Tout d'abord, les essais artéfactuels sont retirés. Il se peut qu'un morceau de coton ou de litière rompe les faisceaux infrarouges provoquant des durées de réponse aberrantes. Les essais dont la durée d'exposition au stimulus est inférieure à 300 millisecondes sont également retirés car ils sont la conséquence d'un clignotement artéfactuel de l'écran. Ensuite, les essais durant la journée (peu nombreux et majoritairement isolés), les essais non répondus, abandonnés, et dont la récompense n'est pas collectée, témoignant d'un engagement faible de la souris dans la tâche, sont supprimés. Enfin, un dernier filtrage est réalisé pour retirer les essais dont la durée d'affichage du stimulus excède la moyenne additionnée de 2 fois la déviation standard de l'affichage du stimulus. Seules les souris dont le taux de réponse correcte au cours de la tâche évolue de manière à dépasser 50 % de performance sont conservées pour analyse.

5.1.2.4. Détermination des différentes phases d'apprentissage du niveau 1

Pour chaque souris, un modèle de régression non linéaire est appliquée sur la série de données du taux de réponse correcte mettant en évidence une courbe sigmoïde. Une fonction de détection de coude par méthode des moindres carrés est ensuite appliquée (Dmitry Kaplan, 2022) permettant de mettre évidence 2 coudes sur la courbe :

- lorsque le taux de réponse correct commence à augmenter
- lorsque le taux de réponse correct se stabilise

Soit X correspondant à 20 % du nombre d'essai entre les deux coudes.

- **la première phase** dite naïve correspond aux essais jusqu'au premier coude auxquels sont soustrait les X derniers essais.
- **la deuxième phase** dite apprentissage tardif correspond aux X essais de part et d'autre du deuxième coude.
- **la troisième phase** dite plateau, correspond à tous les essais suivant les essais de la deuxième phase

La valeur de 20% a été choisie afin d'avoir un nombre suffisant d'essais permettant de limiter la variabilité intra-souris dans cette phase sans pour autant intégrer des essais où la souris serait surentraînée (comme lors de la phase plateau).

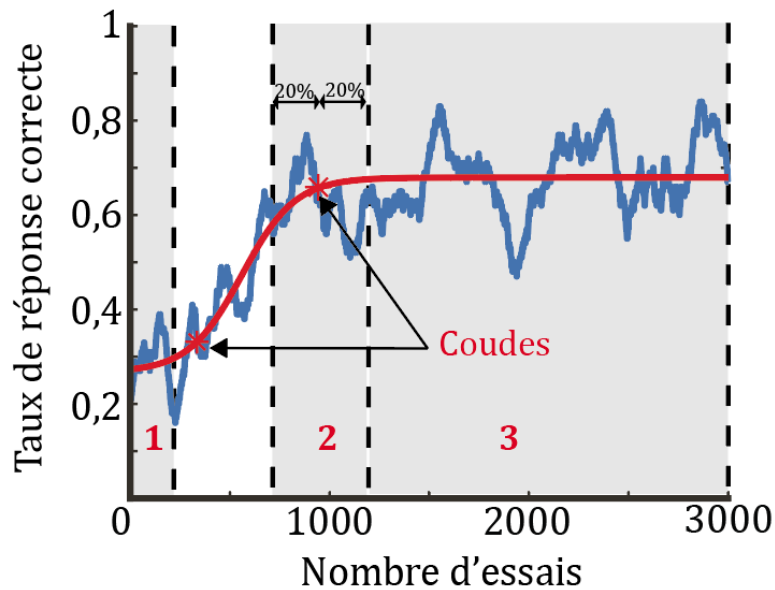


Figure 24. Méthodologie de détermination des différentes phases d'apprentissage du niveau 1. Un modèle de régression non linéaire permet d'obtenir la courbe sigmoïde d'apprentissage (rouge). La détection des coudes est ensuite appliquée par méthode des moindres carrés permettant ensuite de définir les différentes phases d'apprentissage.

1 = naïve, 2 = apprentissage tardif, 3 = plateau.

5.1.3. MESURE SPÉCIFIQUE DE L'ACTIVITÉ DES INTERNEURONES PV STRIATAUX LORS DE LA TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

5.1.3.1. Stratégie virale et implantation de fibre optique

De la buprenorphine (Buprecare ®, MedVet, 0,3 mg / mL diluée à 0,1 mg / mL) est administrée par injection intrapéritonéale à la souris 20 minutes avant le début de la chirurgie en analgésie pré-opératoire. La souris est ensuite anesthésiée dans une chambre d'induction fermée avec 2,8 % d'isoflurane (flux 300 mL/min, Iso-Vet), puis placée sur un appareil stéréotaxique et maintenue anesthésiée avec 1 à 2 % d'isoflurane. La tête de la souris est fixée grâce à des barres d'oreilles et un repose-dents, et les yeux protégés avec du gel oculaire (Lubrithal). La peau de la souris est ensuite rasée et désinfectée avec de la bétadine et incisée au scalpel. Après nivellement du crâne à l'aide des marqueurs anatomiques lambda et bregma, une craniotomie unilatérale est réalisée permettant l'insertion de l'aiguille métallique de la seringue Hamilton 10 µl (Phymep) et l'injection du virus. Les souris sont injectées unilatéralement (n=9 souris injectées dans l'hémisphère droit, n=7 souris injectées dans l'hémisphère gauche) avec 400nL du virus recombinant AAV9-syn-DIO-jGCamp7f-WPRE (1 x 10¹³ vg/mL ; Addgene) à une vitesse de 150nL/min dans le striatum dorso-central aux coordonnées suivantes : antéro-postérieure = +0,74 mm, médio-latérale = +1,3 mm, dorso-ventrale (depuis la surface du cerveau) = -2,5 mm. L'aiguille est maintenue en place pendant 5 minutes après injection. Une fibre optique (400 µm de diamètre, NA 0,57; Doric Lenses) est ensuite implantée dans le cerveau de la souris (AP = 0,74, ML = 1,3, DV = -2,2) et fixée grâce à du ciment dentaire disposé autour de micro-vis préalablement accrochées sur le crâne.

A la fin de la chirurgie, la souris est réhydratée par injection sous cutanée de 0,9 mL de solution saline stérile (NaCl, 0,9 %). La souris est ensuite isolée dans une cage d'hébergement pendant 3 semaines permettant l'expression suffisante du virus avant d'être placée dans une chambre opérante pour expérimentation.

5.1.3.2. Enregistrement de l'activité des interneurons PV

L'acquisition et l'enregistrement en temps réel du signal calcique sont réalisés grâce au système « Basic Fiber photometry system » de Doric Lenses. Deux LEDs à 470 nm (fluorescence dépendante du calcium) et 405 nm (fluorescence indépendante du calcium) sont modulées à des fréquences de 531 Hz et 211 Hz respectivement pour éviter toute contamination provenant d'autres sources lumineuses. Le signal de ces LEDs passent à travers un mini cube (Doric Lenses) connecté à un patch cord à basse autofluorescence (400 μm , NA, 0,57 ; Doric Lenses). Le patch cord est couplé à la fêrule de la fibre optique de la souris. Afin de diminuer l'émission d'autofluorescence des câbles, ceux-ci sont traversés par un signal des LEDs à haute intensité pendant 4 h avant le début des expériences. A l'aide du contrôleur de LEDs, l'indicateur calcique exprimé dans les interneurons PV est excité à une intensité entre 10 et 60 μW pour chaque longueur d'onde. En retour, le signal collecté par la fibre optique est transporté jusqu'au mini cube, filtré à 550 nm grâce à un miroir dichroïque, puis projeté sur un photorécepteur (Newport). Le signal est démodulé en temps réel par « lock-in amplification » et filtré grâce à un filtre passe-bas (12 Hz). Les données sont enregistrées via le logiciel Doric Studio pour des analyses hors-ligne. Un TTL provenant du système photométrique est envoyé et enregistré en temps réel au logiciel d'acquisition des données comportementales de la chambre opérante toutes les 30 secondes, permettant la synchronisation du signal photométrique avec les évènements comportementaux de la souris.

Afin d'habituer les souris à être connectées et déconnectées du patch cord lors des enregistrements et ainsi minimiser le stress infligé et l'association négative qui pourrait être due au patch cord, les souris sont habituées à être manipulées et maintenues immobilisées à l'aide d'une main et sans contention. Une semaine avant le début des expériences, les souris sont quotidiennement habituées à la présence des mains de l'expérimentateur, les souris sont ensuite maintenues immobiles entre deux mains, puis une seule main tout en maintenant la tête de la souris doucement.

Les souris sont connectées avec un patch cord (sans enregistrement) dès leur entrée dans la chambre opérante afin de les habituer à se déplacer et à se familiariser avec les

différents modules de la chambre tout en étant connectées. Afin de continuer l'habituation, sans pour autant inhiber leur comportement et l'apprentissage de la tâche, les souris sont connectées au patch cord entre 3 et 5 h par jour. Le début des enregistrements se fait dès que la souris commence le niveau 1 de la tâche.

5.1.3.3. Analyse du signal calcique

Un ensemble d'étapes de post-traitement est appliqué sur le signal enregistré lors d'une session avant de pouvoir le corrélérer avec le comportement de l'animal. Tout d'abord les données sont sous-échantillonnées d'un facteur 10. Un ajustement polynomial sur le signal contrôle est appliqué pour l'ajuster au signal calcium-dépendant. La variation de fluorescence (DF/F) est ensuite calculée pour chaque pas de temps comme suit :

$$DF/F = \frac{F_{470nm} - F_{405nm \text{ ajusté}}}{F_{405nm \text{ ajusté}}}$$

Un Zscore du signal est ensuite calculé à l'échelle de l'essai individuel. Pour ce faire, le signal DF/F de l'ensemble de la session est segmenté pour chaque essai : 7 secondes avant initiation de l'essai (apparition du stimulus sur l'écran lorsque la souris croise la première série de LED entre les tunnels), jusqu'à 5 secondes après le dernier évènement de l'essai.

$$Zscore_{essai(n)} = \frac{DF/F - \text{moyenne}(DF/F_{baseline})}{std(DF/F_{baseline})}$$

La baseline correspond au signal entre -7 et -5 secondes précédant l'initiation de l'essai. Le signal est ensuite lissé sur une fenêtre glissante de 20 pas correspondant à 0,41 secondes. Enfin, afin de pouvoir comparer les amplitudes inter-essais, une correction dynamique de la baseline est appliquée en soustrayant la moyenne du Zscore de la baseline à l'ensemble du signal de l'essai.

Pour l'analyse du signal relatif aux différents évènements d'un essai, le signal de chaque essai est aligné sur l'évènement comportemental d'intérêt. Cet alignement est nécessaire car l'intervalle temporel entre les différents évènements n'est pas fixe et varie en fonction du comportement de l'animal. Une fois les signaux des essais alignés, un signal moyenné est alors calculé.

5.1.3.4. Analyse corrélacionnelle entre comportement et activité neuronale

L'enregistrement de l'activité neuronale par photométrie est effectué une fois que les souris ont passé avec succès le pré-entraînement et entrent dans le niveau 1 de la tâche. Les enregistrements sont réalisés à une fréquence maximale d'un enregistrement tous les deux jours pendant une durée maximale de 45 minutes par session. Les sessions sont ensuite catégorisées selon les phases d'apprentissage préalablement définies (voir 5.1.2.4. *Détermination des différentes phases d'apprentissage du niveau 1*) puis sont regroupées lorsque les sessions se trouvent dans la même phase d'apprentissage.

5.1.4. VÉRIFICATION POST MORTEM DE L'EXPRESSION VIRALE DANS LE STRIATUM CENTROMÉDIAL

Afin de vérifier la spécificité d'expression du virus dans les interneurons PV ainsi que sa localisation correcte dans le striatum dorso-central, le marquage de la protéine GCaMP a été réalisée par immunohistochimie en fin d'expérience.

5.1.4.1. Perfusion

Les souris sont profondément anesthésiées à l'aide de pentobarbital (0,01 mg/kg ; euthasol) et perfusées transcardiaquement avec du chlorure de sodium froid à 0,9 % suivi de paraformaldéhyde (PFA) à 4 %. Les cerveaux sont ensuite extraits du crâne et conservés pendant une nuit dans du PFA à 4 % à 4°C avant d'être déshydratés dans du sucrose à 30 %. Les cerveaux sont ensuite congelés à l'aide de carboglace et des sections coronales de 40 µm d'épaisseur sont obtenues avec un microtome à congélation.

5.1.4.2. Immunohistochimie

Les sections de cerveau sont lavées 3 fois dans du tampon phosphate salin (PBS) pendant 10 minutes, suivies de 3 bains perméabilisant de Tween 0,1 % et de Triton 0,2 % dans du PBS (PBST) de 10 minutes. Le blocage est effectué pendant 2 heures à température ambiante dans du PBST avec 5 % de sérum d'âne et de chèvre. Les sections sont ensuite incubées pendant une nuit à 4°C avec un anticorps anti-GFP de poulet (1/1000, 2BScientific) et un anticorps anti-parvalbumine de cochon d'inde (1/1000, Swant).

Le lendemain, les sections sont lavées 3 fois dans du PBST avant 2 heures d'incubation avec un anticorps anti-poulet produit chez l'âne et couplé à un AlexaFluor 647 (1/800, Thermofisher) et un anticorps anti-cochon d'inde produit chez la chèvre et couplé à un AlexaFluor 488 (1/1000, Thermofisher) à température ambiante et recouvert d'une feuille d'aluminium. Les coupes sont ensuite lavées 2 fois avec du PBST et une fois avec du PBS. La coloration des noyaux est effectuée en utilisant une solution de DAPI (10 µg/ml) pendant 2 minutes, puis les sections sont lavées 3 fois avec du PBS. Les sections sont montées avec du Fluoromount-G (Southern Biotech) et imagées le jour suivant à l'aide d'un scanner de lame (Nanozoomer).

5.1.5. STATISTIQUES

Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide de codes Matlab (R2017b, The Mathworks) fait sur mesure excepté pour la détection de coude sur les courbes d'apprentissage et sur le signal des interneurons PV (knee point function, Dmitry Kaplan, 2022). Les figures ont été produites avec Matlab ou GraphPad Prism (version 9.3.1, GraphPad Software), et les statistiques ont été faites à l'aide de GraphPad Prism.

Du aux faibles nombres d'animaux, nous avons réalisés des tests non-paramétriques. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne suivi des valeurs minimales et maximales du groupe. La significativité des résultats concernant les taux des différentes performances a été testée par rapport à une médiane théorique de 1 selon un Wilcoxon signed rank test. La comparaison entre deux groupes appariés a été faite par un test de Wilcoxon matched-pairs signed rank. Les résultats sont considérés comme statistiquement significatifs lorsque la p-value est inférieure à 0,05 et lorsqu'une p-value exacte peut être calculée, elle est indiquée p= .

5.2. RÉSULTATS ; CONCEPTION ET MISE EN PLACE D'UNE TÂCHE INNOVANTE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

Aujourd'hui, l'utilisation du rongeur est de plus en plus prometteuse dans l'étude de la prise de décision perceptuelle (Carandini et Churchland, 2013). Cependant, la mesure précise de ce processus cognitif reste un défi, particulièrement lorsque la souris évolue dans un environnement libre de ses mouvements. Il existe encore peu de tâches comportementales standardisées permettant d'étudier le processus décisionnel sans imposer de contrainte expérimentale à la souris. Ces contraintes physiques, ou liées aux instructions de la tâche, peuvent induire des facteurs confondants au processus décisionnel (voir 2.1.2. *Capter de manière optimale le processus de prise de décision à l'aide de tâches comportementales*).

Dans notre équipe, le développement des BEATBox a permis non seulement la mise en place de tâches comportementales automatisées mais de concevoir une tâche comportementale répondant spécifiquement à nos besoins.

En s'appuyant sur une tâche de prise de décision perceptuelle précédemment conçue dans notre équipe, mais qui ne permettait pas la dissociation du temps de décision de la souris avec le temps de réponse, nous avons développé une nouvelle tâche comportementale permettant de dissocier ces deux processus cognitif et moteur.

5.2.1. ISOLER LE TEMPS DÉCISIONNEL DE LA SOURIS

5.2.1.1. Protocol conceptuel

Afin de pouvoir capturer le processus décisionnel du sujet dans une tâche comportementale en mouvement libre, plusieurs critères doivent être pris en compte, puis implémentés physiquement dans la chambre opérante :

- 1) Tout d'abord, il est nécessaire de déterminer précisément l'instant où la souris commence à observer le stimulus. Pour cela, nous avons conçu la tâche de manière que la

souris initie elle-même un essai en rompant le premier faisceau infrarouge des tunnels, provoquant une exposition immédiate et imposée au stimulus.

2) Ensuite, il est nécessaire que la souris décide d'elle-même combien de temps elle souhaite être exposée au stimulus et que ce temps soit quantifiable par l'expérimentateur. Nous avons réalisé cela grâce aux deux faisceaux infrarouges présents sur les tunnels. Tant que l'un des deux faisceaux est rompu par la souris, le stimulus reste affiché sur l'écran, la souris lui faisant face. Si la souris se désengage de l'essai ou s'engage vers une réponse, celle-ci quitte les tunnels, le stimulus disparaît, et la souris n'a plus accès à l'information (*Figure 25*). Le temps d'affichage du stimulus est alors utilisé comme proxy du temps de décision.

3) Enfin, pour mesurer le temps décisionnel, il est important de pouvoir considérer que la décision a été prise lorsque la souris quitte les tunnels pour poursuivre l'essai. Pour cela, en plus de ne plus avoir accès à l'information, les tunnels ont été placés suffisamment proche de l'écran, obligeant la souris à orienter son déplacement vers l'un des deux choix de réponse dès lors qu'elle quitte les tunnels. De plus, les lieux de réponse sont espacés de manière que le déplacement de la souris représente un certain effort, afin de la décourager de naviguer entre les deux ports de réponse.

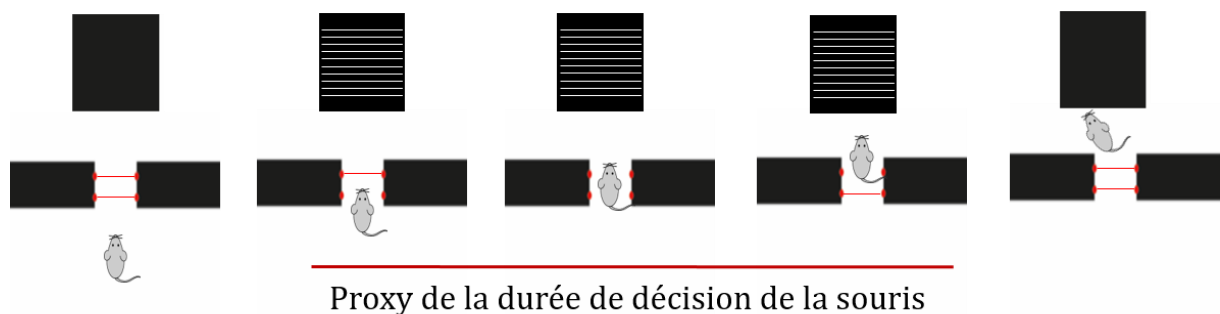


Figure 25. La durée du temps d'exposition au stimulus comme proxy de la durée de décision de la souris. La souris initie un essai quand le premier faisceau des LEDs infrarouge des tunnels est rompu. Ceci provoque l'apparition du stimulus visuel. Le stimulus reste affiché à l'écran tant que l'un des deux faisceaux est rompu. Lorsque la souris s'engage pour donner une réponse, le stimulus disparaît et la souris ne peut plus avoir accès à l'information passée.

5.2.1.2. Variation de la durée décisionnelle

L'incertitude est un paramètre souvent mis en jeu dans l'étude de la prise de décision (Kepecs et al., 2008). Deux contextes sont susceptibles de faire varier l'incertitude et donc potentiellement la durée de prise de décision.

D'une part lors du processus d'apprentissage (ignorance entre stimulus-outcome) : après l'apprentissage des contingences gratifiantes, le sujet est devenu expert et les associations sont renforcées, l'incertitude est donc moindre ce qui se traduit alors par une diminution des temps de réaction (Farashahi et al. 2018). Nous nous attendons alors à observer une diminution du temps de décision propre à chaque souris entre les phases naïves et les phases expertes.

D'autre part en ajoutant du bruit à l'information sensorielle : il est possible d'augmenter le niveau d'incertitude du sujet en faisant varier le bruit du stimulus sensoriel, ce qui ajoute des niveaux de difficulté à la tâche de prise de décision. Pour cela, deux nouveaux stimuli avec un ratio de barres horizontales et verticales différents ont été ajoutés au stimulus de **difficulté 1** déjà existant :

- **la difficulté 2** (70 % de barres sont horizontales et 30 % sont verticales, ou inversement),
- **la difficulté 3** (50 % des barres sont horizontales et verticales).

Nous nous attendons alors également à des variations du temps décisionnel en fonction de ces trois niveaux de difficulté (Ding et Gold, 2010).

Si cette tâche permet de mesurer des variations temporelles de prise de décision, elle présente cependant quelques faiblesses qu'il est nécessaire de prendre en compte. Comme de nombreuses tâches comportementales, son exécution est soumise à la motivation intrinsèque de la souris. Cette motivation pouvant se refléter dans l'investissement de la souris à réaliser la tâche, nous effectuons donc un filtrage des données (voir 5.1.2.3. *Filtrage des données*) afin de ne conserver que les essais où la souris semble fortement engagée dans l'exécution de la tâche.

Le processus de mémoire de travail pourrait être un facteur cognitif confondant au processus de prise de décision car la souris n'a plus accès au stimulus lorsque celle-ci se

déplace pour répondre et doit donc se souvenir de son choix. Cependant, nous nous intéressons au processus décisionnel qui correspond précisément au moment d'exposition de la souris au stimulus et où la mémoire de travail ne devrait pas ou peu être impliquée.

Enfin, l'initiation de l'essai correspond également au début du processus décisionnel : un possible processus de préparation ou d'anticipation pourrait alors se superposer au début de l'intégration sensorielle et de la prise de décision. Pour pallier à ce problème, une manière d'analyser le signal serait de l'aligner sur la disparition du stimulus lorsque nous savons que cela correspond à la fin du processus décisionnel.

5.2.1.3. Réalisation matérielle

En se basant sur le modèle de BEATBox utilisé au laboratoire (Euvrard 2021) et avec l'aide d'un ingénieur travaillant au FabLab de l'ICM, nous avons apporté toutes les modifications nécessaires aux besoins de la nouvelle tâche. Nous avons dessiné et découpé au laser les façades en plexiglas pour insérer un écran et deux nosepokes. Nous avons ajouté une large ouverture au niveau du toit qui permet le passage du patch cord et une circulation aisée de la souris de part et d'autres des tunnels lors des enregistrements en photométrie. L'adaptation de l'emplacement de la caméra et des barrettes LEDs a été effectuée en conséquence. Les tunnels ont également été dessinés, découpés au laser, puis couplés aux LEDs infrarouges. Nous avons dessiné et imprimé en 3D les nosepokes de réponse. Ces nosepokes en résine sont couplés à des LEDs infrarouges afin de détecter le museau de la souris et sont protégés par un capuchon. Plusieurs modifications ont été apportées à la mangeoire afin d'optimiser la distribution de pellets (*Figure 26*). Tous les modules sont connectés à l'arduino méga de la chambre opérante permettant de détecter les différents états des faisceaux infrarouges (continus ou rompus). Ces états sont ensuite communiqués au logiciel utilisé pour coder les instructions de la tâche.

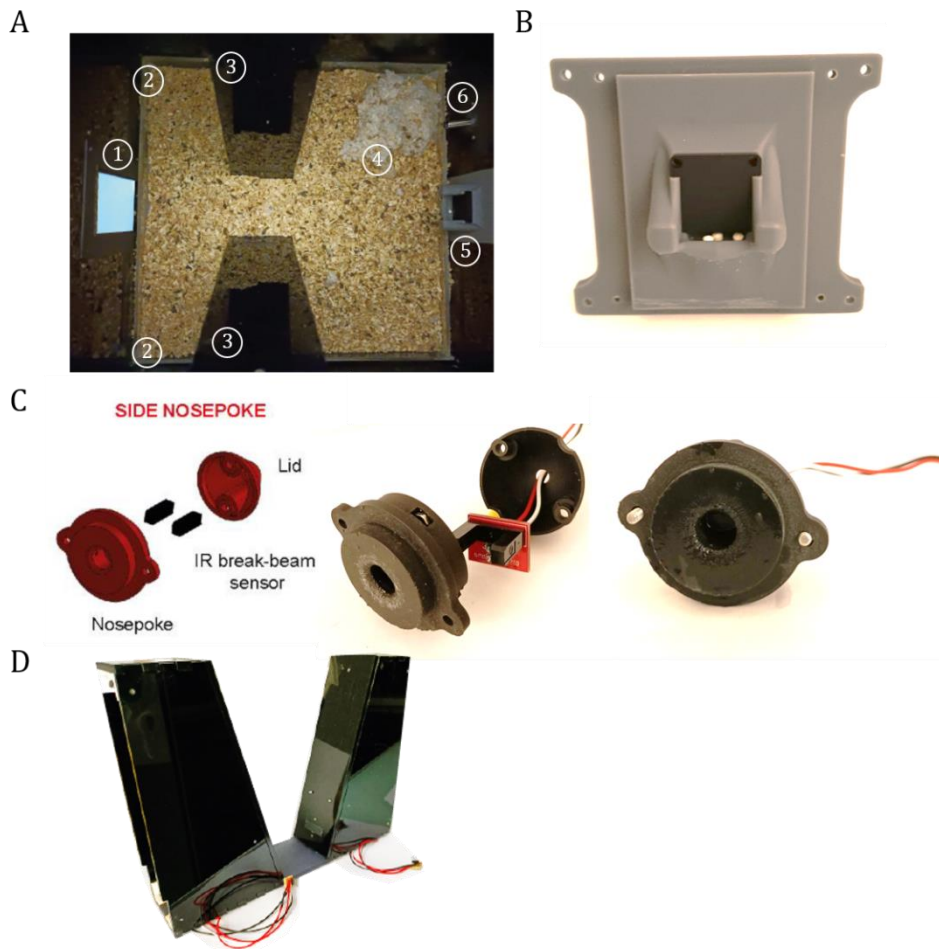


Figure 26. Conception et adaptation de la BEATBox aux besoins de la tâche comportementale. **A.** Vue d'en haut de l'intérieur de la chambre opérante avec ses différents éléments. 1. Ecran, 2. Nosepoke, 3. Tunnels, 4. Coton de nidation, 5, Mangeoire, 6. Biberon d'eau. **B.** Nouvelle façade de la mangeoire après optimisation permettant la distribution automatique de pellet. **C.** Conception du nosepoke de réponse et sa réalisation en impression 3D. L'insertion du nosepoke et de sa LED infrarouge dans la paroi de la chambre opérante permet de détecter la réponse de la souris. **D.** Conception et réalisation des tunnels en plexiglas couplés à deux LEDs infrarouges afin de détecter la position de la souris.

5.2.2. MISE EN PLACE DE L'ENREGISTREMENT PHOTOMÉTRIQUE

L'enregistrement de l'activité neuronale en mouvement libre chez la souris sans que son comportement soit gêné représente un certain défi. Il est important de minimiser cette gêne qui pourrait modifier les résultats comportementaux observés. Le comportement de la souris est vulnérable aux facteurs stressants environnementaux (manipulation par l'expérimentateur par exemple) mais aussi aux contraintes physiques imposées ici par le patch cord. J'ai tout d'abord construit des potences amovibles permettant de connecter plusieurs souris simultanément. Cette potence aide au maintien du patch cord depuis le mini cube, ainsi que son entrée de manière rectiligne dans la cage pour ne pas induire de force externe sur la tête de la souris. La longueur du câble est aussi un paramètre à optimiser. Un câble trop long provoque une force de pression sur la tête de la souris et pourrait compliquer la circulation de la souris autour des tunnels. D'un autre côté, un câble trop court empêche la souris d'atteindre tous les recoins de la cage et pourrait provoquer des blessures à la souris si celle-ci venait à tirer sur le câble (*Figure 27*).

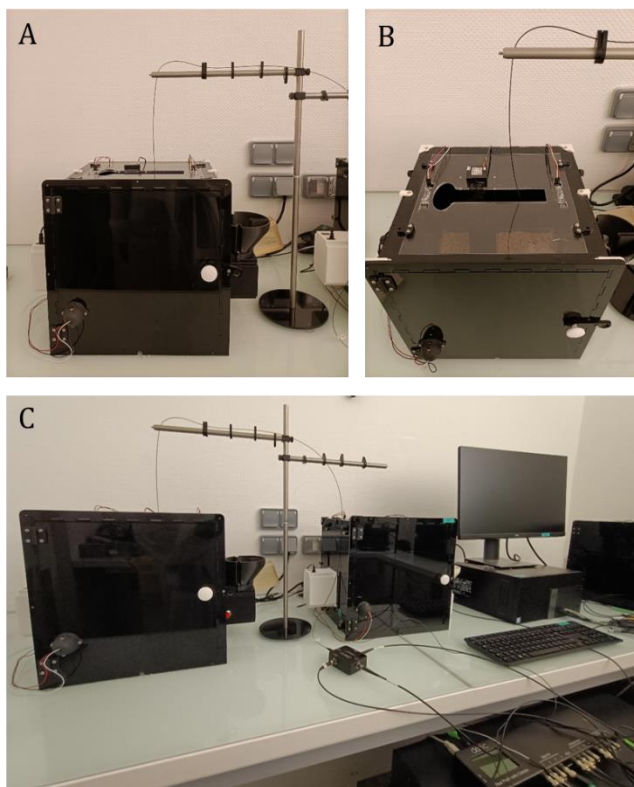


Figure 27. Mise en place expérimental. **A.** Vue de face de la chambre opérante et de la potence maintenant les patch cord de photométrie. **B.** Vue de haut de la chambre opérante. L'ouverture dans le toit permet le passage du patch cord et la mobilité de la souris. **C.** Cette installation permet l'acquisition comportementale de quatre souris en simultané et l'enregistrement en photométrie d'une souris.

5.3. VALIDATION EXPÉRIMENTALE DE LA TÂCHE COMPORTIMENTALE : VARIATION DU TEMPS DE DÉCISION EN CONTEXTE D'INCERTITUDE

5.3.1. DONNÉES COMPORTIMENTALES GLOBALES : LES SOURIS VIVENT EN AUTONOMIE DANS LES BEATBOX

Après avoir conçu et mis en place quatre chambres opérantes fonctionnelles en parallèle, répondant au besoin de la tâche, les objectifs suivants sont alors de :

- 1) confirmer la compréhension du fonctionnement de la chambre opérante par les souris,
- 2) confirmer l'apprentissage de la tâche et des contingences gratifiantes par les souris,
- 3) valider la mesure de la prise de décision par corrélation au contexte d'incertitude de la tâche.

5.3.1.1. Exécution de la tâche

Toutes les souris incluses dans le protocole (n=21) ont passé l'étape du pré-entraînement avec succès et ont ainsi démarré la tâche de prise de décision perceptuelle. Après quelques jours passés au niveau 1, plus aucune souris n'avait besoin d'être complémentée en pellet et réalisait en médiane entre 66 et 184 essais par nuit, période durant laquelle la majorité de l'activité de la souris a lieu (*Figure 28A*).

Au fur et à mesure des essais, les souris doivent apprendre par essai-erreur la réponse associée à chacun des deux stimuli. Malgré un apprentissage de l'association « nosepoke-récompense » rapide, environ 50% des souris n'ont cependant pas renforcé l'apprentissage des contingences gratifiantes, n'atteignant alors pas le critère d'inclusion de la tâche (*Figure 28B*). Dans la suite de ce manuscrit, nous nous intéresserons uniquement aux souris dont le taux de réponse correcte est supérieur à 50% et montre une évolution positive au cours du temps.

En moyenne les souris sont restées 24,4 jours au niveau 1 et 22,2 jours au niveau 2 (Figure 28C). Pendant cette période, le nombre d'essais effectués par nuit a augmenté linéairement jusqu'à atteindre en moyenne 210 essais par nuit au niveau 1 avant de diminuer et de se stabiliser autour de 138 essais par nuit au niveau 2 (Figure 28D). Cette augmentation puis diminution est due en premier lieu à l'apprentissage de l'action-outcome (nosepoke-récompense) puis d'une augmentation du taux de réponse correcte. Les souris obtiennent le même nombre de pellet pour moins d'essais réalisés. Ce résultat nous permet d'affirmer que même après plusieurs semaines d'expérimentation, les souris réalisent toujours autant d'essais, nous permettant d'accumuler des milliers d'essais par souris même après filtrage des données (Figure 28E, F).

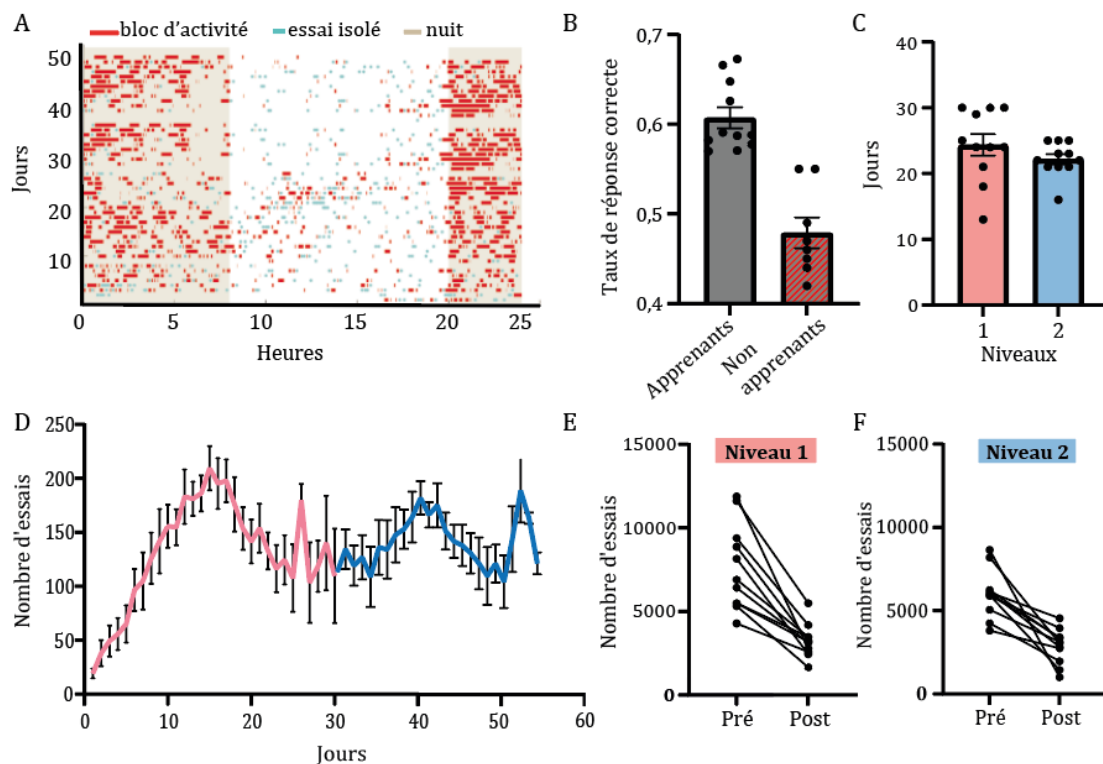


Figure 28. Validation de l'exécution de la tâche par les souris. A. Exemple d'activité d'une souris sur un cycle de 24h pendant la durée de la tâche comportementale. Les souris sont majoritairement actives pendant la période nocturne. B. Taux de réponse correcte de la tâche au niveau 1 pour l'ensemble des souris (n=21). Les souris n'ayant pas atteint les critères d'apprentissage ont été exclues de l'analyse comportementale. C. Nombre de jours passés dans la tâche au niveau 1 et 2. D. Nombre moyen d'essais réalisés par nuit au cours de la tâche pendant le niveau 1 (rose) et 2 (bleu). Les SEM sont également

représentées. E, F. Nombre moyen d'essais réalisés par souris pré et post filtrage des données lors du niveau 1 (E) et 2 (F).

5.3.1.2. Répartition des types d'essais effectués

L'analyse du type d'essai avant filtrage des données est aussi un indicateur de l'évolution de l'apprentissage de la souris dans la tâche. Au niveau 1, la plus grande proportion d'essais réalisés est de type « *abandonné* » (36,5%). Cela peut être dû à l'exploration de la chambre opérante, aux déplacements de la souris alors que celle-ci n'est pas engagé dans un essai, ou alors à une incertitude liée à la réponse à donner provoquant un retour en arrière de la souris.

La proportion des essais « *correct* » et « *incorrect* » représente respectivement 32,6% et 24,1% de la totalité des essais du niveau 1. Bien qu'en faible nombre, une fraction des essais sont de type « *non répondu* » (3,4%) et « *récompense non récupérée* » (2,4%). Au niveau 2 de la tâche, on observe une nouvelle répartition du taux de types d'essais. Une diminution significative des essais de type *abandonné*, *non répondu* et *récompense non récupérée* est observée par rapport au niveau 1 ($p=0,006$; $p=0,01$ et $p=0,004$ respectivement, Wilcoxon paired test), en faveur d'essais complétés aussi bien de type *correct* qu'*incorrect* ($p=0,01$ et $p=0,02$ respectivement, Wilcoxon paired test, *Figure 29*).

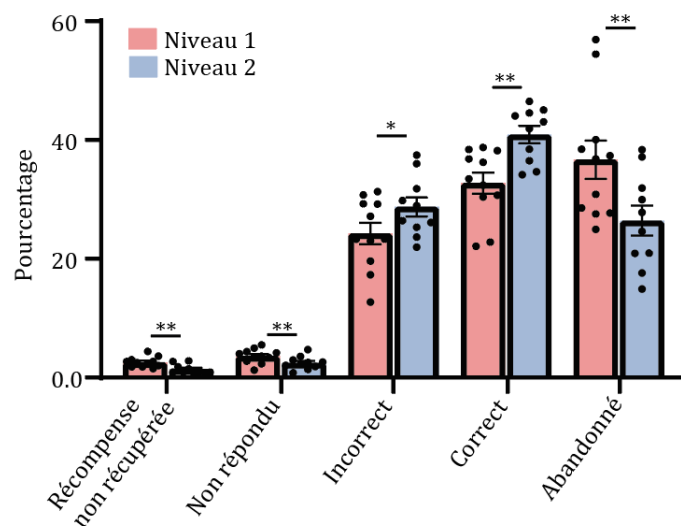


Figure 29. Proportion du type d'essai avant filtrage des données pour les niveaux 1 et 2. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, Wilcoxon paired signed rank test.

Ce premier ensemble de résultats a permis de montrer l'autonomie complète des souris dans l'obtention des récompenses, indiquant une bonne compréhension du fonctionnement de la chambre opérante. Le suivi de leur activité au cours de 24 h montre qu'elles travaillent à leur rythme, validant l'environnement écologique dans lequel elles évoluent. Les souris maintiennent une activité soutenue pendant une longue période de temps, reflétant leur motivation à exécuter la tâche, ce qui permet la collection de plusieurs milliers d'essais par sujet.

5.3.2. LA PRISE DE DÉCISION EST MODULÉE PAR LE CONTEXTE D'INCERTITUDE DE LA SOURIS

5.3.2.1. Analyse de la prise de décision au cours de la tâche

La visualisation du taux de réponse correcte en fonction du nombre d'essais réalisés permet de suivre l'évolution de l'apprentissage des souris au cours de la tâche. La moyenne du taux de réponse correcte pour l'ensemble du groupe montre une évolution de 37% [30%-41%] (correspondant aux valeurs minimale et maximale) de réponse correcte en début de tâche jusqu'à environ 70% [59%-80%] de réponse correcte en fin de tâche (*Figure 30A*). La durée moyenne d'exposition au stimulus en début de tâche est de 1,47 seconde [0,97s-2,41s] et augmente légèrement jusqu'à 1,84 seconde puis diminue progressivement au cours de la tâche jusqu'à 1,36 seconde en moyenne [0,66s-3,06s] (*Figure 30B*).

Si cette représentation permet une visualisation globale des performances au cours du temps, les souris ne réalisent pas le même nombre d'essais pour des taux similaires de réponse correcte, indiquant des vitesses d'apprentissage variables (*Figure 30C*). Une analyse plus fine, souris par souris et suivant leur progression au cours de la tâche, est alors nécessaire pour comparer les durées de temps de prise de décision.

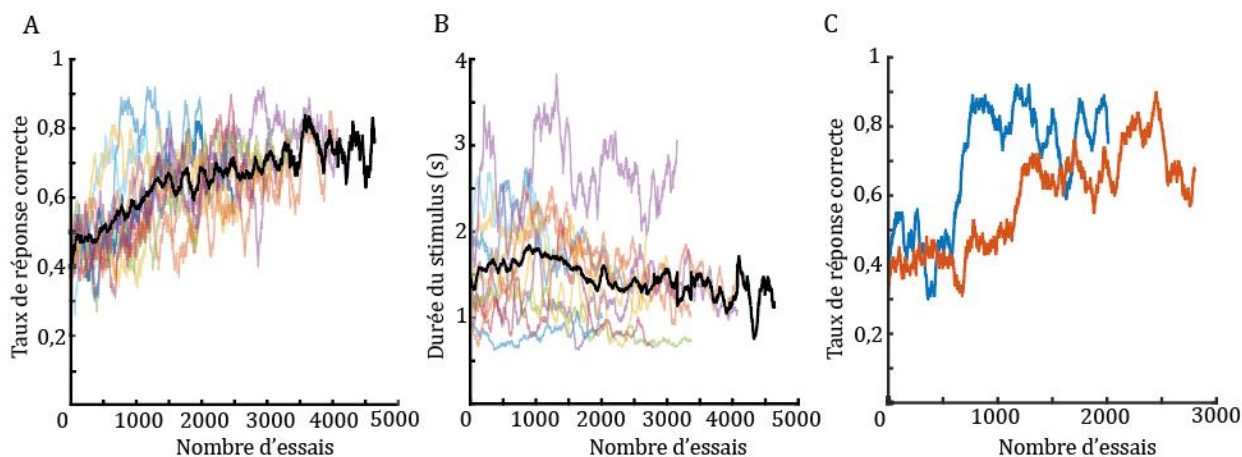


Figure 30. Moyennes des performances globales du niveau 1 en fonction du nombre d'essais réalisés. **A.** Taux de réponse correcte en fonction du nombre d'essais réalisés au cours de la tâche. **B.** Durée de l'exposition de la souris au stimulus en fonction du nombre d'essais. **C.** Représentation de la courbe d'apprentissage pour deux souris. Ces deux souris ne réalisent pas le même nombre total d'essais et atteignent leur performance maximale à des vitesses d'apprentissage différentes. Les séries colorées représentent les performances par souris, la série noire représente la moyenne des performances du groupe.

1) Détermination des phases d'apprentissage

Bien que le taux final de réponse correcte varie d'une souris à l'autre, un même schéma d'apprentissage semble se répéter à travers toutes les souris : 2 périodes stables sont séparées par une phase d'augmentation du taux de réponse correcte.

Afin de déterminer ces trois phases de manière objective et reproductible pour chacune des souris, j'ai appliqué un modèle de régression non linéaire sur les données des réponses des souris, confirmant les courbes d'apprentissage de type sigmoïdale des souris. Il est alors possible de déterminer les deux coudes de la courbe qui marquent les changements de régime de l'évolution du taux de réponse correcte et les transitions entre les différentes phases (*Figure 31A*).

- Lors de la première phase **naïve (1)**, le taux de réponse correcte est stable au cours du temps et se situe autour de 50%. Cela correspond à la découverte de la tâche par la souris.
- Ensuite, entre les coudes, la courbe est caractérisée par une augmentation progressive et continue du taux de réponse correcte de la souris. Nous déterminons la deuxième phase dite d'**apprentissage tardif (2)**, comme les essais situés de part et d'autre du second coude.
- La troisième phase correspond au **plateau (3)**, elle est caractérisée par une stabilisation du taux de réponse correcte pendant un minimum de 1000 essais (*Figure 30A*).

La sélection d'une phase d'apprentissage tardif, et non de l'ensemble des essais entre les coudes, permet de comparer les paramètres d'intérêts (ici, la durée d'exposition au stimulus) à performance égale mais lorsque la souris est soit toujours en processus d'apprentissage, soit surentraînée.

Le taux de réponse correcte et les durées d'exposition au stimulus sont alors analysés en fonction des différentes phases préalablement déterminées (*Figure 31B*).

2) Variation de la durée de la prise de décision en fonction de l'apprentissage

Pour chaque souris et au cours de chacune des trois phases, la moyenne du taux de réponse correcte et la durée de l'exposition au stimulus peuvent alors être calculées. Pour chaque souris, chaque moyenne est ensuite normalisée par la moyenne de la phase naïve. Entre la phase naïve et la phase d'apprentissage tardif, nous observons sur l'ensemble du groupe une augmentation significative du taux de réponse correcte de 63% [35%-92%] (valeurs minimale et maximale correspondant à une variation brute du taux comprise entre 0,15 et 0,39 ; *annoté ' 63% [35%-92% ; 0,15-0,39]' dans la suite du manuscrit*). De la même manière, nous observons une augmentation significative de 61% [46%-78% ; 0,2-0,33] entre la phase naïve et la phase plateau ($p=0,001$ Wilcoxon signed rank test). Aucune différence significative du taux de réponse correcte n'est observée entre la phase d'apprentissage tardif et la phase plateau ($p=0,41$, Wilcoxon paired signed rank test, *Figure 31C, Figure supp. 1A*). Concernant la durée d'exposition au stimulus, nous observons en moyenne une diminution significative de 16% [-42%, +34% ; -740ms,

+80ms] entre la phase naïve et la phase plateau et une diminution de 15% [-45%, +12% ; -640ms, +90ms] entre la phase d'apprentissage tardif et la phase plateau ($p=0,02$ Wilcoxon signed rank et Wilcoxon paired signed rank test, *Figure 31D, Figure supp. 1B*).

En conclusion, la durée de la prise de décision est modulée selon la progression de la souris dans l'apprentissage de la tâche. Lorsque la souris est experte dans la tâche, la durée de la prise de décision est plus courte par rapport à la durée de décision quand elle découvre ou apprend la tâche.

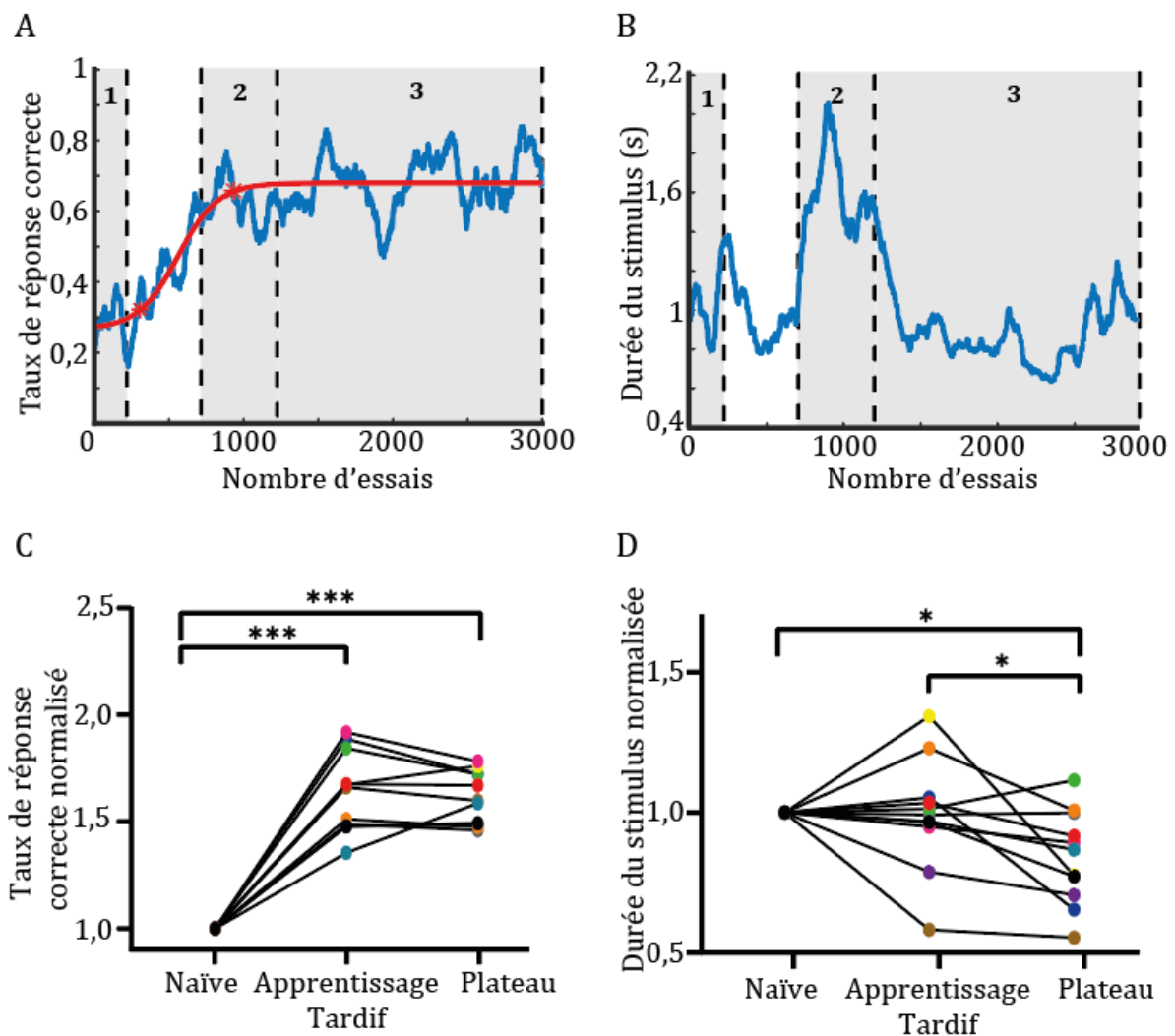


Figure 31. Détermination des différentes phases d'apprentissage de la tâche et analyses des performances de la souris en fonction de ces phases. A. Détermination de la phase naïve (1), apprentissage tardif (2), et plateau (3) à l'aide d'un modèle de régression non linéaire sur les données d'apprentissage de la souris. **B.** Série des durées

d'exposition au stimulus compartimentée selon les 3 phases d'apprentissage. **C, D.** Variations du taux de réponse correcte (C) et de la durée d'exposition au stimulus (D) en fonction des différentes phases d'apprentissage de chaque souris. Les moyennes des souris en phase 2 et 3 sont normalisées par la phase naïve de la souris correspondante. *** $p < 0,001$, Wilcoxon signed rank test, * $p = 0,02$, et Wilcoxon paired signed rank test.

5.3.2.2. Analyse de la durée de prise de décision en contexte d'incertitude liée à une information dégradée

Une manière différente de faire varier l'incertitude chez la souris consiste à dégrader l'information sensorielle afin d'ajouter de la difficulté dans la prise de décision. Les figures 32A et 32B illustrent l'effet du bruitage du stimulus visuel introduit dans la tâche (voir sections 4.2.2. *Tâche comportementale de prise de décision perceptuelle* et 5.2.1.2. *Variation de la durée décisionnelle*) sur le taux de réponse correcte et la durée du stimulus.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus montrent une diminution significative du taux de réponse correcte moyen de 14% [1%-22% ; 0,04-0,18] pour les essais de difficulté 2 et de 33% [18%-41% ; 0,16-0,30] pour les essais de difficulté 3, par rapport au niveau 1 ($p=0,001$ pour les deux niveaux de difficulté, Wilcoxon signed rank test). La diminution du taux de réponse correcte entre les difficulté 2 et 3 est en moyenne de 22% ($p=0,001$, Wilcoxon paired signed rank test, *Figure 32C*).

Concernant la durée d'exposition au stimulus, nous n'observons pas de différence significative entre les niveaux de difficulté 1 et 2, mais nous observons une légère augmentation significative de 3,2% [-5%, +9,5% ; -50ms, +230ms] entre les niveaux de difficulté 1 et 3 ($p=0,04$, Wilcoxon signed rank test). Aucune différence significative n'est observée entre les niveaux de difficulté 2 et 3 ($p=0,37$, Wilcoxon paired signed rank test, *Figure 32D, Figure supp. 2B*).

En conclusion, le taux de réponse correcte diminue proportionnellement à la difficulté introduite, mais reste stable au cours du temps pour chaque niveau de difficulté. En ce qui concerne la durée du stimulus, celle-ci est légèrement augmentée pour un niveau de difficulté élevé.

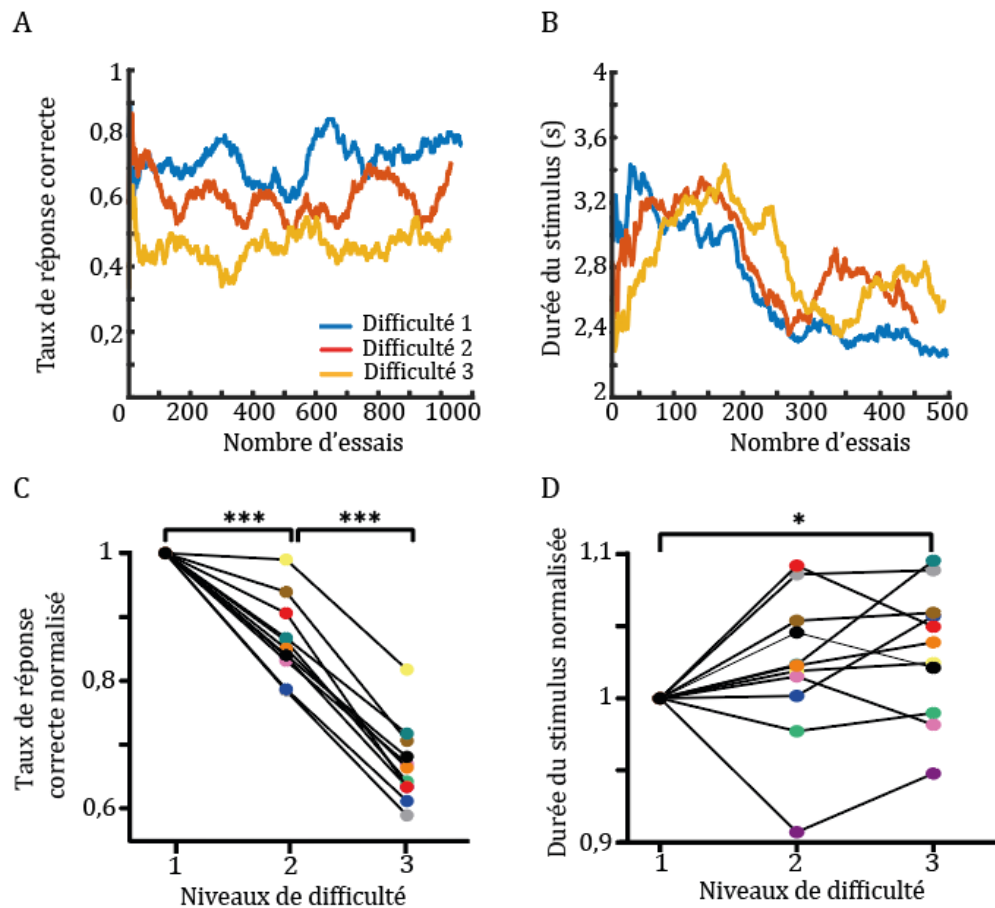


Figure 32. Performances des souris en fonction des différents niveaux de difficulté de la tâche. A, B. Exemple du taux de réponse correcte (A) et de la durée du stimulus (B) au cours de la tâche en fonction des niveaux de difficulté 1, 2 ou 3 correspondant à 100%, 70% et 50% des barres horizontales ou verticales respectivement. **C, D.** Variations du taux de réponse correcte (C) et de la durée du stimulus (D) en fonction des niveaux de difficulté normalisée par la difficulté 1. *** $p=0,001$, * $p=0,04$, Wilcoxon signed rank test.

5.3.2.3. Analyse de la durée de prise de décision en fonction des essais corrects et incorrects

Nous faisons l'hypothèse ici qu'une prise de décision trop rapide pourrait entrainer une diminution du taux de réponse correcte. Pour cela, nous avons calculé la moyenne de la durée d'exposition au stimulus en fonction des essais *corrects* et *incorrects*, d'une part en fonction des différentes phases d'apprentissage pour le niveau 1, et d'autre part en

fonction des niveaux de difficulté pour le niveau 2. Chaque moyenne a ensuite été normalisée par la moyenne des essais *corrects* indépendamment pour chacune des phases ou difficultés.

Les résultats observés montrent que les variations de la durée de prise de décision des essais *incorrects* par rapport aux essais *corrects* au niveau 1 et 2 sont très faibles et non significatives (Niveau 1 : +0,4% en phase naïve, +9% en phase apprentissage tardif, -2% en phase plateau. Niveau 2 : -1% et +0,4% pour les difficultés 1 et 2 respectivement, pas de variation observée à la difficulté 3, $p > 0,05$, Wilcoxon signed rank test, *Figures 33A, B, Figures supp. 1E-G et Figures supp. 2E-G*).

Nous nous sommes alors demandé si cette absence de variation pouvait être due à une distribution bimodale des réponses incorrectes : un temps de prise de décision trop court entrainerait un défaut de prise d'information tandis qu'un temps de prise de décision trop long reflèterait un désengagement de la souris dans la tâche. Nous n'avons cependant pas observé cette dynamique, les résultats observés montrent une distribution unimodale et asymétrique des durées de prise de décision lors des essais *incorrects*, pour toutes les phases d'apprentissage (*Figure 34*) et tous les niveaux de difficulté (données non représentées).

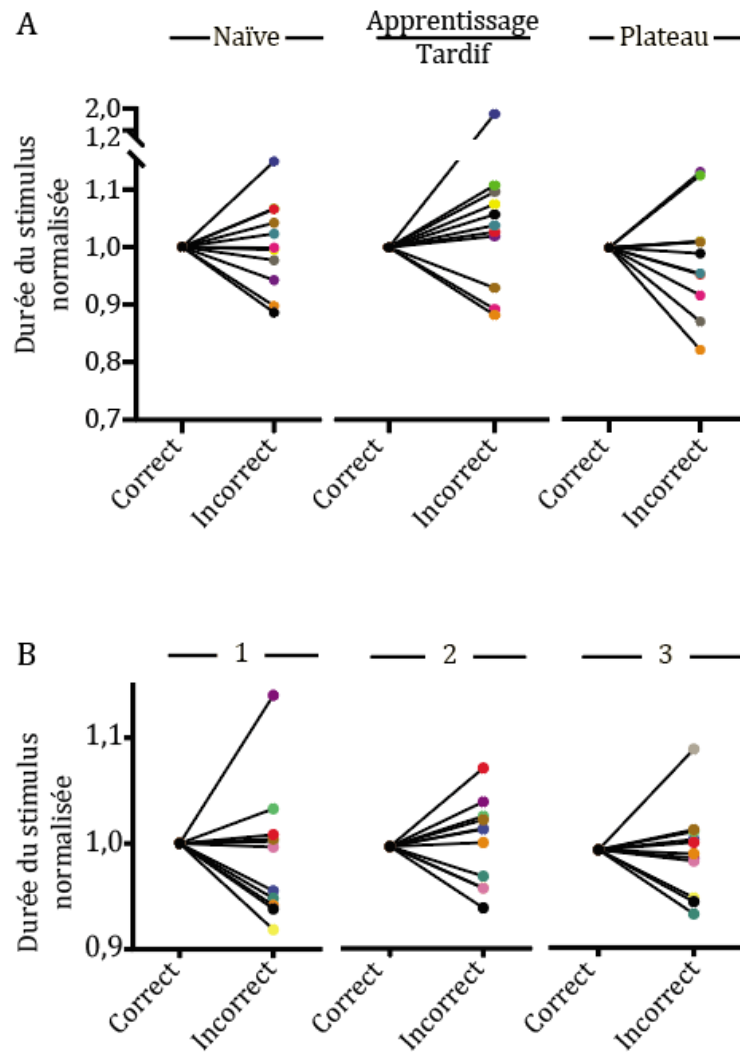


Figure 33. Variations des durées de stimulus en fonction des réponses correctes et incorrectes. **A.** Variations des durées de stimulus des réponses incorrectes par rapport aux réponses correctes en fonction des différentes phases d'apprentissage de la souris. Les moyennes sont normalisées par la moyenne des réponses correctes pour chaque phase. **B.** Variations des durées de stimulus des réponses incorrectes par rapport aux réponses correctes en fonction des différents niveaux de difficulté de la tâche. Les moyennes sont normalisées par la moyenne des essais *corrects* pour chaque niveau de difficulté.

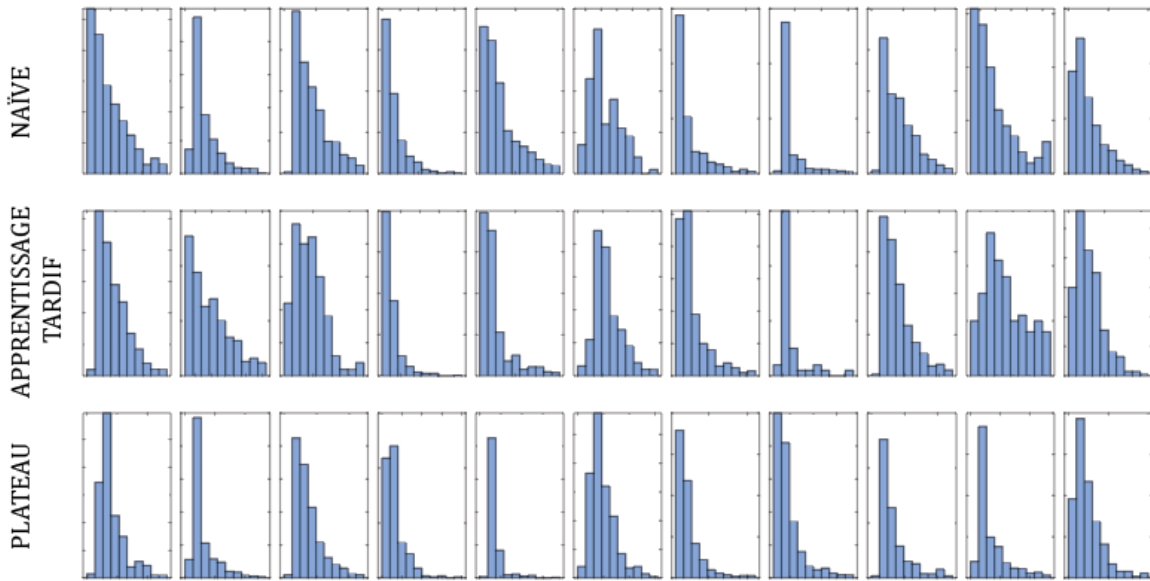


Figure 34. Représentation graphique de la distribution du nombre d'essais en fonction de la durée du stimulus pour les essais de type incorrect. Toutes les souris sont représentées en fonction des différentes phases d'apprentissage. Une distribution unimodale et asymétrique de ce paramètre est observée.

En conclusion, cet ensemble de résultats a permis de valider expérimentalement la tâche de prise de décision perceptuelle dans les BEATBox. Trois phases d'apprentissage se distinguent sur la courbe du taux de réponse correcte. Une analyse souris par souris permet alors de catégoriser ces phases spécifiquement en fonction de la progression de la souris dans la tâche. L'analyse de la durée d'exposition au stimulus a montré une diminution de ce paramètre entre la phase d'apprentissage tardif et la phase plateau. Pour des taux de réponse correcte plus élevés, la durée du stimulus est plus courte : la prise de décision est donc plus efficace. Dans un contexte d'incertitude lié à un stimulus sensoriel bruité, le taux de réponse correcte est proportionnellement dégradé avec la difficulté de la tâche, entraînant une augmentation de la durée de prise de décision. Cela nous permet de confirmer la mesure de la prise de décision chez le rongeur dans une tâche de décision perceptuelle en mouvement libre, et la corrélation de la variation du temps de prise de décision avec des marqueurs comportementaux pertinents.

5.3.3. LA VITESSE DE DÉPLACEMENT DE LA SOURIS EST MODULÉE PAR LE CONTEXTE D'INCERTITUDE

La BEATBox permet l'enregistrement de nombreux paramètres comportementaux. Dans cette section, je décrirai les résultats de certains d'entre eux qui, bien qu'ils ne soient pas directement liés à l'hypothèse de travail de ce manuscrit, fournissent des informations intéressantes sur le comportement de la souris lié à l'incertitude durant la prise de décision perceptuelle.

5.3.3.1. Variations des durées de déplacement jusqu'à la réponse et jusqu'à la récompense

Une fois la décision prise, la souris exécute son choix en s'engageant vers la droite ou vers la gauche jusqu'à répondre dans l'un des deux nosepokes. La durée de ce déplacement a alors été analysée en fonction des différentes phases d'apprentissage de la souris (*Figure 35A*) et des niveaux de difficulté des stimuli (*Figure 35B*). Comme pour les résultats précédents concernant la durée de prise de décision, les résultats présentés ici correspondent à la normalisation de la moyenne des durées de déplacement soit par la moyenne de la phase naïve, soit par la moyenne de la difficulté 1, et ce, pour chacune des souris.

Concernant la durée de déplacement jusqu'à la réponse, une diminution significative de 41% [8%-77% ; 0,35s-6,89s] est observée entre la phase naïve et la phase d'apprentissage tardif, et de 38% [14%-70% ; 0,31s-6,27s] entre la phase naïve et la phase plateau ($p=0,001$ pour les deux tests, Wilcoxon signed rank test, *Figure 35C*, *Figure supp. 1C*). Aucune différence significative n'est observée entre la phase d'apprentissage tardif et la phase plateau ($p=0,32$, Wilcoxon paired signed rank test).

Concernant le niveau 2, aucune différence de durée de déplacement jusqu'à la réponse n'est observée entre les différents niveaux de difficulté ($p=0,28$ et $p=0,82$ pour la difficulté 2 et 3 respectivement, Wilcoxon signed rank test, *Figure 35D*, *Figure supp. 2C*).

De la même manière, nous avons analysé la durée de déplacement entre la réponse de la souris et la récupération de sa récompense en fonction des phases d'apprentissage (*Figure 35E*). Une diminution significative de la durée de déplacement de 17% [-45%,

+34% ; -2,62s, +1,42s] est observée entre la phase naïve et la phase d'apprentissage tardif ainsi qu'entre la phase naïve et la phase plateau [-41%, +28% ; -2,40s, +1,08s] ($p=0,03$ et $p=0,02$, *Figure 35G, Figure supp. 1D*). En revanche, aucune différence n'est observée entre les différents niveaux de difficulté ($p=0,83$ et $p=0,36$ pour les difficultés 2 et 3 respectivement, Wilcoxon signed rank test, *Figure 35H, Figure supp. 2D*).

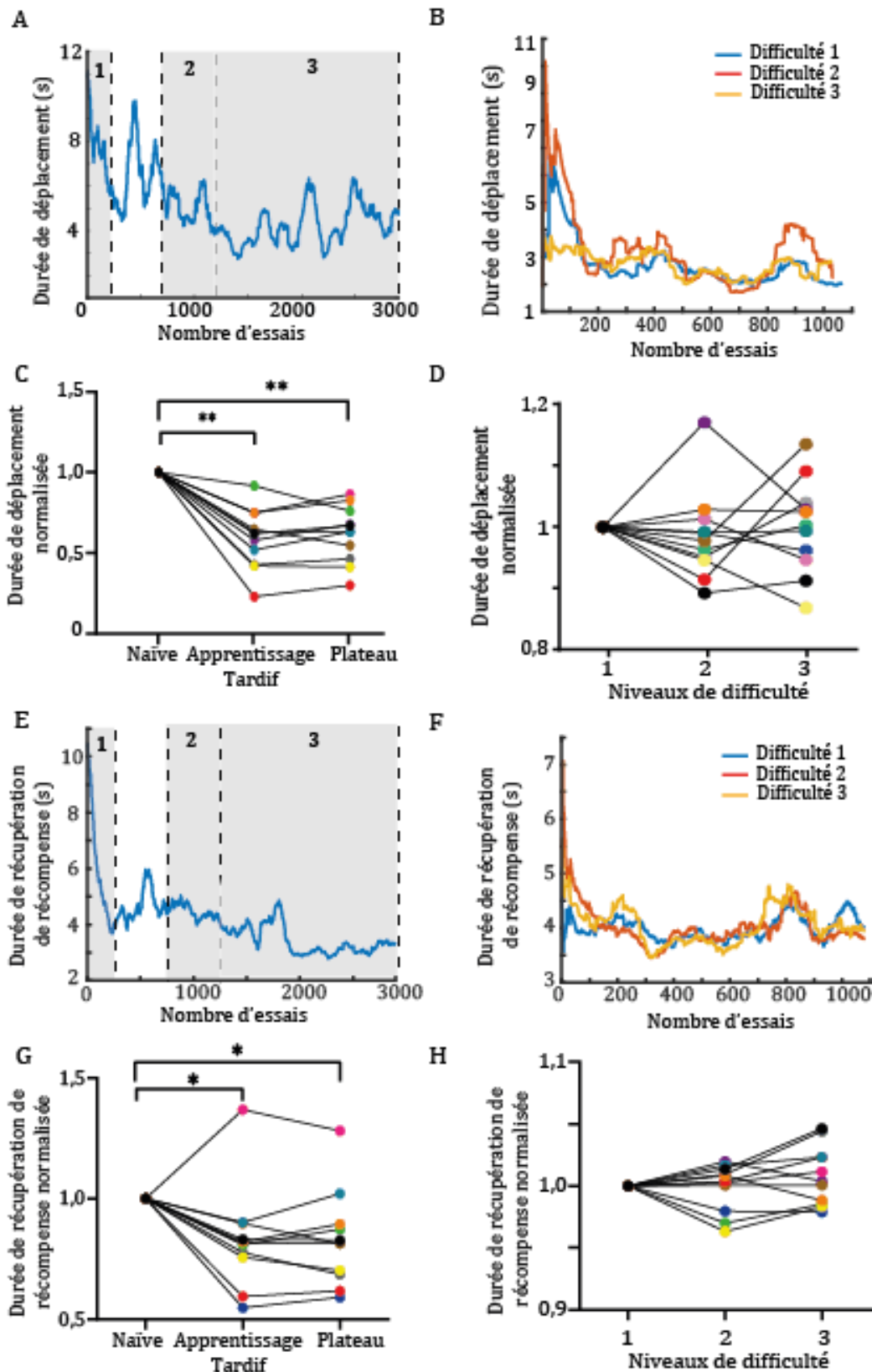


Figure 35. Variations des différents déplacements de la souris pendant les niveaux 1 et 2 de la tâche de prise de décision perceptuelle. **A, B.** Exemples de la durée de déplacement de la souris entre la disparition du stimulus et la réponse de la souris compartimentée selon la phase naïve (1), la phase d'apprentissage tardif (2) et la phase plateau (3) au niveau 1 (A) et selon les différents niveaux de difficultés (B). **C, D.** Variations normalisées de la durée de déplacement jusqu'à la réponse selon les différentes phases d'apprentissage (C) et selon les différents niveaux de difficulté (D). **E-H.** Mêmes représentations pour la durée de déplacement entre la réponse de la souris et la récupération de la récompense, en fonction des différentes phases d'apprentissages et des niveaux de difficultés. ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, Wilcoxon signed rank test.

5.3.3.2. L'exécution du choix, un marqueur de confiance de la souris ?

L'analyse de la durée de déplacement de la souris entre le moment de prise de décision et sa réponse en fonction des essais *corrects* et *incorrects* montre une absence de variation lors de la phase naïve ($p = 0,27$, Wilcoxon signed rank test), et une augmentation significative de 32% [-9%, +130% ; -390ms, +790ms] et 40% [19%-127% ; 0,35s-2,89s] respectivement en phase d'apprentissage tardif et en phase plateau ($p = 0,03$ et $p = 0,001$, Wilcoxon signed rank test, *Figure 36A, Figures supp. 1H-J*).

Concernant le niveau 2, nous observons une augmentation significative de la durée de déplacement de 31% [2%-116% ; 0,04s-2,16s] à la difficulté 1, ainsi qu'une augmentation significative de 16% [2%-49% ; -0,08s-1,23s] à la difficulté 2. Aucune variation n'est en revanche observée entre les essais *corrects* et *incorrects* de la difficulté 3, niveau de difficulté pour lequel la souris ne peut savoir quel est le côté gratifiant ($p = 0,002$, $p = 0,001$, $p = 0,64$ respectivement pour les trois difficultés, Wilcoxon signed rank test, *Figure 36B, Figures supp. 2H-J*). Ces résultats indiquent que les souris mettent plus de temps à se déplacer pour répondre lorsque la réponse de l'essai est incorrecte.

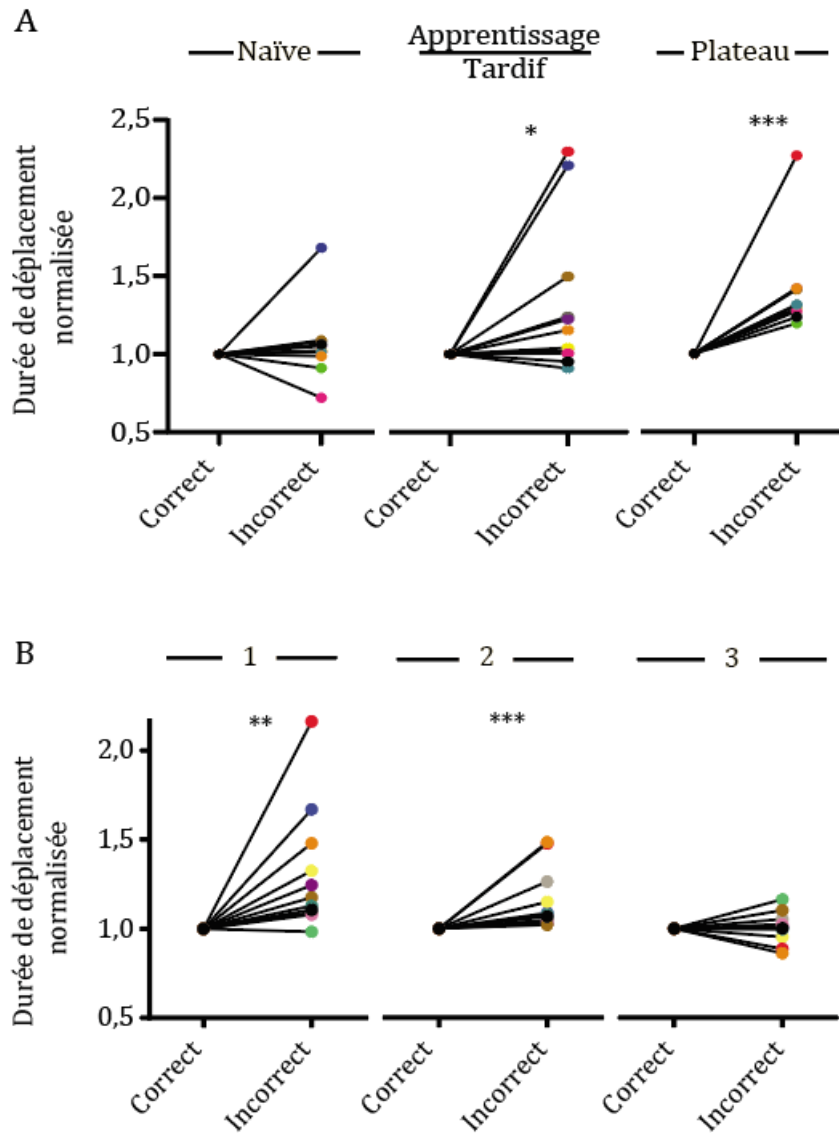


Figure 36. Variations des durées de déplacement de la souris jusqu'à la réponse en fonction des réponses correctes et incorrectes. **A.** Variations des durées de déplacement lors des réponses incorrectes par rapport aux réponses correctes en fonction des différentes phase d'apprentissage de la souris. Les moyennes sont normalisées par la moyenne des essais *correctes* pour chaque phase. **B.** Variations des durées de déplacement lors des réponses incorrectes par rapport aux réponses correctes en fonction des différents niveaux de difficultés de la tâche. Les moyennes sont normalisées par la moyenne des essais *correctes* pour chaque niveau de difficulté.

* $p=0,03$, ** $p=0,01$, *** $p=0,001$, Wilcoxon paired signed rank test.

En conclusion, ces résultats montrent une diminution conjointe de la durée de déplacement de la souris jusqu'à la réponse et jusqu'à sa récompense, entre la phase naïve et la phase d'apprentissage tardif, durée qui reste stable à la phase plateau et lors de l'introduction des difficultés. Cette diminution atteste d'une optimisation de l'exécution de la tâche indépendamment du taux de réussite de la souris, d'autant que le déplacement de la souris jusqu'à sa récompense ne concerne que des essais de type correct. La durée de déplacement jusqu'à la réponse entre les essais corrects et incorrects augmente de manière proportionnelle au taux de réponse correcte de la souris, suggérant une plus grande confiance dans la réponse choisie lorsque la souris est experte dans la tâche. A l'inverse, la différence entre les durées de déplacement des essais corrects et incorrects diminue proportionnellement lorsque la difficulté de la tâche augmente, suggérant également une plus grande confiance dans la réponse lorsque l'essai est plus facile.

5.4. RECRUTEMENT ET DÉSENGAGEMENT DES INTERNEURONES PV STRIATAUX LORS DU PROCESSUS DÉCISIONNEL

5.4.1. PRINCIPE DE PHOTOMÉTRIE POUR L'ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ NEURONALE

5.4.1.1. Utilisation du calcium intracellulaire comme marqueur de l'activité neuronale

La technique de photométrie permet de mesurer une activité neuronale d'intérêt à l'échelle populationnelle. Cette technique repose sur la détection des variations de concentration de calcium intracellulaire reflétant l'activation d'un neurone. En effet, lors de la propagation d'un potentiel d'action le long du neurone présynaptique, la membrane neuronale se dépolarise entraînant l'ouverture des canaux calciques dépendant du voltage (Katz et Miledi 1967). Un flux rapide entrant de calcium a alors lieu, augmentant la concentration cytoplasmique en calcium accompagnée par la libération cytosolique de calcium présent dans des vésicules de stockage (Ludwig et al., 2002) (*Figure 36A*). Cette concentration élevée dure entre 50 et 150 millisecondes et peut être détectée par des indicateurs calciques appelés GECI pour « Genetically encoded calcium indicators ». L'augmentation calcique provoque ensuite l'exocytose des vésicules synaptiques de neurotransmetteurs dans la fente synaptique, suivie par la propagation post-synaptique du potentiel d'action (Augustine et al., 1985).

Les GECI sont capables de détecter la présence de calcium intracellulaire et de l'indiquer lorsqu'ils sont excités à une certaine longueur d'onde. Ces indicateurs sont composés d'une protéine fluorescente verte (« circularly permuted green fluorescent protein », cpGFP), d'une calmoduline et d'un peptide de liaison à la calmoduline (M13). Lorsque la concentration intracellulaire en calcium augmente, celui-ci se fixe à la calmoduline. En interagissant l'un avec l'autre, cela induit une réorganisation du chromophore cpGFP qui émet alors de la fluorescence à une longueur d'onde de 515 nm, reflétant les niveaux de concentration en Ca^{2+} intracellulaire (Inoue 2021; Wang et al., 2021) (*Figure 36B*).

L'émission de fluorescence est collectée par une fibre optique implantée dans le cerveau de l'animal et détectée grâce à un photorécepteur. Le signal est ensuite amplifié puis digitalisé. L'analyse du signal permet d'observer les variations de fluorescence, reflétant l'activité calcique et donc, par extension, l'activité neuronale (*Figure 36C*).

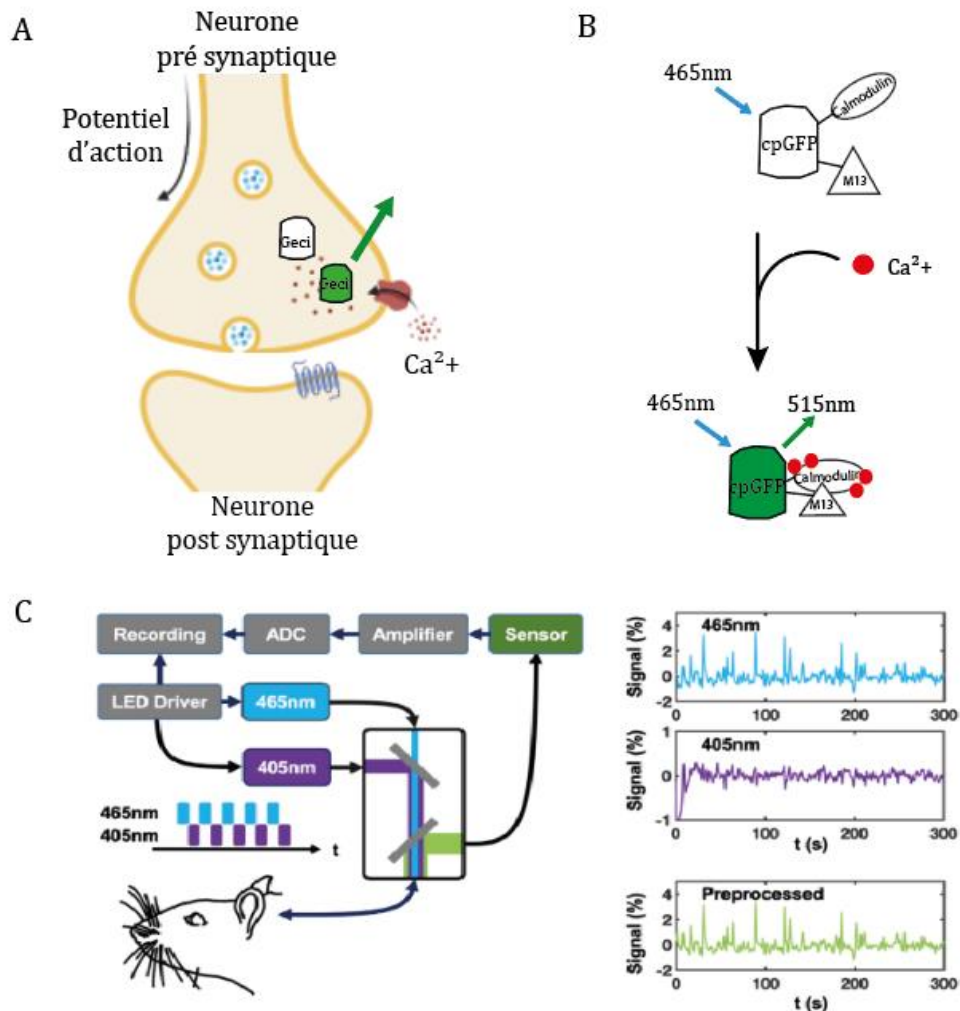


Figure 36. Principe de la technique de photométrie. **A.** Les GCaMP sont des indicateurs calciques composés d'une «circularly permuted green fluorescente protéine» (cpGFP) ainsi que d'une calmoduline et d'un peptide se liant à la calmoduline. Lorsque ces indicateurs sont excités à 465nm et sont fixés à des ions calciques, ils émettent de la fluorescence à 515nm. **B.** Les GCaMP sont exprimés dans les neurones par transduction virale. Lors de l'arrivée d'un potentiel d'action dans le neurone présynaptique, l'entrée massive de calcium est détectée par l'indicateur calcique qui émet alors de la fluorescence.

C. Système d'enregistrement de photométrie. Grâce au LED driver, les longueurs d'ondes 465nm et son contrôle 405nm sont envoyées au cerveau de la souris à travers une fibre optique. La fluorescence émise en retour est collectée par cette fibre, puis filtrée par un miroir dichroïque et envoyée au photorécepteur avant d'être amplifiée puis digitalisée pour visualisation.

Il existe une diversité de GECI ayant chacun des propriétés spécifiques adaptées à des besoins divers. En effet, la mutagenèse des composants de ces indicateurs fluorescents ont permis de développer des GECI aux propriétés physiologiques distinctes sur la base de : leur sensibilité aux variations de calcium intracellulaire, leur cinétique d'émission de fluorescence ou encore le contraste entre l'émission d'un signal spécifique et le bruit de fond. Le choix du GECI dépend finalement du type cellulaire étudié et de la question expérimentale.

5.4.1.2. Stratégie virale et optique

Dans le cadre de ce projet, nous voulons enregistrer les interneurons PV du striatum. Ces neurones ont une fréquence de décharge comprise entre 10 et 15Hz et sont caractérisés par des burst d'activité à haute fréquence (60-80 Hz). La densité striatale de ces interneurons est très faible, rendant la détection de l'activité populationnelle par émission de fluorescence difficile. Nous avons choisi d'utiliser le jGCaMP7f recombinant (Dana et al., 2019) car l'émission de fluorescence à la suite de la fixation du calcium est 3 fois supérieure à celle du GCaMP6f (génération antérieure). Ainsi, bien que le GCaMP6 ait déjà fait ses preuves dans l'enregistrement de l'activité des interneurons PV du striatum dorsal (Gritton et al., 2019), la détection du signal GCaMP7f est d'autant plus efficace. Le GCaMP7f a une cinétique rapide (f, pour 'fast'). La valeur correspondant à la moitié de la durée de la phase croissante et décroissante est respectivement de 27ms et 265ms, permettant de suivre l'activité des interneurons PV tout au long de la tâche. Lorsque plusieurs événements d'influx calcique séparés par une durée inférieure au temps de décroissance de l'indicateur ont lieu, ceci se reflète alors par une amplitude plus grande

et soutenue dans le temps des niveaux de fluorescence (Dana et al., 2019; Howe et Dombeck, 2016)

Après avoir injecté le virus AAV9-syn-DIO-jGCaMP7f-WPRE dans le striatum dorsocentral de souris PV-cre (*Figure 37A*), j'ai implanté une fibre optique de 400 μ m de diamètre (NA 0,57) ; ce large diamètre permet de couvrir un plus grand volume striatal (*Figure 37B*). J'ai ensuite placé les souris en expérimentation dans les boites comportementales BEATbox entre 2 et 3 semaines post injection. L'expression virale et le placement de la fibre ont été vérifiés en histologie *post mortem* en fin d'expérimentation. Les souris dont l'injection n'était pas conforme aux critères d'étude ont été sorties de l'étude (*Figure 37C*, *Figure supp. 3*).

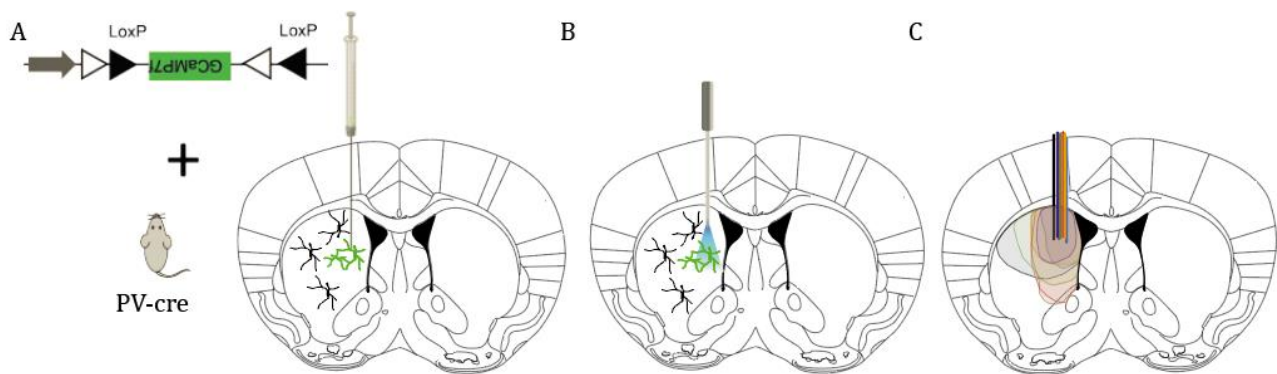


Figure 37. Stratégie virale et implantation de la fibre optique. A. L'injection du virus AAV-DIO-jGCaMP7f dans le striatum dorso-central de souris PV-cre permet l'expression spécifique de l'indicateur calcique dans les interneurons PV. B. Implantation d'une fibre optique de 400 μ m, NA 0,57 dans le striatum dorso-central des souris. C. Représentation de l'étendue de l'expression virale ainsi que du placement de la fibre optique pour chaque souris.

5.4.2. IMPACT DE LA FIBRE OPTIQUE ET DU PATCH CORD SUR LES PERFORMANCES DES SOURIS

Pour commencer, nous nous sommes intéressés aux différents paramètres comportementaux des souris au cours la tâche de prise de décision perceptuelle, notamment à l'impact que pourrait avoir l'implantation de la fibre sur les performances des souris implantées en comparaison de celles de souris non implantées.

Pour les souris implantées, la moyenne du taux de réponse correcte lors de la phase naïve est de 0,43 [0,31-0,51] et augmente jusqu'à 0,62 [0,55-0,71] lors de la phase d'apprentissage tardif. Ce taux reste stable, à 0,63 [0,55-0,74], lors de la phase plateau. Bien que cette dynamique soit similaire aux souris non implantées (les résultats des souris non implantées ont été détaillés dans le chapitre 6), les taux de réponse correcte pour les phases d'apprentissage tardif et de plateau diminuent de 10,1% et 11,3% respectivement par rapport aux souris non implantées (*Figure 38A*).

Concernant la durée du stimulus, la moyenne est de 2,5 secondes [1,06-3,76s] pendant la phase naïve, puis cette durée augmente jusqu'à 2,84 secondes [1,9-4,40s] lors de la phase d'apprentissage tardif et atteint 3,24 secondes [2,15-4,05s] lors de la phase de plateau. Cela représente une augmentation respective de 127%, 72% et 138% pour les trois phases d'apprentissage par rapport aux souris non implantées (*Figure 38B*). En outre, nous observons une augmentation de 13,8% de la moyenne de la durée du stimulus entre la phase d'apprentissage tardif et la phase de plateau pour les souris implantées, alors qu'une diminution était observée chez les souris non implantées.

Enfin, la durée moyenne de déplacement jusqu'à la réponse est de 6,37 secondes [2,64s-10,82s] en phase naïve, soit 40% de plus que pour les souris non implantées. Cette durée diminue à 3,74 secondes [2,06s-6,09s] lors de la phase d'apprentissage tardif et reste stable, à 3,42 secondes [2,21s-3,94s], à la phase plateau, soit 35 et 25 % d'augmentation par rapport aux souris non implantées (*Figure 38C*).

En résumé, bien que les taux de réponse correcte et la durée de déplacement des souris implantées soient légèrement différents de ceux des souris non implantées, les dynamiques d'évolution de ces paramètres à travers les différentes phases d'apprentissage sont similaires entre les deux groupes. Ceci confirme que l'implantation avec une fibre optique n'altère pas ces performances. En revanche, la dynamique d'évolution de la durée du stimulus au cours des phases d'apprentissage semble différente pour les souris implantées. Ainsi, il semblerait que l'implantation avec la fibre optique ait pu influencer sur ce paramètre.

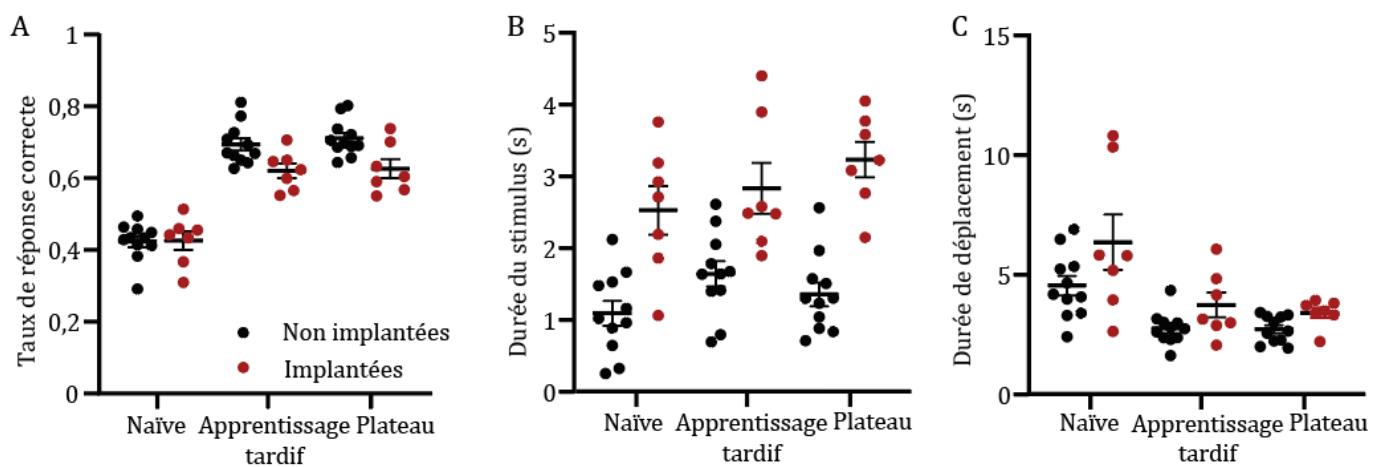


Figure 38. Différence des performances entre les souris implantées et non implantées. A-C. Moyenne par souris du taux de réponse correcte (A), de la durée du stimulus (B) et de la durée de déplacement (C) en fonction des différentes phases d'apprentissage.

5.4.3. DYNAMIQUE DE L'ACTIVITÉ DES INTERNEURONES PV STRIATAUX AU COURS DE LA TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

5.4.3.1. Visualisation globale de l'activité interneuronale

La première session d'enregistrement de l'activité neuronale coïncide avec le démarrage de la tâche. Les sessions d'enregistrements ont été réalisées tous les 2 ou 3 jours jusqu'à la fin de la tâche comportementale. Puis, elles ont ensuite été regroupées selon les différentes phases d'apprentissage préalablement déterminées (*Figure 39A*).

La figure 39B montre un exemple de signal moyenné obtenu sur un ensemble de 15 essais permettant de visualiser la dynamique globale de l'activité des interneurons PV striataux lorsque celle-ci est alignée sur l'apparition du stimulus (Stim ON).

Nous observons une légère augmentation de l'activité neuronale dès 30 secondes avant l'apparition du stimulus, qui s'intensifie 5 secondes avant le Stim ON. Puis, le signal diminue rapidement en dessous de la baseline et revient progressivement à son niveau initial. Les évènements « Stim OFF » et « Réponse » de la souris ont été représentés selon le délai moyen entre le Stim ON et ces évènements. Toutefois, il est important de noter qu'en considérant une trace entière, le signal n'est aligné que sur un évènement. Ici, le signal est aligné sur le « Stim ON », ce qui permet de mesurer le niveau d'activité moyen suite à cet évènement, mais qui peut aussi être altéré par les évènements suivants. Seul un alignement sur les évènements « Stim OFF » ou « Réponse » permet une représentation visuelle précise de l'activité au moment de ces deux évènements (voir partie 5.4.3.2).

En ce qui concerne la durée moyenne totale d'un essai ainsi que la durée moyenne inter-essais, celles-ci ont été calculées pour chaque souris selon les différentes phases d'apprentissages afin de pouvoir par la suite analyser le signal sans faire chevaucher le

dernier évènement d'un essai avec le début de l'essai suivant (Figure 39D). La durée moyenne inter-essais, souris et phases confondues, varie entre 63,84 secondes et 159,8 secondes, tandis que la durée moyenne des essais varie entre 9,07 et 22,75 secondes, auxquelles nous pouvons ajouter 20 secondes pour les essais où la souris mange sa récompense. En utilisant une baseline 7 secondes avant le Stim ON (début de l'essai), nous évitons ainsi d'inclure un évènement de l'essai précédent dans l'analyse de l'essai suivant.

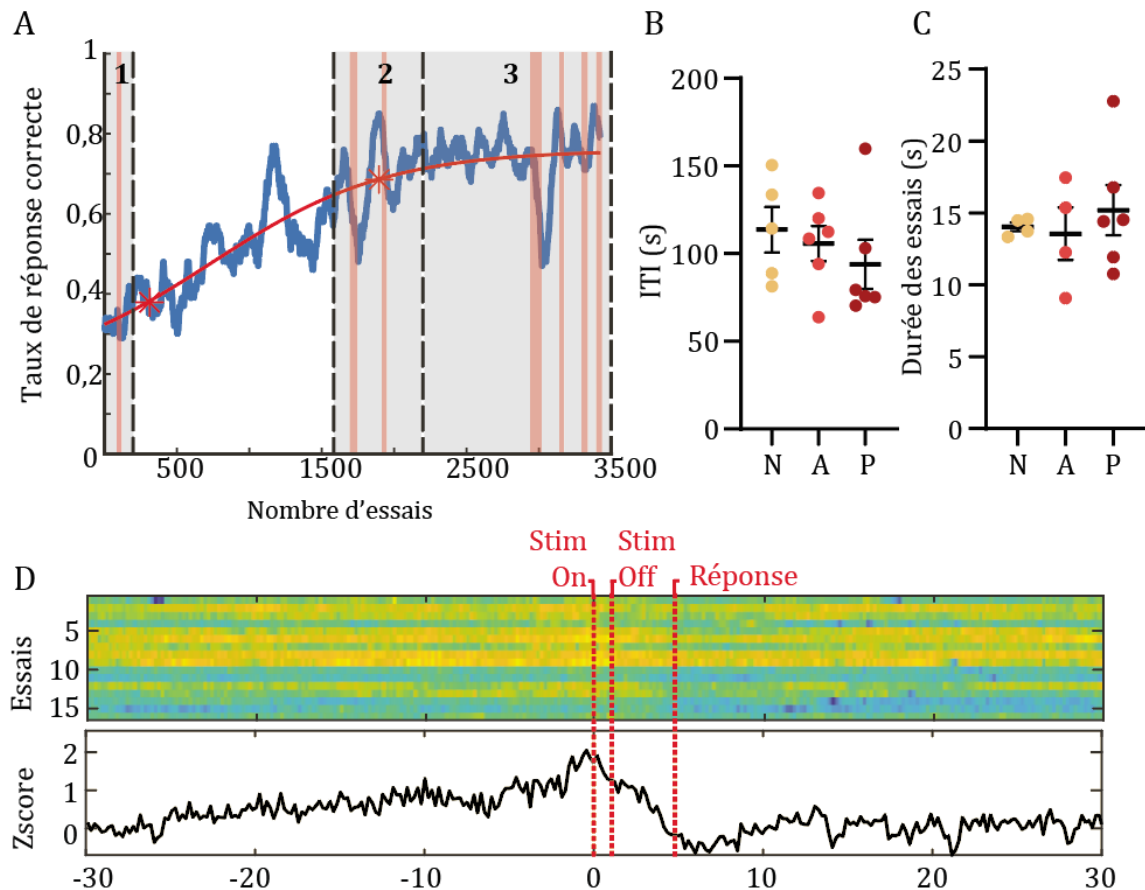


Figure 39. A. Représentation des différentes sessions d'enregistrements au cours de la tâche. Les sessions faisant partie d'une même phase d'apprentissage sont regroupées entre elles. B. PETH (« peri-event time histogram ») du signal calcique de 15 essais alignés sur l'apparition du stimulus « Stim ON » et le signal moyenné résultant. Les évènements « Stim OFF » et « Réponse » ont été placés relativement au « Stim ON » selon la durée moyenne de la durée du stimulus et du déplacement de la souris jusqu'à la réponse. C. Durée moyenne inter-essais par souris et par phase d'apprentissage. L'initiation d'un essai a lieu au moment de l'apparition du stimulus. D. Durée moyenne des essais par souris et par phase d'apprentissage. N = Naïve, A = Apprentissage tardif, P = Plateau.

5.4.3.2. Le plateau d'activité des interneurons PV striataux comme bornes du processus de prise de décision

Les résultats de la figure 40 représentent les variations de l'activité des interneurons PV alignées sur l'apparition du stimulus (Stim ON) ou sur la disparition du stimulus (Stim OFF) pour tous les essais (corrects et incorrects) de chaque souris lors des différentes phases d'apprentissage.

Pour les trois phases d'apprentissage, lorsque le signal est aligné sur l'apparition du stimulus, une augmentation progressive de l'activité des interneurons PV de 1 à 4 secondes avant l'apparition du stimulus est observée. Au moment du Stim ON, l'activité neuronale a augmenté de 17% [-41%, +58%] par rapport à la baseline pour la phase naïve (*Figure 40A*), de 43% [-36%, +104%] pour la phase d'apprentissage tardif (*Figure 40E*), et de 75% [-5%, +168%] pour la phase de plateau (*Figure 40I*), suggérant un recrutement des interneurons PV plus important lorsque la tâche est acquise.

Lorsque le signal est aligné sur la disparition du stimulus, une période d'activité soutenue est observée de 1 à 2 secondes avant le Stim OFF, suivie d'une diminution du signal de 62%, 67%, et 75% par rapport à la baseline, respectivement pour les trois phases d'apprentissage, avant de se stabiliser environ 3,5 secondes après le Stim OFF, correspondant à peu près à l'évènement de « Réponse » de la souris (la durée de déplacement jusqu'à la réponse est de 3,74 secondes et 3,42 secondes pour la phase d'apprentissage tardif et la phase plateau) (*Figures 40B, F, J*). Pour chaque animal, le début de cette décroissance d'activité interneuronale semble être corrélé à la disparition du stimulus.

Afin de déterminer de manière précise et objective ce changement d'activité calcique, un modèle de régression non linéaire ainsi qu'une détection du coude de la courbe marquant le début de la décroissance d'activité ont été appliqués sur la courbe du signal moyen de chaque animal. De cette manière, nous avons pu calculer un délai entre le début de la décroissance du signal et la disparition du stimulus. Les résultats montrent, que pour des durées de stimulus différentes, la moyenne absolue du délai est de 380 ms [-240, +830 ms] pour la phase d'apprentissage tardif et de 230 ms [-580, +290 ms] pour la phase de

plateau. Cette diminution marquée du signal est alors concomitante à la fin de la prise de décision et à l'engagement de la souris dans sa réponse (*Figure 40C, G, K*). De manière intéressante, pour les quelques animaux qui ne montrent pas d'augmentation de l'activité des interneurons PV au moment de l'apparition du stimulus, une diminution marquée de l'activité est tout de même observée au moment du Stim OFF (*exemple figure 40F, trace bleue et violette*).

Enfin, étant donné que la durée du stimulus est variable d'un essai à l'autre, il n'est pas possible de visualiser directement la dynamique du signal entre l'apparition et la disparition du stimulus. Cependant, une comparaison animal par animal des valeurs du signal lors de ces deux événements durant la phase d'apprentissage tardif permet de montrer une absence de différence du signal entre le Stim ON et Stim OFF (0,43 (0,62) pour le Stim ON, 0,36 (0,62) pour le Stim OFF, $p = 0,13$, Wilcoxon matched pair rank test, *Figure 40H*). Ceci suggère que l'activité des interneurons est soutenue pendant la prise de décision.

Durant la phase de plateau, une diminution significative du signal est observée entre le Stim ON et le Stim OFF, avant la forte diminution lors de l'engagement de la souris (0,75 (0,60) pour le Stim ON, 0,28 (0,49) pour le Stim OFF, $p = 0,03$, Wilcoxon matched pair rank test, *Figure 40J*), suggérant un début de désengagement des interneurons entre le Stim ON et le Stim OFF.

Concernant la phase naïve, aucune différence n'est observée entre ces deux événements. Toutefois, ce résultat est à prendre avec précaution car les niveaux d'activité sont faibles et peu d'animaux sont inclus dans cette phase (*Figure 40C*).

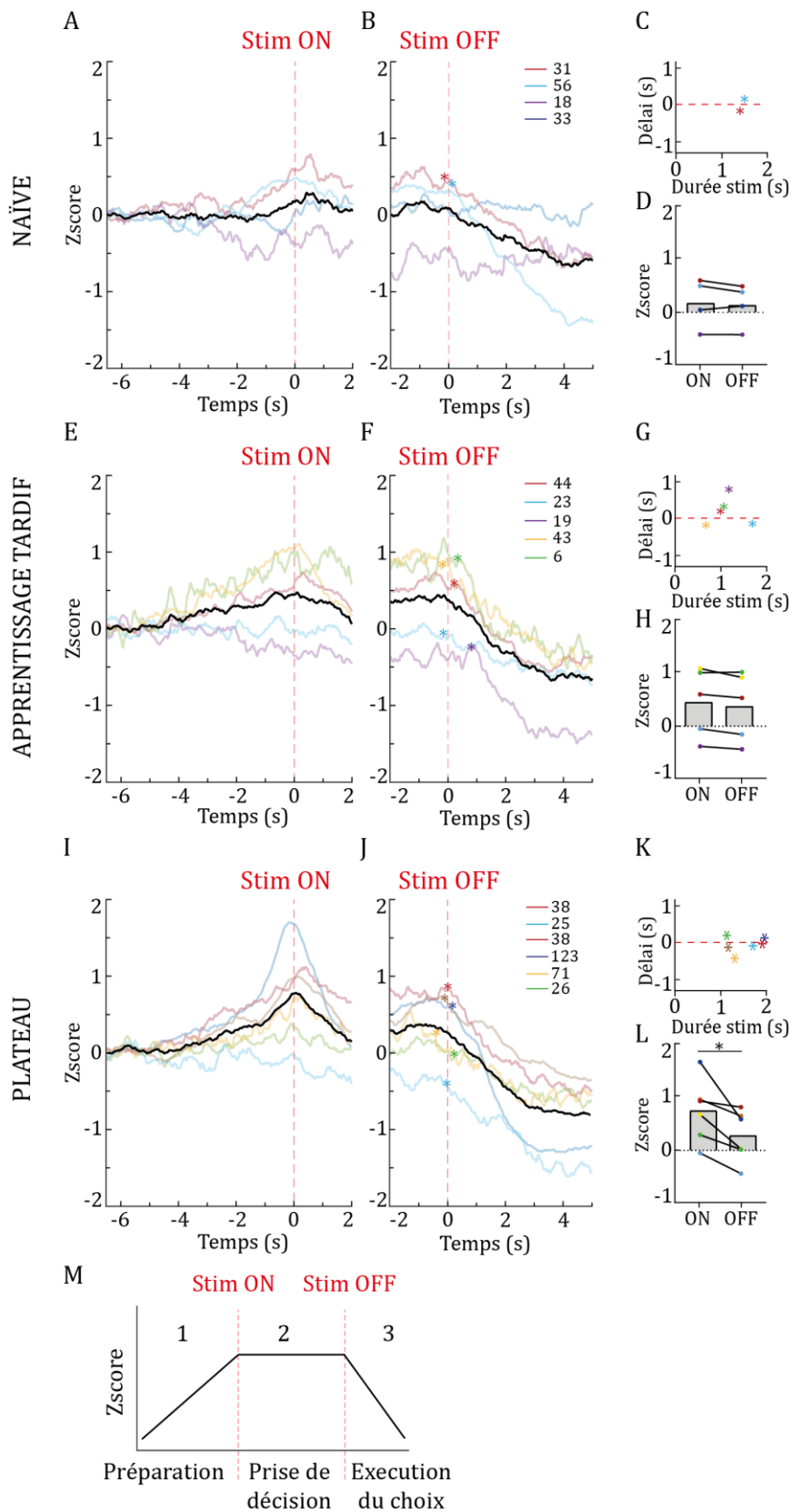


Figure 40. Dynamique d'engagement des interneurons PV striataux lors de la prise de décision perceptuelle. A, B. Activité moyenne des interneurons PV pour les essais

de type *correct* et *incorrect* confondus alignés sur l'apparition du stimulus (Stim ON) (A), et la disparition du stimulus (Stim OFF) (B) lors de la phase naïve. Les traces colorées transparentes indiquent l'activité interneuronale moyenne par animal. Le nombre total d'essais par animal est indiqué sur la figure B. C. Délai entre la disparition du stimulus et le début de la décroissance de l'activité en fonction de la durée médiane du stimulus pour chaque souris. Le début de la décroissance du signal est également indiqué par une étoile sur la courbe d'activité de la figure B. D. Zscore de l'activité moyenne des interneurones PV au moment du Stim ON et du Stim OFF par souris. E-F. Même représentation pour la phase d'apprentissage tardif. I-K. Même représentation pour la phase de plateau. M. Schéma illustratif de la dynamique d'activité des interneurones PV lors de la prise de décision lors de la phase d'apprentissage tardif. Trois phases se distinguent, une phase d'activité croissante (1), une phase d'activité soutenue (2), et une phase décroissante de l'activité (3).

En résumé, ces résultats semblent indiquer une dynamique d'activité des interneurones PV en trois phases au cours de la tâche de prise de décision perceptuelle. La première phase démarre plusieurs secondes avant l'apparition du stimulus et est caractérisée par une augmentation progressive de l'activité interneuronale jusqu'à l'apparition du stimulus (1). Cette première période pourrait alors refléter un état préparatoire, motivationnel, ou encore attentionnel de la souris avant de s'engager dans un essai. La deuxième phase est caractérisée par une activité soutenue entre l'apparition et la disparition du stimulus (2). Cette période correspond à la prise de décision de la souris. Enfin, la dernière phase est caractérisée par une forte décroissance du signal simultanément à la disparition du stimulus (3). Ceci suggère alors un désengagement des interneurones PV lorsque la décision est prise, suivi par l'engagement de la souris dans l'exécution de son choix (Figure 40M).

5.4.3.3. Interprétation de l'activité des interneurons PV

1) Encodage d'une activité locomotrice ?

Afin de comprendre ce que représente l'activité des interneurons PV striataux observée, nous nous sommes interrogés sur le possible encodage de l'activité locomotrice par les interneurons PV comme le suggère l'étude de Gritton et al., 2019, où l'activité interneuronale est décrite comme prédictive de la vélocité de la souris. Pour cela, nous avons représenté l'activité moyenne des interneurons PV centrée sur les différents évènements de la tâche en parallèle de l'activité locomotrice de la souris lors de ces différents évènements (*Figure 41*). Le marquage noir indique lorsque la souris est en mouvement tandis que le marquage gris signale lorsque la souris est à l'arrêt. La superposition de l'activité interneuronale avec l'activité locomotrice de la souris ne montre aucune corrélation entre ces deux paramètres, semblant écarter une possible relation entre l'activité des interneurons PV du striatum dorso-central avec une activité locomotrice. Cependant, une analyse du signal aligné sur l'initiation ou l'arrêt spécifique de la souris viendrait compléter ces résultats afin de les confirmer.

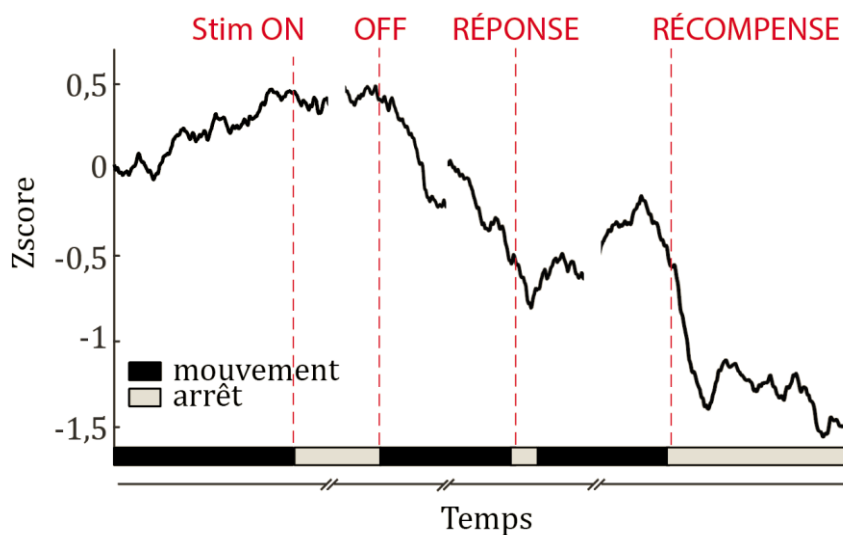


Figure 41. Activité moyenne des interneurons PV striataux alignée sur les différents évènements d'un essai en fonction de l'activité motrice de la souris. Les rectangles noirs indiquent les périodes de l'essai où la souris est en mouvement tandis que les rectangles gris indiquent les moments d'arrêts de la souris.

2) Activité des interneurones en fonction du type de réponse ?

Nous nous sommes ensuite demandé si l'activité des interneurones PV était liée au type de réponse de la souris, par exemple en encodant l'association correcte entre le stimulus et le côté correspondant. Une activité plus forte ou plus soutenue dans le temps pendant la prise de décision pourrait impacter la prise d'information et influencer le taux de réponse correcte. Pour cela, nous avons analysé le signal en différenciant les essais *corrects*, *incorrects* et *abandonnés*, séparément pour les différentes phases d'apprentissage (*Figure 42*).

Pour la phase d'apprentissage tardif, les résultats indiquent une absence de différence dans l'intensité du signal entre les différents types d'essais lors de l'apparition et de la disparition du stimulus (*Figures 42A-C*). Cependant, lors de la phase plateau, une diminution significative de l'intensité du signal de 37% est similairement observée entre les essais *corrects* et *abandonnés*, et entre les essais *incorrects* et *abandonnés* lors de l'apparition et de l'apparition du stimulus ($p = 0,03$, Wilcoxon paired rank test, *Figures 42F, H*). De plus, lorsque le signal est aligné sur le Stim OFF, la pente reflétant la baisse d'activité pour les essais *abandonnés* est moins forte que celles des essais *corrects* et *incorrects*.

Pour comprendre l'origine de cette diminution, nous avons calculé, pour chaque animal, le délai entre l'apparition du stimulus et le pic d'activité autour de cet évènement. Pour certains animaux, aucun pic d'activité n'était observé, dans ce cas, le délai n'est pas représenté sur la figure.

Les résultats indiquent que pour les essais *corrects* et *incorrects* de la phase plateau, le pic d'activité est centré sur l'apparition du stimulus, tandis que pour les essais *abandonnés*, la survenue du pic est dispersée entre -1 et 1 secondes autour du Stim ON. Comme le signal de chaque essai est aligné sur le Stim ON, cette dispersion a pour effet d'aplatir le signal moyen des essais *abandonnés* autour et pendant le Stim ON (*Figure 42I*). De plus, cet effet est accentué par une diminution de l'intensité du pic du signal pour ces essais *abandonnés* (*Figure supp. 5*).

Ensuite, concernant le signal aligné sur le Stim OFF, pour chaque animal, nous avons calculé le délai entre le Stim OFF et le coude marquant le début de la baisse de l'activité des interneurones PV. Les résultats montrent que ce délai pour les essais *corrects* et

incorrects est centré au moment de la disparition du stimulus, tandis que pour les essais *abandonnés*, la diminution de l'activité est dispersée entre -1,5 et 1,5 secondes autour du Stim OFF (*Figure 42*) montrant que le désengagement des interneurons PV n'est pas aligné avec la prise en compte du stimulus.

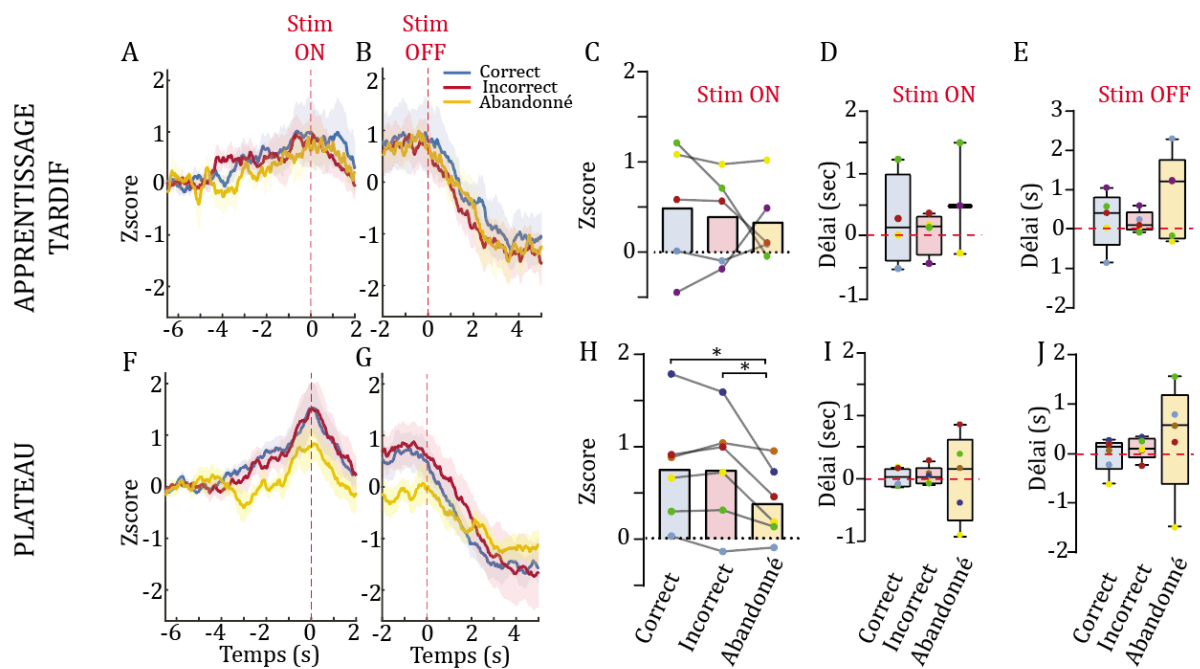


Figure 42. **A, B.** Activité moyenne des interneurons PV pour les essais de type corrects, incorrects et abandonnés alignée sur le Stim ON (A) et le Stim OFF (B) lors de la phase apprentissage tardif. **C.** Valeur moyenne de l'activité des interneurons PV lors du Stim ON en fonction des différents types d'essais. **D.** Délai entre le pic d'activité et l'activité lors du Stim ON en fonction des différents types d'essais. **E.** Délai entre le coude de l'activité décroissante et l'activité lors du Stim OFF en fonction des différents types d'essais. **F-J.** Même représentation pour la phase plateau. * $p < 0,05$, Wilcoxon paired signed rank test.

Bien qu'aucune différence d'intensité de signal ne soit observée entre les différents type d'essais lors de la phase d'apprentissage tardive, les délais calculés pour les différents types d'essais indiquent une dispersion du pic d'activité autour du Stim ON et du coude de décroissance autour du Stim OFF plus importante que lors de la phase plateau. Ceci explique en partie la diminution du signal observée au moment du Stim ON entre la phase d'apprentissage tardif et la phase de plateau.

Ici la phase naïve n'est pas analysée, le taux de réponse correcte étant autour de 50%, les souris ne font pas la distinction entre les essais de type *correct* et *incorrect*.

En résumé, l'activité des interneurons ne semble pas être corrélée à l'activité locomotrice de la souris mais au processus de prise de décision requis pour effectuer la tâche. Aucune différence de l'activité des interneurons PV n'est observée entre les différents type de réponse de la souris lors de la phase d'apprentissage tardif. L'activité maximale de ces interneurons ainsi que leur baisse d'activité lors de l'engagement de la souris dans son choix est dispersée autour du Stim ON et du Stim OFF respectivement, sans distinction pour le type de réponse donné.

Concernant la phase de plateau, nous observons une disparition de cette dispersion lors du Stim ON et Stim OFF pour les essais corrects et incorrects. L'activité des interneurons PV augmente de manière progressive et atteint son niveau maximal lors de l'apparition du stimulus, puis diminue fortement après la disparition du stimulus (lorsque la souris exécute son choix). Cependant, la dispersion est conservée pour les réponses de type abandonné entre la phase d'apprentissage tardif et la phase de plateau. Ces résultats suggèrent donc que l'activité des interneurons est fortement corrélée à la prise de décision lorsque celle-ci se base sur l'information du stimulus visuel, et décroît dès que l'animal a fait son choix.

La différence de dispersion entre la phase d'apprentissage tardif et la phase de plateau suggère une activité des interneurons PV plus précise lorsque l'animal devient expert et optimise sa décision.

FIGURES SUPPLÉMENTAIRES

CHAPITRE 5.

5.3.2. LA PRISE DE DÉCISION EST MODULÉE PAR LE CONTEXTE D'INCERTITUDE DE LA SOURIS

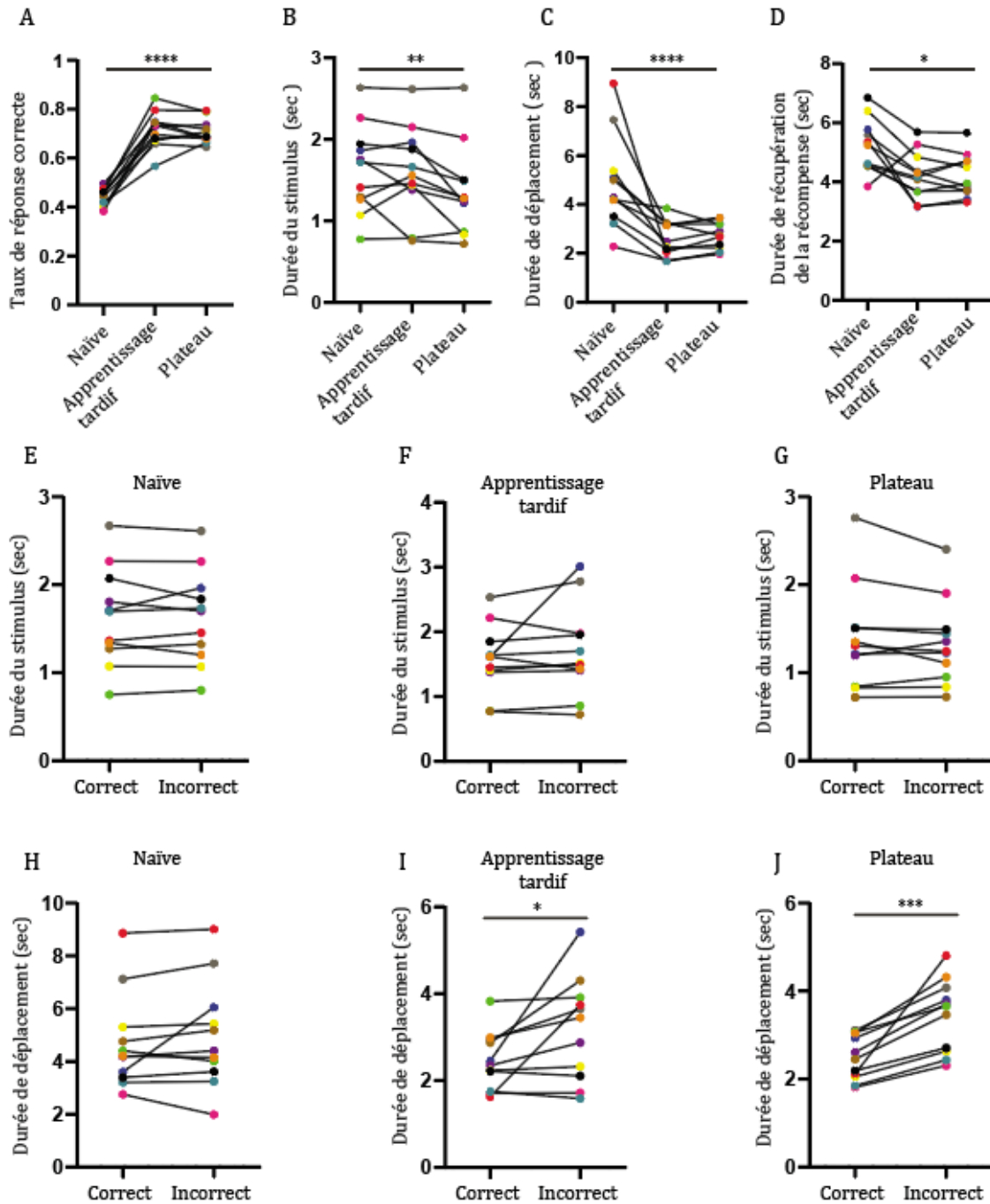


Figure supplémentaire 1. Données comportementales brutes des souris pendant le niveau 1 de la tâche de prise de décision perceptuelle. A-D. Taux de réponse correcte (A), durée du stimulus (B), durée de déplacement (C), durée de déplacement jusqu'à la récompense (D) en secondes, en fonction des différentes phases d'apprentissage de la souris. **E-G.** Durée de l'exposition au stimulus en fonction des essais *corrects* et *incorrects* pour la phase naïve (E), la phase d'apprentissage tardif (F), la phase plateau (G). **H-J.** Durée de déplacement de la souris entre la prise de décision et la réponse de la souris en fonction des essais *corrects* et *incorrects* pour la phase naïve (H), la phase d'apprentissage tardif (I), la phase plateau (J). **** $p < 0,0001$, *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, Friedman paired test ou Wilcoxon paired signed rank test.

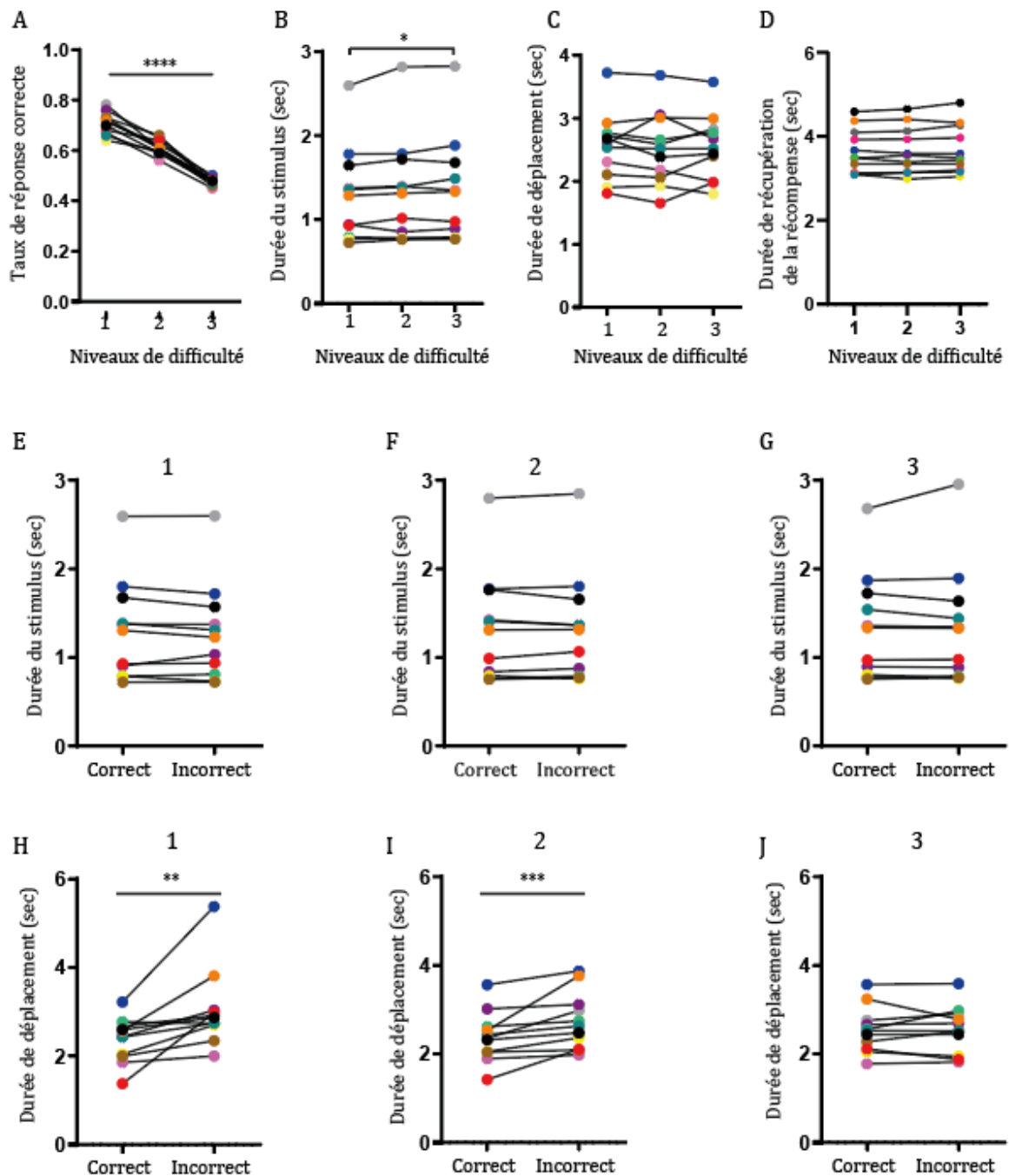


Figure supplémentaire 2. Données comportementales brutes des souris pendant le niveau 2 de la tâche de prise de décision perceptuelle. A-D. Taux de réponse correcte (A), durée du stimulus (B), durée de déplacement (C), durée de déplacement jusqu'à la récompense (D) en secondes, en fonction des différents niveaux de difficulté. E-G. Durée de l'exposition au stimulus en fonction des essais *corrects* et *incorrects* pour la difficulté 1 (E), difficulté 2 (F), difficulté 3 (G). H-J. Durée de déplacement de la souris entre la prise de décision et la réponse de la souris en fonction des essais *corrects* et *incorrects* pour la difficulté 1 (H), difficulté 2 (I), difficulté 3 (J). **** $p < 0,0001$, *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, Friedman paired test ou Wilcoxon paired signed rank test.

CHAPITRE 5.

5.41. RECRUTEMENT ET DÉSENGAGEMENT DES INTERNEURONES PV LORS DU PROCESSUS DÉCISIONNEL

5.4.1.2. Stratégie virale et optique

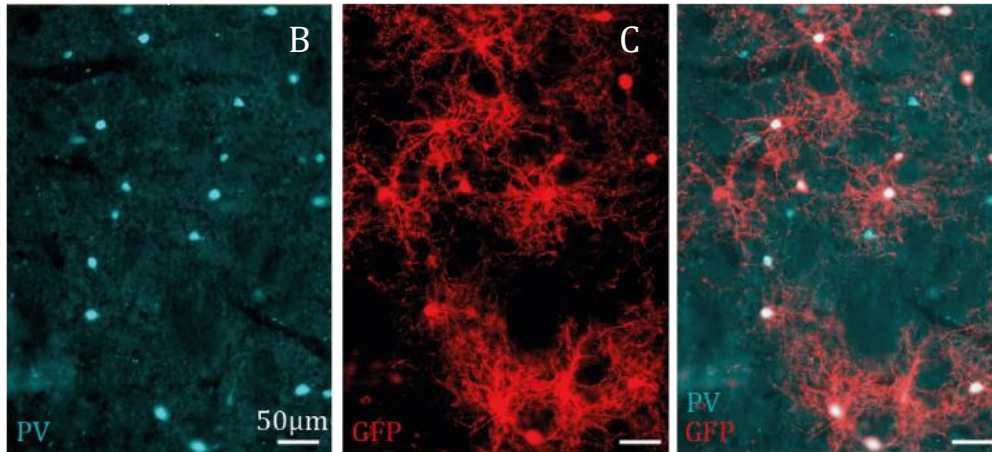


Figure supplémentaire 3. Expression de l'indicateur calcique GCaMP7f dans les interneurones PV. A. Marquage de la protéine parvalbumine. **B.** Marquage de la protéine GFP, protéine rapportrice du virus injecté. **C.** Co-localisation du virus GCaMP7f dans les interneurones exprimant la parvalbumine.

5.4.2. IMPACT DE LA FIBRE OPTIQUE SUR LES PERFORMANCES DES SOURIS

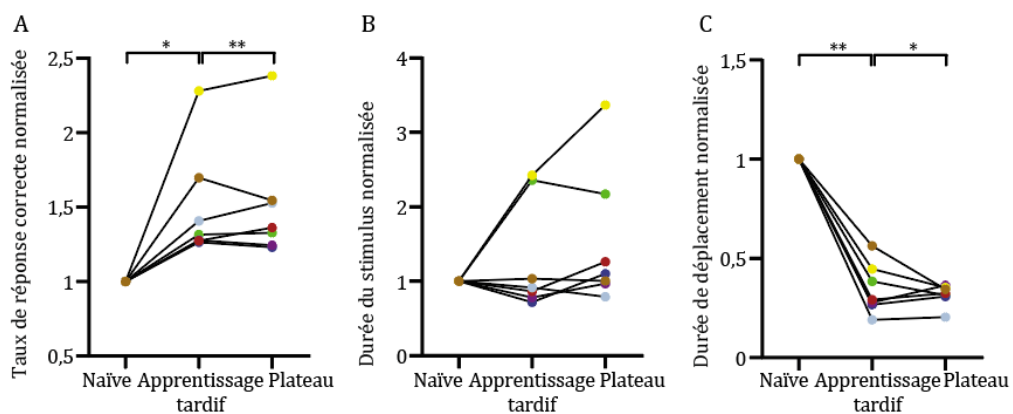


Figure supplémentaire 4. A-C. Variations du taux de réponse correcte (A), de la durée d'exposition au stimulus (B) et de la durée de déplacement (C) en fonction des différentes phases d'apprentissage de chaque souris. Les moyennes des souris sont normalisées par

la phase naïve de la souris correspondante. ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, Wilcoxon signed rank test ou Wilcoxon paired signed rank test.

5.4.3. DYNAMIQUE DE L'ACTIVITÉ DES INTERNEURONES PV STRIATAUX AU COURS DE LA TÂCHE DE PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

5.4.3.3. Interprétation de l'activité des interneurones PV

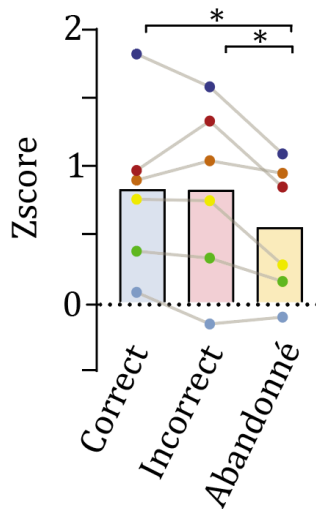


Figure supplémentaire 5. Diminution de l'activité des interneurones PV pour les essais de type *abandonné* lors de la phase plateau. Pour chaque souris, la valeur du pic d'activité autour du Stim ON a été représentée en fonction des types de réponse de la souris. * $p < 0,05$, Wilcoxon paired signed rank test.

DISCUSSION

Sommaire

6. Chapitre 6 : Conclusion, interprétations, perspectives.....	200
6.1. Conclusion générale.....	200
6.2. Influence des interneurons striataux dans la mise en place de..... comportements répétés.....	203
6.3 Dynamique des interneurons PV lors de la prise de décision..... perceptuelle.....	209
6.4 Mesure de la prise de décision perceptuelle chez la souris..... <i>Sapap3</i> -KO.....	216

CHAPITRE **6.** **CONCLUSION, INTERPRÉTATION, PERSPECTIVES**

6.1 CONCLUSION GÉNÉRALE

A l'issue de ces 4 années de thèse, j'ai contribué à la compréhension du rôle du réseau d'interneurones striataux dans la régulation de comportements chez le rongeur en condition normale et pathologique. J'ai dans un premier temps mis en évidence des anomalies de répartition des interneurones striataux dans un modèle murin exprimant des comportements répétitifs excessifs. Plus particulièrement, nous avons pu montrer une altération de densité d'interneurones dans le striatum centro-médian, une zone de projections d'aires préfrontales connues pour être affectées dans des pathologies de troubles de comportement répétitifs. Pour caractériser quel pourrait être le rôle fonctionnel des interneurones dans cette région striatale, je me suis intéressée dans une seconde étude à la dynamique de l'activité neuronale des interneurones PV lors du processus de prise de décision perceptuelle chez des souris de type sauvage, une fonction également affectée dans des troubles conduisant à des comportements compulsifs.

Durant la première partie de ma thèse, j'ai développé une méthodologie permettant une représentation spatiale du réseau striatal d'interneurones PV et ChAT à l'échelle du groupe, permettant des comparaisons précises entre différentes conditions et des quantifications de différences topographiques sans *a priori*. Mes travaux posent les bases méthodologiques d'une détection systématique non supervisée de clusters de densité

neuronale différents dans l'ensemble du striatum entre les souris *Sapap3-KO* et des souris sauvages. Les résultats mettent en évidence une diminution des interneurons ChAT dans le striatum sensorimoteur tandis qu'une altération de la densité des interneurons PV a été observée dans le striatum associatif des souris *Sapap3-KO*. Cette dernière région reçoit des projections d'aires corticales préfrontales impliquées dans des processus cognitifs tels que la prise de décision. L'altération de cette boucle corticostriatale causée par une variation de la densité des interneurons PV pourrait être à l'origine des comportements mal-adaptés observés chez la souris *Sapap3-KO*.

Consécutivement à ces premiers travaux, la seconde partie de ma thèse a consisté à étudier l'implication des interneurons PV lors du processus de prise de décision chez la souris sauvage. Ce projet a représenté des défis à plusieurs niveaux. D'une part, peu de tâches comportementales réalisées chez la souris libre de ses mouvements permettent de mesurer précisément la durée de la prise de décision, nécessitant alors le développement d'un paradigme répondant à ce besoin. D'autre part, les interneurons PV striataux représentent une population neuronale très clairsemée dans le striatum, rendant leur enregistrement *in vivo* d'autant plus compliqué.

Pour répondre aux objectifs de ce second projet, j'ai développé une nouvelle tâche comportementale visuelle de prise de décision chez la souris permettant de mesurer précisément ce processus cognitif et de le discriminer du processus moteur lié à la réponse de la souris. Dans un premier temps, les variations de durée de prise de décision observées en fonction de niveau d'apprentissage et de la difficulté du stimulus sensoriel ont permis de valider l'utilisation de cette tâche pour étudier les processus liés à la prise de décision chez la souris. Ainsi, j'ai ensuite développé la seconde phase de ce projet consistant à enregistrer l'activité des interneurons PV par photométrie lors de ce processus décisionnel. Ces expériences ont mis en évidence

- 1) un recrutement des interneurons PV durant la prise de décision,
- 2) une dynamique de leur activité spécifique au stade d'apprentissage de la souris,
- 3) une dynamique de leur activité spécifique du niveau d'engagement de la souris dans l'exécution de la tâche.

Cet ensemble de résultats participe à l'enrichissement des connaissances sur le rôle du striatum dans la régulation des processus cognitifs, en partie via le recrutement des interneurons PV. Ce domaine de recherche a émergé il y a relativement peu de temps et

par conséquent est encore peu étayé (Gage et al., 2010, Lee et al., 2017, Thorn et al., 2010, 2014). Outre ces résultats encourageants sur l'activité des interneurons PV lors de la prise de décision, l'utilisation de cette nouvelle tâche dans le laboratoire permettra le développement de nouveaux projets considérant la discrimination possible entre processus cognitif et moteur lors de l'étude de la prise de décision.

Dans la prochaine et dernière partie de ce manuscrit, je discuterai plus généralement des résultats présentés dans ce manuscrit. D'une part nous aborderons des pistes d'interprétation concernant la topographie striatale des interneurons et les conséquences de son altération dans le contexte de comportements compulsifs. D'autre part, nous reviendrons sur l'enregistrement de l'activité des interneurons PV au cours de la prise de décision, et proposerons une interprétation sur la fonction de ce réseau au sein des boucles cortico-striatales. Enfin, nous discuterons des pistes expérimentales envisageables pour la poursuite de ce travail

6.2. INFLUENCE DES INTERNEURONES STRIATAUX DANS LA MISE EN PLACE DE COMPORTEMENTS RÉPÉTÉS

6.2.1. Rôle des gradients cellulaires, moléculaires et électrophysiologiques striataux

Les résultats de la première étude ont confirmé la présence d'un gradient de densité. Les différences au sein du striatum établissent un consensus aujourd'hui, aucune étude à ma connaissance s'est intéressée au rôle fonctionnel que pourrait avoir ces différents gradients. Dans cette section, je discuterai alors des hypothèses possibles sur le rôle de ces variations entre sous-régions striatales, notamment dans le contexte dichotomique de la régulation des comportements dirigés vers un but ou de comportements habituels.

Dans le contexte de la régulation de l'action et de la formation des comportements répétitifs, le striatum dorsomédial, recevant des projections du cortex associatif, est impliqué dans la mise en place de comportements dirigés vers un but, c'est-à-dire la réalisation d'actions dans le but d'obtenir une récompense. Ces comportements sont flexibles et s'adaptent aux variations de l'environnement. À l'inverse, les comportements habituels se caractérisent par une insensibilité à la récompense et par l'exécution du comportement de manière automatique et rigide. Il a été proposé que les bases neuronales sous-jacentes de ces processus habituels résident dans le striatum dorsolatéral qui reçoit des projections corticales des aires sensorimotrices. En plus d'une densité cellulaire plus importante dans le striatum dorsolatéral, les interneurones PV de cette région possèdent une arborisation plus étendue et complexe que les interneurones dorsomédians (Monteiro et al., 2018). D'un point de vue physiologique, cela suggère une plus grande densité de boutons synaptiques formés sur les MSNs, augmentant alors le pouvoir inhibiteur sur ces neurones de projections dans cette région.

Ainsi, nous pourrions formuler l'hypothèse que lors des comportements dirigés vers un but, une inhibition massive de l'activité striatale dorsomédial n'est pas souhaitée afin de

permettre une exploration de choix alternatifs, permettant alors un apprentissage par essai-erreur.

A l'inverse, l'inflexibilité des comportements habituels pourrait être soutenue par cette inhibition massive de l'activité striatale dorsolatérale par les interneurons PV, effaçant toutes alternatives compétitrices et figeant ces associations stimulus-réponse comme automatiques.

Cependant, d'autres gradients spécifiques de l'axe dorsomédial à dorsolatéral sont également retrouvés, ce qui peut remettre en question l'hypothèse émise ci-dessus.

Un gradient d'expression de la protéine PV a été décrit dans plusieurs études (Ma et al., 2014, Monteiro et al., 2018, Munoz-Manchado et al., 2018). En effet, les interneurons PV du striatum dorsolatéral expriment plus fortement la protéine PV que ceux du striatum dorsomédial. La protéine PV est connue pour impacter les propriétés électrophysiologiques de la cellule. Une étude menée par Orduz et al., (2013) a utilisé des souris transgénique PV(-/-), c'est-à-dire qui n'expriment pas la protéine PV, pour comparer l'activité de ces interneurons en présence ou absence de PV. Les interneurons PV(-/-) sont moins hyperpolarisés que les interneurons de souris WT, augmentant leur excitabilité tout en ayant une activité spontanée plus régulière et rythmée que les interneurons de souris WT. Ces résultats sont appuyés par les travaux de Monteiro et al. (2018) qui montrent une excitabilité intrinsèque plus importante des interneurons du striatum dorsomédial (à faible expression de PV) que du striatum dorsolatéral.

Toujours dans le contexte comportemental où le striatum dorsomédial est important pour l'acquisition de nouveau comportement, avoir une population d'interneurons PV répondant davantage aux activations corticales permettrait une meilleure régulation du comportement durant la mise en place de l'acquisition du comportement par essai-erreur. Dans le cas où un outcome inattendu arriverait, requérant une flexibilité du comportement, une population d'interneurons plus excitable serait alors plus facilement activée pour inhiber et moduler l'activité des MSNs, ceci dans le but de sélectionner un comportement plus adapté. Lorsqu'un comportement a suffisamment été répété et a gagné en efficacité, celui-ci ne devrait plus pouvoir être modifié facilement. C'est pourquoi on peut alors supposer que les interneurons PV du striatum dorsolatéral,

bien que disposés dans un réseau plus dense, auraient besoin d'être plus fortement activés pour répondre.

6.2.2. Impact de la différence de densité striatale chez les souris *Sapap3-KO*

Les résultats de la première partie de ma thèse ont également mis en évidence une altération de la topographie des interneurones PV et ChAT chez les souris *Sapap3-KO* dans des sous-régions striatales précises.

La grande majorité des afférences sur ces deux populations striatales provient du cortex. Plus spécifiquement, une étude récente a montré que la voie corticostriatal associative projetait plus densément vers les neurones ChAT du striatum dorsomédial que les projections de la voie cortico striatale sensorimotrice vers les neurones ChAT du striatum dorsolatéral. A l'inverse, les projections de la voie cortico striatal sensorimotrice sont plus denses vers les interneurones PV du striatum dorsolatéral que les projections de la voie corticostriatale associative vers les interneurones PV (Klug et al. 2018).

Les résultats de notre étude montrent que la diminution de la densité des interneurones ChAT a lieu sur le territoire sensorimoteur (striatum dorsolatéral) et à l'inverse, l'altération de la densité des interneurones PV a lieu dans le striatum associatif (dorsomédial et central) et limbique (striatum ventromédial). Si une diminution de ces populations neuronales a lieu dans une région recevant déjà moins/peu de projections corticales, alors on peut supposer que l'impact de cette altération sur la régulation de l'activité striatale pourrait être d'autant plus conséquente.

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant les causes contribuant à l'émergence des comportements répétés pathologiques. Celles-ci suggèrent entre autres une dérégulation de la transition des comportements répétés vers les comportements habituels, un défaut de flexibilité empêchant une adaptation de son comportement face à un environnement volatil (Gillan et al., 2011), une mauvaise gestion de l'incertitude sur les décisions prises ou sur la perception du stimulus (Hermans et al., 2008; van den Hout et al., 2009), un biais d'attribution des valeurs aux actions à réaliser (Gillan et al., 2014), ou encore un sur-

renforcement des associations stimulus-réponse provoquant une expression automatisée et inadaptée de certaines actions.

Le rôle des voies corticostriatales associatives et sensorimotrice ont été décrits dans les processus cités plus haut (Lak et al. 2014; Nogueira et al. 2017; Ostlund and Balleine 2007; Burguiere et al. 2013; O'Hare et al., 2018; Yin et al., 2004). Par exemple, Gremel et Costa (2013) ont montré un recrutement plus important du cortex orbitofrontal latéral chez la souris lors de la réévaluation d'une récompense après dévaluation de celui-ci. Ceci illustre ainsi son rôle dans l'adaptation du comportement face à l'environnement volatil.

Une dérégulation de l'activité de ces boucles corticostriatales due à une altération de réseau d'interneurones striataux pourrait alors participer à la mise en place de ces comportements mal adaptés.

Le développement de ces comportements mal adaptés peut être favorisée par des facteurs tels que le stress. En effet, ce dernier est connu pour être un facteur favorisant l'expression des comportements habituels. Schwabe et Wolf (2009) ont montré que l'exposition à un stress aigu ou prolongé provoque une diminution de la sensibilité à la dévaluation de la récompense chez des sujets sains. L'amygdale, qui joue un rôle prépondérant dans l'expression de comportements anxieux, envoie des projections glutamatergiques vers le striatum dorsomédial et dorsolatéral, influençant l'acquisition des comportements dirigés vers un but mais aussi sur la formation de comportements habituels (Corbit et al., 2013; Lingawi et Balleine, 2012). Cela suggère que de hauts niveaux de stress pourraient renforcer la transition des comportements dirigés vers un but vers la formation de comportements habituels, et ce via l'activation de l'amygdale. Dans le cas du syndrome Gilles de la Tourette, les tics sont exacerbés par des situations anxieuses, potentiellement en conséquence d'une suractivation des MSNs striataux par les projections de l'amygdale dont l'activité ne peut plus être correctement régulée du fait de la diminution des interneurones ChAT de la région sensorimotrice striatale.

6.2.3. Et si les anomalies de densité des interneurons PV observées provenaient d'une altération de l'expression des niveaux de protéine PV ?

Classiquement, l'identification des interneurons PV se fait par immunomarquage de la protéine PV ou bien en utilisant des souris transgéniques rapportrices. Une diminution ou augmentation de l'expression de cette protéine pourrait alors induire une quantification faussée de la densité de cellules. C'est ce que suggèrent les travaux menés par Filice et al. (2016) réalisés sur un modèle de souris *Shank3B*-KO. Ce modèle KO pour la protéine d'échafaudage post-synaptique excitatrice *Shank3B* reproduit des symptômes du spectre autistique tels que des comportements répétés stéréotypés. Ces comportements se traduisent par une augmentation du toilettage de la souris malgré l'apparition de lésions (Peça et al. 2011). Filici et al. ont alors montré, par double marquage de la protéine PV et des réseaux périneuronaux (une matrice extracellulaire qui englobe préférentiellement les interneurons PV), une diminution de l'expression de la protéine PV et non de la densité cellulaire de cette population interneuronale striatale. La diminution de cette protéine a pour conséquence d'augmenter l'excitabilité du neurone et consécutivement l'inhibition effectuée sur les MSNs résultant alors à une activité striatale plus faible.

Paradoxalement, dans le cas du modèle de *Sapap3*-KO, une hyperactivité striatale a été enregistrée et expliquée par une plus grande proportion de MSNs activés lors du comportement de toilettage par rapport aux souris sauvages, suggérant une baisse de l'inhibition par les interneurons PV (Burguiere et al., 2013; Ramírez-Armenta et al., 2022). De plus, Mondragón-González et al., (2022, BioRxiv) ont montré que l'activation des interneurons PV par optogénétique (et non pas l'inhibition comme le suggérerait Filice et al.) prévient l'apparition de comportements compulsifs chez la souris *Sapap3*-KO. Ces résultats semblent alors suggérer qu'il s'agit d'un déficit du nombre d'interneurons PV plutôt qu'un déficit de la protéine.

Cependant, qu'il s'agisse d'une perturbation protéique (baisse de protéine PV) ou cellulaire (baisse de densité d'interneurons), notre étude ici apporte une localisation spatiale précise des altérations striatales observées chez le modèle de souris *Sapap3*-KO.

6.2.4. Perspectives

L'impact neurophysiologique n'est pas le même lors d'une diminution du nombre d'interneurones PV ou d'une diminution de l'expression de parvalbumine. En effet, une diminution cellulaire diminue d'autant l'inhibition striatale, tandis qu'une diminution protéique augmente l'activité cellulaire ainsi que l'inhibition striatale. L'hyperactivité striatale observée chez la souris *Sapap3-KO* suggère une diminution d'inhibition sur les MSNs (Burguiere et al. 2013; Ramírez-Armenta et al. 2022). Les résultats apportés par notre étude ne permettent pour le moment pas d'écarter l'hypothèse d'une diminution cellulaire ou d'une augmentation protéique.

Afin de statuer, il faudrait pouvoir à la fois quantifier l'expression de la protéine PV par interneurone tout en attribuant l'identité de ces interneurones indépendamment du marquage de la protéine, et en gardant les coordonnées spatiales de ces informations. Cette approche est possible en utilisant les dernières technologies de transcriptomique spatiale. Cette technique récente permet l'analyse combinatoire *in situ* à une résolution cellulaire, de l'expression de plusieurs centaines de gènes par merFISH (multiplexed error-free fluorescent *in situ* hybridization) et de quelques protéines par immunofluorescence. Il serait alors possible d'attribuer l'identité d'interneurones PV à une population cellulaire sur la base de l'expression combinatoire de centaines de transcrits (en quelque sorte une signature moléculaire des interneurones PV) et de quantifier précisément la quantité d'ARNm et de protéine PV à l'échelle unicellulaire, tout en conservant la topographie de chacun de ces interneurones dans le striatum (Malaiya et al. 2021; Muñoz-Manchado et al. 2018).

6.3. DYNAMIQUE DES INTERNEURONES PV LORS DE LA PRISE DE DÉCISION PERCEPTUELLE

6.3.1. Utilisation de la photométrie pour l'étude de l'activité striatale

La technique de photométrie présente plusieurs avantages discutés ci-dessous, cependant il existe une limitation qu'il est important de considérer dans toute interprétation des résultats. En effet, cette technique permet de collecter la résultante nette de l'activité cumulée d'une population neuronale enregistrée. Ceci implique qu'il n'est pas possible de discriminer si la population entière se comporte de la même manière ou si seule une fraction de neurones activés conduit au signal enregistré. Il est d'ailleurs établi que différentes fractions d'une même population neuronale peuvent se comporter simultanément de manière différente dans un même contexte (Terra et al., 2020; Duhne et al., 2021).

1) Capturer la dynamique d'un circuit par enregistrement photométrique

Un comportement n'est pas seulement encodé par une fréquence moyenne de décharge neuronale mais aussi par la probabilité d'activation coordonnée de plusieurs types cellulaires ou de plusieurs structures cérébrales en relation les unes avec les autres. Comprendre comment ces différentes populations ou structures communiquent et coordonnent leur activité est essentiel pour considérer le cerveau comme un système dynamique. La technique de photométrie présente l'avantage de pouvoir enregistrer de manière simultanée plusieurs types de population neuronale (Meng et al., 2018).

Dans le cadre de ce projet, il serait pertinent d'enregistrer à la fois les interneurones PV et les MSNs de type D1-R ou de type D2-R du striatum dorsomédial durant la prise de décision perceptuelle. En effet, la voie D1-R est facilitatrice du mouvement tandis que la voie D2 est inhibitrice, bien que de plus en plus de travaux montre une co-activation de ces deux voies lors d'un comportement donné (Tecuapetla et al., 2014, 2016; Cui et al., 2013). Ainsi, dans ce contexte, est-ce que les interneurones PV ciblent préférentiellement une des deux populations en fonction du processus cognitif mis en jeu ? Changent-ils de

cible une fois qu'une décision est prise ? D'autre part, selon le niveau d'activité striatale, l'impact des interneurons PV sur les MSNs peut avoir un effet facilitateur ou inhibiteur de leur activité, complexifiant alors l'output striatal final.

La technique de photométrie permet également l'enregistrement de plusieurs structures cérébrales à la fois tout en perturbant une population neuronale spécifique par manipulation optogénétique (Kim et al., 2016; Selimbeyoglu et al., 2017). Il serait également intéressant d'enregistrer simultanément les interneurons PV du striatum dorsomédial et dorsolatéral pour comprendre la coordination et la transition entre le processus cognitif et le processus exécutif moteur. Dans le cadre de la transition des comportements dirigés vers un but vers des comportements automatisés, il serait pertinent de suivre l'implication de l'activité des interneurons PV dans ces deux sous-régions striatales lors des différentes phases d'apprentissage de la souris. En effet, cette tâche permet d'opposer des comportements nécessitant une flexibilité permettant l'apprentissage de la tâche par essai-erreur à des comportements plus automatisées, à savoir lorsque la souris devient experte dans l'exécution de la tâche.

2) Origine du signal calcique

Le développement de cette technique est relativement récent mais son utilisation s'est rapidement popularisé. Cependant l'origine biologique précise du signal enregistré est encore incertaine. Un article récent a comparé l'activité des MSNs dans le striatum dorsomédial obtenue par enregistrement en photométrie et par enregistrement en cellule unique par tétrode (Legaria et al., 2022). Les auteurs suggèrent que l'activité observée par photométrie ne reflète pas une activité somatique de la cellule, mais des variations calciques ayant lieu dans les régions non-somatiques, un phénomène qui serait amplifié dans le striatum dû aux extensions dendritiques particulièrement larges des neurones striataux. Par exemple, ils décrivent une durée de la diminution d'activité des MSNs à un niveau basal moins importante de plusieurs dizaines de secondes par enregistrement en tétrode que par photométrie. Ce niveau d'activité soutenue serait alors dû à l'activité non-somatique du neurone.

Bien que cela puisse nuancer l'interprétation des résultats présentés dans cette étude, cela ne remet pas en cause une activité des interneurons PV concertée et spécifique à des évènements comportementaux précis de la tâche. De plus, pour un signal moyen entre -

30 et +30 secondes centré autour de l'apparition du stimulus (*Figure 38*), nous observons une première augmentation très lente et progressive du signal dès -25 secondes avant l'apparition du stimulus, puis une seconde phase durant laquelle le signal augmente plus rapidement. Cette première phase pourrait correspondre à de l'activité non somatique des neuropiles qui précéderait l'activité somatique, comme décrit dans les interneurones ChAT striataux par Rehani et al. (2019).

6.3.2. Dynamique d'activité des interneurones PV striataux lors du processus décisionnel

Les résultats de photométrie ont mis en évidence une dynamique en 3 phases de l'activité des interneurones PV lors de la tâche de prise de décision perceptuelle.

1) Première phase

De manière inattendue, nous avons observé un recrutement des interneurones PV plusieurs secondes avant l'apparition du stimulus informatif de la décision à prendre. Cette augmentation progressive d'environ 4 secondes avant l'apparition du stimulus ne correspond pas à la cinétique d'un potentiel d'action classiquement observé par cette technique (la durée du demi-temps de croissance du GCaMP7f est de 27ms, Dana et al., 2019). Cette activité antérieure à l'apparition du stimulus pourrait donc encoder un processus directement lié à la tâche. Le signal n'étant pas aligné sur cet éventuel processus, cela peut se traduire par une augmentation progressive du signal. Néanmoins, le pic d'activité des interneurones PV demeure synchronisé avec l'affichage du stimulus, en dépit d'une initiation et d'une durée variable de ce processus.

Cette activité initiale pourrait refléter un processus attentionnel (qui peut être maintenu durant la deuxième phase de la prise de décision) permettant un filtrage des informations momentanément pertinentes par rapport aux informations non pertinentes, dans le but de se préparer à l'exécution d'un essai. Boroujeni et al. (2020) ont enregistré l'activité des interneurones PV dans le striatum antérieur de singe durant une tâche de prise de décision avec renversement afin de tester le processus attentionnel des sujets. Ils ont

montré que les interneurons PV avaient une activité plus forte en réponse à un stimulus visuel attentionnel plutôt qu'informatif. Ils ont également montré le recrutement de fractions différentes d'interneurons PV selon l'état informatif du stimulus, suggérant que ces derniers façonnent l'activité d'ensemble de MSNs afin de filtrer les informations corticales distrayantes.

Bien qu'il n'y ait pas de stimulus attentionnel dans notre tâche comportementale, nous pourrions formuler l'hypothèse que les comportements non pertinents pour l'exécution de la tâche sont inhibés lorsque la souris souhaite s'engager dans la tâche, afin de permettre une meilleure intégration du stimulus visuel informatif.

Pour désambiguïser cette activité « préparatrice » d'une activité déclenchée par l'apparition du stimulus informatif, il faudrait ajouter une initiation active de l'essai par la souris au design de la tâche, qui soit indépendante et suffisamment espacer de l'affichage du stimulus.

2) Deuxième phase

La deuxième phase d'activité observée correspond à la période entre le Stim ON et le Stim OFF, soit quand la souris fait face à l'écran et doit délibérer sur le choix à prendre. Au cours de cette période, nous avons observé une activité soutenue des interneurons PV durant la phase d'apprentissage tardif, puis qui décroît légèrement durant la phase de plateau. Cette activité est similaire entre les essais *corrects* et *incorrects* ce qui suggère qu'elle n'agit pas sur la justesse d'une alternative par rapport à une autre. Cependant, cette activité semble corrélérer avec l'immobilité de la souris entre les tunnels, lui permettant d'observer le stimulus.

Cette activité pourrait refléter un contrôle comportemental de la souris afin de pouvoir intégrer correctement de l'information et faire un choix optimal. Une étude de Terra et al. (2020) a montré que les projections du mPFC au striatum dorsomédial étaient cruciales dans l'inhibition comportementale lors d'une tâche de prise de décision (5-CSRTT). Ils ont montré que les réponses prématurées des souris corrèlent à la fois avec une diminution de la variation d'activité des neurones de cette voie et l'anticipation de cette variation. Une seconde étude réalisée cette fois-ci spécifiquement sur les interneurons PV du striatum ventral montre une activité soutenue de ces derniers quand les souris attendent la présentation du stimulus. Les auteurs montrent également que l'inhibition des

interneurones PV augmente le nombre de réponses prématurées suggérant le rôle des interneurones PV dans le contrôle comportemental via leur action sur les MSNs (Pisansky et al., 2019).

Bien que ma tâche ne soit pas conçue pour tester le comportement impulsif de la souris, un contrôle comportemental est tout de même nécessaire pour s'arrêter face à l'écran. Le comportement prématuré pourrait se refléter alors par un engagement de la souris dans une réponse sans avoir été exposée assez longuement au stimulus pour prendre une décision adaptée.

3) Troisième phase

Enfin, la troisième phase correspond à une forte diminution de l'activité des interneurones PV de manière synchronisée à la disparition du stimulus, et indépendamment de la durée d'exposition au stimulus. Cela suggère un désengagement des interneurones PV en fin de prise de décision, suivi de leur engagement dans une réponse comportementale. Un résultat similaire a été observé dans l'étude de Pisansky et al. (2019), où ils observent une diminution de l'activité des interneurones PV peu de temps après l'apparition du stimulus et jusqu'à la réponse de la souris. Nous pourrions supposer que les interneurones sont désengagés une fois le choix réalisé, levant l'inhibition appliquée sur les MSNs et permettant ainsi une exécution comportementale de ce choix.

De manière intéressante, à la phase plateau, le pic d'activité n'est pas centré sur l'apparition du stimulus pour les essais de types *abandonnés*, ce qui est le cas pour les essais de types *corrects* et *incorrects*. Dans le même schéma décrit par l'étude de Terra et al. (2020), une diminution et une mauvaise temporalité d'engagement des interneurones pourraient altérer le contrôle comportemental pendant la prise de décision.

De même, lors des essais *abandonnés*, la diminution de l'activité des interneurones PV n'est pas parfaitement centrée sur le Stim OFF mais se situe pour 4/5 souris distribuée entre 228 ms et 1,56 s après le Stim OFF. Si l'on émet l'hypothèse que les interneurones PV permettent de collecter de l'information jusqu'à délibération de la souris, un arrêt prématuré de l'activité de ces interneurones déclencherait une réponse motrice

prématurée de la souris. N'ayant plus accès à de l'information pour délibérer, l'essai se solderait en abandon.

Chaque phase d'activation des interneurons PV peut être associée à un processus cognitif permettant l'exécution d'un essai. Ces différents processus font intervenir plusieurs aires corticales dont les projections striatales se superposent avec plus ou moins de convergence dans le striatum centromédial. Dans ce territoire-là, il est possible qu'un même interneurone PV reçoive des projections d'aires corticales différentes, comme observé chez les interneurons PV du striatum sensorimoteur. Au cours des phases du processus de décision, les interneurons PV pourraient être séquentiellement recrutés par les différentes aires corticales mises en jeu séquentiellement pendant ces processus.

6.3.3. Perspectives : recrutement des interneurons, oui mais pourquoi ?

1) Consolidation des résultats

Afin de consolider ces résultats et de gagner en puissance statistique, il serait nécessaire d'augmenter le nombre d'animaux enregistrés.

Il serait également nécessaire d'ajouter un groupe contrôle de souris exprimant un virus sans GCaMP7f afin de montrer la spécificité du signal observé à l'activité des interneurons PV.

2) Manipulation causale

La manipulation optogénétique des interneurons PV permet une spécificité temporelle de la perturbation de leur activité. Cette manipulation permettrait alors d'activer ou d'inhiber ces neurones pendant des événements précis de la tâche afin de tester les différentes hypothèses sur le rôle causal du recrutement des interneurons PV lors de la prise de décision. Selon la phase d'apprentissage, le type de manipulation, et le moment précis de la manipulation, nous nous attendons à des résultats différents.

Lors de la phase de plateau, si le niveau d'activité et la précision d'activation temporelle est prédictif de l'engagement attentionnel et/ou motivationnel de la souris par exemple, l'activation de ces neurones avant et jusqu'à l'apparition du stimulus diminuerait le taux de réponse de type *abandonné*. A l'inverse, une inhibition de ces interneurons augmenterait le taux de réponse de type *abandonné*, mais n'affecterait pas nécessairement le taux de réponse correct. En effet, les résultats indiquent qu'une baisse d'activité corrèle avec le type d'essais *abandonné* et non avec les essais de type *correct* et *incorrect*. De plus, lors de la phase d'apprentissage tardif, le taux de réponse *correct* est similaire à celui de la phase plateau, montrant une absence de corrélation entre ce paramètre et le niveau d'activité des interneurons PV.

Les résultats indiquent également une activité soutenue lors du processus de décision et que celle-ci décroît fortement au moment de l'engagement de la souris. Afin de déterminer si l'activité observée pendant l'exposition de la souris au stimulus correspond à un processus d'intégration d'information permettant une délibération, nous pourrions manipuler l'activité de ces neurones précisément lors de l'affichage du stimulus.

Lors de la phase plateau, une inhibition des interneurons pourrait affecter l'intégration de l'information sensorielle pouvant provoquer deux types de réponse : une réponse précipitée de la souris se traduisant par des essais de type abandonnés, ou une incapacité de la souris à s'engager car la décision ne peut être correctement prise augmentant la durée de la prise de décision.

L'activation de ces neurones lors de la phase naïve ou au début de l'apprentissage pourrait faciliter l'intégration de l'information en inhibant les MSNs afin de retarder la réponse comportementale. La souris pourrait alors favoriser une stratégie basée sur la prise en compte du stimulus visuel plutôt que sur la mise en place de stratégies comportementale par défaut comme la latéralisation. Cette dernière stratégie peut être moins coûteuse cognitivement mais ne permet pas d'atteindre des taux de réponse correcte élevés.

L'activation de ces interneurons par optogénétique pourrait alors se traduire par un apprentissage et une optimisation de la décision. Cependant, la variabilité d'apprentissage inter-animal étant très importante, il faudrait un plus large groupe d'animaux pour

montrer que la vitesse d'apprentissage est due à la manipulation optogénétique et non à l'apprentissage naturel de la souris.

6.4. TESTER LA PRISE DE DÉCISION CHEZ LA SOURIS *SAPAP3-KO*

Plusieurs études ont été menées afin de tester les capacités d'apprentissage et de prise de décision chez les patients TOC. Les résultats de ces études convergent vers un apprentissage final de la tâche au même niveau que les sujets contrôles. Cependant, il a été rapporté que l'apprentissage est plus lent chez les patients TOC et que les durées de prise de décision sont plus longues, dues à une perturbation de l'accumulation d'information au cours du temps (Banca et al., 2015; Marton et al., 2019; Hiebert et al., 2020).

Si, comme nous le proposons, les interneurons PV sont recrutés lors de ce processus cognitif, alors il serait intéressant d'utiliser le modèle pathologique de trouble compulsif *Sapap3-KO*. Effectivement, nous avons montré dans la première étude que le réseau inhibiteur striatal des souris *Sapap3-KO* est altéré, notamment dans les régions associatives impliquées dans les processus de prises de décisions. Il serait donc intéressant de tester dans notre tâche les performances des souris *Sapap3-KO*, qui pourraient donc être impactées lors de la prise de décision, possiblement dû aux altérations du réseau striatal inhibiteur.

6.4.1. Incertitude, compulsion et impulsivité

Une des caractéristiques du TOC réside dans la confiance qu'un sujet attribue à son choix. En effet, il a été montré que les patients TOC ont une capacité métacognitive amoindrie quant à l'évaluation de leur performance. Il semblerait dans ces cas-là, que le doute nourri le doute, c'est-à-dire que plus la durée de fixation du stimulus est longue, plus l'incertitude sur le choix à prendre augmente (Hauser et al., 2017). Les travaux de Kepecs et al. (2008) ont montré que l'OFC encodait les niveaux de confiance lors d'une prise de décision

perceptuelle chez le rat, et que plus l'incohérence du stimulus augmente, plus l'activité de cette aire corticale augmente également. Cette aire projette sur le striatum centromédial. Chez les souris *Sapap3-KO*, nous pourrions nous attendre à une augmentation de la durée de prise de décision pour des taux de réponse similaires aux souris sauvages. Cela s'expliquerait alors par une inhibition des MSNs plus forte due à l'augmentation de la densité des interneurons PV dans le striatum centromédial de la section Br. 0,50 chez les *Sapap3-KO* (voir résultats article).

A l'inverse, il a été également montré que les patients TOC présentaient des altérations du contrôle inhibiteur moteur dans une tâche de « Stop-Signal » (Chamberlain et al., 2006). Ce scénario correspondrait à l'expression du caractère impulsif des patients TOC caractérisée dans ce contexte par une perte du contrôle inhibiteur menant à la répétition excessive d'un comportement (Chamberlain et al., 2006). Cette impulsivité motrice est testée dans la tâche du « Signal-task », souvent utilisée pour tester la capacité à supprimer une réponse motrice. Dans ma tâche, les souris doivent activement s'arrêter entre les tunnels pour regarder le stimulus, nécessitant alors un contrôle moteur. De plus, les travaux de Terra et al. et Pisansky et al., ont mis en évidence l'importance du striatum dorsomédial et des interneurons PV dans le contrôle comportemental.

Ainsi, on peut faire l'hypothèse que les souris *Sapap3-KO* pourraient avoir tendance à ne pas s'arrêter suffisamment longtemps pour prendre de l'information, comme discuté dans la section sur le rôle de l'activité des interneurons PV pendant la prise de décision (8.3.2.). Cela pourrait engendrer un nombre plus élevé de réponses de type *abandonné* à la suite d'une faible délibération de la part de la souris.

Enfin, Benzina et al. (2021) ont montré un ralentissement de l'apprentissage lors d'une tâche de prise de décision dans un sous-groupe de *Sapap3-KO* dû à une labilité excessive du côté de réponse ce qui peut sembler contre-intuitif avec un comportement de compulsion où la même action est répétée. Ce même comportement a été retrouvé chez les patients TOC de type vérificateurs. Cependant, la durée de la prise de décision n'a pas été mesurée dans cette étude.

La variété des scénarios envisageables reflète peut-être l'hétérogénéité des symptômes observés chez les patients TOC. Elle pourrait être attribuée à des altérations variées du réseau striatal sur différentes régions du territoire associatif du striatum comme nous avons observé dans la première étude de ce manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- Abelson, Jesse F. et al. 2005. « Sequence Variants in SLITRK1 Are Associated with Tourette's Syndrome ». *Science, New Series* 310(5746): 317-20.
- Aharoni, Daniel, et Tycho M. Hoogland. 2019. « Circuit Investigations With Open-Source Miniaturized Microscopes: Past, Present and Future ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13: 141.
- Ahmari, S. E. et al. 2013. « Repeated Cortico-Striatal Stimulation Generates Persistent OCD-Like Behavior ». *Science* 340(6137): 1234-39.
- Albin, Roger L., Anne B. Young, et John B. Penney. 1989. « The Functional Anatomy of Basal Ganglia Disorders ». *Trends in Neurosciences* 12(10): 366-75.
- Alegre, Manuel et al. 2013. « The Subthalamic Nucleus Is Involved in Successful Inhibition in the Stop-Signal Task: A Local Field Potential Study in Parkinson's Disease ». *Experimental Neurology* 239: 1-12.
- Alexander, G E, M R DeLong, et P L Strick. « Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex ». : 25.
- Alexander, Garrett E., et Michael D. Crutcher. 1990. « Functional Architecture of Basal Ganglia Circuits: Neural Substrates of Parallel Processing ». *Trends in Neurosciences* 13(7): 266-71.
- Alonso, Pino et al. 2015. « Animal Models of Obsessive–Compulsive Disorder: Utility and Limitations ». *Neuropsychiatric Disease and Treatment*: 1939.
- Anticevic, Alan et al. 2014. « Global Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging Analysis Identifies Frontal Cortex, Striatal, and Cerebellar Dysconnectivity in Obsessive-Compulsive Disorder ». *Biological Psychiatry* 75(8): 595-605.
- Aosaki, T et al. 1994. « Responses of Tonicly Active Neurons in the Primate's Striatum Undergo Systematic Changes during Behavioral Sensorimotor Conditioning ». *The Journal of Neuroscience* 14(6): 3969-84.
- Balleine, B. W., M. R. Delgado, et O. Hikosaka. 2007. « The Role of the Dorsal Striatum in Reward and Decision-Making ». *Journal of Neuroscience* 27(31): 8161-65.
- Banaie Boroujeni, Kianoush, Mariann Oemisch, Seyed Alireza Hassani, et Thilo Womelsdorf. 2020. « Fast Spiking Interneuron Activity in Primate Striatum Tracks Learning of Attention Cues ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(30): 18049-58.
- Banca, Paula. « Evidence Accumulation in Obsessive-Compulsive Disorder: The Role of Uncertainty and Monetary Reward on Perceptual Decision-Making Thresholds ». : 11.
- Bar-Gad, Izhar, Gali Heimer, Ya'acov Ritov, et Hagai Bergman. 2003. « Functional Correlations between Neighboring Neurons in the Primate Globus Pallidus Are Weak or Nonexistent ». *The Journal of Neuroscience* 23(10): 4012-16.
- Benzina, Nabil et al. 2021. « A Cross-Species Assessment of Behavioral Flexibility in Compulsive Disorders ». *Communications Biology* 4(1): 96.

- Bergstrom, Hadley C. et al. 2018. « Dorsolateral Striatum Engagement Interferes with Early Discrimination Learning ». *Cell Reports* 23(8): 2264-72.
- Berke, Joshua D. 2011. « Functional Properties of Striatal Fast-Spiking Interneurons ». *Frontiers in Systems Neuroscience*. PMID: 21743805
- Berridge, Kent C. 2009. « 'Liking' and 'Wanting' Food Rewards: Brain Substrates and Roles in Eating Disorders ». *Physiology & Behavior* 97(5): 537-50.
- Beucke, Jan Carl et al. 2012. « Altered Cingulostriatal Coupling in Obsessive-Compulsive Disorder ». *Brain Connectivity* 2(4): 191-202.
- Bevan, Mark D., Philip A. C. Booth, Sean A. Eaton, et J. Paul Bolam. 1998. « Selective Innervation of Neostriatal Interneurons by a Subclass of Neuron in the Globus Pallidus of the Rat ». *The Journal of Neuroscience* 18(22): 9438-52.
- Bloch, Michael H., et James F. Leckman. 2009. « Clinical Course of Tourette Syndrome ». *Journal of Psychosomatic Research* 67(6): 497-501.
- Bogenpohl, James W., Stefanie L. Ritter, Randy A. Hall, et Yoland Smith. 2012. « Adenosine A2A Receptor in the Monkey Basal Ganglia: Ultrastructural Localization and Colocalization with the Metabotropic Glutamate Receptor 5 in the Striatum ». *The Journal of Comparative Neurology* 520(3): 570-89.
- Bolam, J P, B H Wainer, et A D Smith. 1984. « Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy». *Neuroscience*. PMID: 6382048.
- Bolam, J.P. et al. 1986. « Substance P-Containing Terminals in Synaptic Contact with Cholinergic Neurons in the Neostriatum and Basal Forebrain: A Double Immunocytochemical Study in the Rat ». *Brain Research* 397(2): 279-89.
- van den Boom, Bastijn J.G. et al. 2019. « Behavioral Flexibility in a Mouse Model for Obsessive-compulsive Disorder: Impaired Pavlovian Reversal Learning in SAPAP3 Mutants ». *Genes, Brain and Behavior* 18(4): e12557.
- Brown JS Jr. 1992. « The aggression theory of schizophrenia: revisited ». *Neurosci Biobehav Rev* 16:39-42. doi:10.1016/S0149-7634(05)
- Brunton, Bingni W., Matthew M. Botvinick, et Carlos D. Brody. 2013. « Rats and Humans Can Optimally Accumulate Evidence for Decision-Making ». *Science* 340(6128): 95-98.
- Burguiere, E., P. Monteiro, G. Feng, et A. M. Graybiel. 2013. « Optogenetic Stimulation of Lateral Orbitofronto-Striatal Pathway Suppresses Compulsive Behaviors ». *Science* 340(6137): 1243-46.
- Burguière E, Monteiro P, Mallet L, Feng G, Graybiel AM. 2015. « Striatal circuits, habits, and implications for obsessive-compulsive disorder ». *Curr Opin Neurobiol*. PMID: 25241072
- Carandini, Matteo, et Anne K Churchland. 2013. « Probing Perceptual Decisions in Rodents ». *Nature Neuroscience* 16(7): 824-31.

- Castle, Maria et al. 2005. « Thalamic Innervation of the Direct and Indirect Basal Ganglia Pathways in the Rat: Ipsi- and Contralateral Projections ». *The Journal of Comparative Neurology* 483(2): 143-53.
- Cazorla, Maxime et al. 2014. « Dopamine D2 Receptors Regulate the Anatomical and Functional Balance of Basal Ganglia Circuitry ». *Neuron* 81(1): 153-64.
- Chadhumbe, Madeline A., et Lawrence W. Brown. 2019. « Advances in the Treatment of Tourette's Disorder ». *Current Psychiatry Reports* 21(5): 31.
- Chamberlain, S. R. et al. 2008. « Orbitofrontal Dysfunction in Patients with Obsessive-Compulsive Disorder and Their Unaffected Relatives ». *Science* 321(5887): 421-22.
- Chamberlain, Samuel R et al. 2006. « Motor Inhibition and Cognitive Flexibility in Obsessive-Compulsive Disorder and Trichotillomania ». *Am J Psychiatry*: 3.
- Coleman, Kristina A, Gary E Baker, et John Mitrofanis. « Topography of Fibre Organisation in the Corticofugal Pathways of Rats ». : 15.
- Compston A. 2009. « Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver », by S. A. Kinnier Wilson, (From the National Hospital, and the Laboratory of the National Hospital, Queen Square, London) *Brain* 1912:34; 295-509. *Brain*. 2009; 132(Pt 8):
- Conelea, Christine A., et Douglas W. Woods. 2008. « The Influence of Contextual Factors on Tic Expression in Tourette's Syndrome: A Review ». *Journal of Psychosomatic Research* 65(5): 487-96.
- Corbit LH, Leung BK, Balleine BW. 2013. « The role of the amygdala-striatal pathway in the acquisition and performance of goal-directed instrumental actions ». *J Neurosci*. PMID: 24198361;
- Corbit VL, Manning EE, Gittis AH, Ahmari SE. 2019. « Strengthened Inputs from Secondary Motor Cortex to Striatum in a Mouse Model of Compulsive Behavior ». *J Neurosci*.. PMID: 30737313;
- Crawford, Sarah, Shelley Channon, et Mary M. Robertson. 2005. « Tourette's Syndrome: Performance on Tests of Behavioural Inhibition, Working Memory and Gambling ». *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 46(12): 1327-36.
- Cruz, B. F., Soares, S., Paton J. J. 2020. « Striatal circuits support broadly opponent aspects of action suppression and production ». preprint, BiorXiv.
- Cui, Guohong et al. 2013. « Concurrent Activation of Striatal Direct and Indirect Pathways during Action Initiation ». *Nature* 494(7436): 238-42.
- Dalley, Jeffrey W., Barry J. Everitt, et Trevor W. Robbins. 2011. « Impulsivity, Compulsivity, and Top-Down Cognitive Control ». *Neuron* 69(4): 680-94.
- Dana, Hod et al. 2019. « High-Performance Calcium Sensors for Imaging Activity in Neuronal Populations and Microcompartments ». *Nature Methods* 16(7): 649-57.
- DeLong, Mahlon R. 1990. « Primate Models of Movement Disorders of Basal Ganglia Origin ». *Trends in Neurosciences* 13(7): 281-85.

- DeLong, Mahlon R., Georgopoulos, A., 2011. « Motor Functions of the Basal Ganglia ». Supplement 2. Handbook of Physiology, The Nervous System, Motor Control
- Dezfouli, Amir, et Bernard W. Balleine. 2012. « Habits, Action Sequences and Reinforcement Learning: Habits and Action Sequences ». *European Journal of Neuroscience* 35(7): 1036-51.
- Ding, L., et J. I. Gold. 2010. « Caudate Encodes Multiple Computations for Perceptual Decisions ». *Journal of Neuroscience* 30(47): 15747-59.
- Ding, L., et J. I. Gold. 2012. « Separate, Causal Roles of the Caudate in Saccadic Choice and Execution in a Perceptual Decision Task ». *Neuron* 75(5): 865-74.
- Ding, L., et J. I. Gold. 2013. « The Basal Ganglia's Contributions to Perceptual Decision Making ». *Neuron* 79(4): 640-49.
- Dubach, Mark et al. 1987. « Primate Neostriatal Neurons Containing Tyrosine Hydroxylase: Immunohistochemical Evidence ». *Neuroscience Letters* 75(2): 205-10.
- Duhne, Mariana et al. 2021. « Activation of Parvalbumin-expressing Neurons Reconfigures Neuronal Ensembles in Murine Striatal Microcircuits ». *European Journal of Neuroscience* 53(7): 2149-64.
- Dunovan, Kyle, et Timothy Verstynen. 2016. « Believer-Skeptic Meets Actor-Critic: Rethinking the Role of Basal Ganglia Pathways during Decision-Making and Reinforcement Learning ». *Frontiers in Neuroscience* 10. PMID: 27047328
- Dutilh, Gilles, et Jörg Rieskamp. 2016. « Comparing Perceptual and Preferential Decision Making ». *Psychonomic Bulletin & Review* 23(3): 723-37.
- Dvorkin, Anna, Melissa L. Perreault, et Henry Szechtman. 2006. « Development and Temporal Organization of Compulsive Checking Induced by Repeated Injections of the Dopamine Agonist Quinpirole in an Animal Model of Obsessive-Compulsive Disorder ». *Behavioural Brain Research* 169(2): 303-11.
- Emson, P.C. et al. 1993. « Chapter 10 Chemical Signalling and Striatal Interneurones ». In *Progress in Brain Research*, Elsevier, 155-65.
- Euvrard, Marine. 2021. « Stratégies d'adaptation de la souris face à un environnement volatil ». Neurosciences. Sorbonne Université, Français. (NNT : 2021SORUS036).
- Falk JL. 1961. « Production of polydipsia in normal rats by an intermittent food schedule ». *Science*. PMID: 13698026.
- Farashahi, Shiva et al. 2018. « Influence of Learning Strategy on Response Time during Complex Value-Based Learning and Choice ». : PLoS One. PMID: 29787566;
- Fatahi, Zahra, Abbas Haghparast, Abbas Khani, et Mojtaba Kermani. 2018. « Functional Connectivity between Anterior Cingulate Cortex and Orbitofrontal Cortex during Value-Based Decision Making ». *Neurobiology of Learning and Memory* 147: 74-78.
- Filice, Federica et al. 2016. « Reduction in Parvalbumin Expression Not Loss of the Parvalbumin-Expressing GABA Interneuron Subpopulation in Genetic Parvalbumin and Shank Mouse Models of Autism ». *Molecular Brain* 9(1): 10.

- Fino, Elodie et al. 2018. « Region-Specific and State-Dependent Action of Striatal GABAergic Interneurons ». *Nature Communications* 9(1): 3339.
- Fino, Elodie, et Laurent Venance. 2011. « Spike-Timing Dependent Plasticity in Striatal Interneurons ». *Neuropharmacology* 60(5): 780-88.
- Flaherty, Aw, et Am Graybiel. 1993. « Two Input Systems for Body Representations in the Primate Striatal Matrix: Experimental Evidence in the Squirrel Monkey ». *The Journal of Neuroscience* 13(3): 1120-37.
- Foster, Nicholas N. et al. 2021. « The Mouse Cortico–Basal Ganglia–Thalamic Network ». *Nature* 598(7879): 188-94.
- Gage, Gregory J., Colin R. Stoetzner, Alexander B. Wiltschko, et Joshua D. Berke. 2010. « Selective Activation of Striatal Fast-Spiking Interneurons during Choice Execution ». *Neuron* 67(3): 466-79.
- Gerfen, Charles R. 1985. « The Neostriatal Mosaic. I. Compartmental Organization of Projections from the Striatum to the Substantia Nigra in the Rat ». *The Journal of Comparative Neurology* 236(4): 454-76.
- Gerfen, C. Wilson, C. 1996. « The basal ganglia ». *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol. 12, Integrated systems of the CNS. Part III.* 371-486
- Gillan, Claire M. et al. 2011. « Disruption in the Balance Between Goal-Directed Behavior and Habit Learning in Obsessive-Compulsive Disorder ». *American Journal of Psychiatry* 168(7): 718-26.
- Gillan, Claire M. et al. 2014. « Counterfactual Processing of Economic Action-Outcome Alternatives in Obsessive-Compulsive Disorder: Further Evidence of Impaired Goal-Directed Behavior ». *Biological Psychiatry* 75(8): 639-46.
- Gittis, A. H. et al. 2010. « Distinct Roles of GABAergic Interneurons in the Regulation of Striatal Output Pathways ». *Journal of Neuroscience* 30(6): 2223-34.
- Gittis, Aryn H., et Anatol C. Kreitzer. 2012. « Striatal Microcircuitry and Movement Disorders ». *Trends in Neurosciences* 35(9): 557-64.
- Gold, Joshua I., et Michael N. Shadlen. 2007. « The Neural Basis of Decision Making ». *Annual Review of Neuroscience* 30(1): 535-74.
- Goodman, Wayne K., Eric A. Storch, Gary R. Geffken, et Tanya K. Murphy. 2006. « Obsessive-Compulsive Disorder in Tourette Syndrome ». *Journal of Child Neurology* 21(8): 704-14.
- Graybiel, Ann M. 1998. « The Basal Ganglia and Chunking of Action Repertoires ». *Neurobiology of Learning and Memory* 70(1-2): 119-36.
- Graybiel, Ann M. 2005. « The Basal Ganglia: Learning New Tricks and Loving It ». *Current Opinion in Neurobiology* 15(6): 638-44.
- Graybiel, Ann M. 2008. « Habits, Rituals, and the Evaluative Brain ». *Annual Review of Neuroscience* 31(1): 359-87.
- Graybiel, Ann M., Toshihiko Aosaki, Alice W. Flaherty, et Minoru Kimura. 1994. « The Basal Ganglia and Adaptive Motor Control ». *Science, New Series* 265(5180): 1826-31.

- Graybiel, Ann M., et Scott T. Grafton. 2015. « The Striatum: Where Skills and Habits Meet ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7(8): a021691.
- Grillner, S et al. 2005. « Mechanisms for Selection of Basic Motor Programs – Roles for the Striatum and Pallidum ». *Trends in Neurosciences* 28(7): 364-70.
- Gritton, Howard J. et al. 2019. « Unique contributions of parvalbumin and cholinergic interneurons in organizing striatal networks during movement ». *Nature Neuroscience*. PMID: 30804530
- van Grootheest, Daniël S., Daniëlle C. Cath, Aartjan T. Beekman, et Dorret I. Boomsma. 2005. « Twin Studies on Obsessive–Compulsive Disorder: A Review ». *Twin Research and Human Genetics* 8(5): 450-58.
- Gross, A. et al. 2011. « Differential Localization of GABAA Receptor Subunits in Relation to Rat Striatopallidal and Pallidopallidal Synapses: GABAA Receptor Subunits in the GP ». *European Journal of Neuroscience* 33(5): 868-78.
- Haber, Suzanne N. 2016. « Corticostriatal Circuitry ». *Dialogues in Clinical Neuroscience* 18(1): 15.
- Haber, Suzanne N., Julie L. Fudge, et Nikolaus R. McFarland. 2000. « Striatonigrostriatal Pathways in Primates Form an Ascending Spiral from the Shell to the Dorsolateral Striatum ». *The Journal of Neuroscience* 20(6): 2369-82.
- Hadjas, Lotfi C. et al. 2020. « Projection-Specific Deficits in Synaptic Transmission in Adult Sapap3-Knockout Mice ». *Neuropsychopharmacology* 45(12): 2020-29.
- Hanks, Timothy D. et al. 2015. « Distinct Relationships of Parietal and Prefrontal Cortices to Evidence Accumulation ». *Nature* 520(7546): 220-23.
- Hanks, Timothy D., et Christopher Summerfield. 2017. « Perceptual Decision Making in Rodents, Monkeys, and Humans ». *Neuron* 93(1): 15-31.
- Harada, Masaya et al. 2021. « Corticostriatal Activity Driving Compulsive Reward Seeking ». *Biological Psychiatry* 90(12): 808-18.
- Harrison, Ben J et al. 2009. « Altered Corticostriatal Functional Connectivity in Obsessive-Compulsive Disorder ». *arch gen psychiatry* 66(11): 12.
- Hart, Evan E. et al. 2017. « Anterior Cingulate Cortex Supports Effort Allocation towards a Qualitatively Preferred Option ». *European Journal of Neuroscience* 46(1): 1682-88.
- Hasbi, Ahmed et al. 2009. « Calcium Signaling Cascade Links Dopamine D1–D2 Receptor Heteromer to Striatal BDNF Production and Neuronal Growth ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(50): 21377-82.
- Haynes, William I. A., et Luc Mallet. 2010. « High-Frequency Stimulation of Deep Brain Structures in Obsessive-Compulsive Disorder: The Search for a Valid Circuit: High-Frequency Stimulation of Deep Brain Structures in Obsessive-Compulsive Disorder ». *European Journal of Neuroscience* 32(7): 1118-27.
- Hermans, Dirk et al. 2008. « Cognitive Confidence in Obsessive-Compulsive Disorder: Distrusting Perception, Attention and Memory ». *Behaviour Research and Therapy* 46(1): 98-113.

- Hernandez, Vivian M et al. « Parvalbumin γ Neurons and Npas1 γ Neurons Are Distinct Neuron Classes in the Mouse External Globus Pallidus ». : 18.
- Hiebert, Nole M. et al. 2020. « Striatum-Mediated Deficits in Stimulus-Response Learning and Decision-Making in OCD ». *Frontiers in Psychiatry* 11: 13.
- Higley, Michael J et al. « Cholinergic Interneurons Mediate Fast VGluT3-Dependent Glutamatergic Transmission in the Striatum ». *PLOS ONE*: 7.
- Hikosaka, Okihide, Yoriko Takikawa, et Reiko Kawagoe. 2000. « Role of the Basal Ganglia in the Control of Purposive Saccadic Eye Movements ». *Physiological Reviews* 80(3): 953-78.
- Holly, Elizabeth N. et al. 2019. « Striatal Low-Threshold Spiking Interneurons Regulate Goal-Directed Learning ». *Neuron* 103(1): 92-101.e6.
- Howe, M. W., et D. A. Dombek. 2016. « Rapid Signalling in Distinct Dopaminergic Axons during Locomotion and Reward ». *Nature* 535(7613): 505-10.
- Ibanez-Sandoval, O. et al. 2010. « Electrophysiological and Morphological Characteristics and Synaptic Connectivity of Tyrosine Hydroxylase-Expressing Neurons in Adult Mouse Striatum ». *Journal of Neuroscience* 30(20): 6999-7016.
- Inoue, Masatoshi. 2021. « Genetically Encoded Calcium Indicators to Probe Complex Brain Circuit Dynamics in Vivo ». *Neuroscience Research* 169: 2-8.
- Insel, Thomas et al. 2010. « Research Domain Criteria (RDoC): Toward a New Classification Framework for Research on Mental Disorders ». *American Journal of Psychiatry* 167(7): 748-51.
- Kalanithi, P. S. A. et al. 2005. « Altered Parvalbumin-Positive Neuron Distribution in Basal Ganglia of Individuals with Tourette Syndrome ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(37): 13307-12.
- Kalueff, Allan V. et al. 2016. « Neurobiology of Rodent Self-Grooming and Its Value for Translational Neuroscience ». *Nature Reviews Neuroscience* 17(1): 45-59.
- Kataoka, Yuko et al. 2010. « Decreased Number of Parvalbumin and Cholinergic Interneurons in the Striatum of Individuals with Tourette Syndrome ». *The Journal of Comparative Neurology* 518(3): 277-91.
- Katz, B., et R. Miledi. 1967. « A Study of Synaptic Transmission in the Absence of Nerve Impulses ». *The Journal of Physiology* 192(2): 407-36.
- Kawaguchi, Y. 1993. « Physiological, Morphological, and Histochemical Characterization of Three Classes of Interneurons in Rat Neostriatum ». *The Journal of Neuroscience* 13(11): 4908-23.
- Kawaguchi, Y, Cj Wilson, et Pc Emson. 1990. « Projection Subtypes of Rat Neostriatal Matrix Cells Revealed by Intracellular Injection of Biocytin ». *The Journal of Neuroscience* 10(10): 3421-38.
- Kawaguchi, Yasuo, Charles J Wilson, Sarah J Augood, et Piers C Emson. 1995. « Striatal Interneurons: Chemical, Physiological and Morphological Characterization ». : Trends Neurosci. PMID: 8638293.

- Kelly, S. P., et R. G. O'Connell. 2013. « Internal and External Influences on the Rate of Sensory Evidence Accumulation in the Human Brain ». *Journal of Neuroscience* 33(50): 19434-41.
- Kepecs, A., Naoshige U., Hatim A. Z., et Z.F. Mainen. 2008. « Neural Correlates, Computation and Behavioural Impact of Decision Confidence ». *Nature* 455(7210): 227-31.
- Kim E, Sheng M. PDZ domain proteins of synapses. *Nat Rev Neurosci.* 2004 Oct;5(10):771-81. doi: 10.1038/nrn1517. PMID: 15378037.
- Kim, Christina K et al. 2016. « Simultaneous Fast Measurement of Circuit Dynamics at Multiple Sites across the Mammalian Brain ». *Nature Methods* 13(4): 325-28.
- Kita, H., H.T. Chang, et S.T. Kitai. 1983. « Pallidal Inputs to Subthalamus: Intracellular Analysis ». *Brain Research* 264(2): 255-65.
- Kita, H., T. Kosaka, et C.W. Heizmann. 1990. « Parvalbumin-Immunoreactive Neurons in the Rat Neostriatum: A Light and Electron Microscopic Study ». *Brain Research* 536(1-2): 1-15.
- Kita, Hitoshi. 1993. « Chapter 4 GABAergic Circuits of the Striatum ». In *Progress in Brain Research*, Elsevier, 51-72.
- Klug, Jason R et al. 2018. « Differential Inputs to Striatal Cholinergic and Parvalbumin Interneurons Imply Functional Distinctions ». *eLife* 7: e35657.
- Koós,, T. 2004. « Comparison of IPSCs Evoked by Spiny and Fast-Spiking Neurons in the Neostriatum ». *Journal of Neuroscience* 24(36): 7916-22.
- Koós, Tibor, et James M. Tepper. 1999. « Inhibitory Control of Neostriatal Projection Neurons by GABAergic Interneurons ». *Nature Neuroscience* 2(5): 467-72.
- Koós, T et J. M. Tepper. 2002. « Dual Cholinergic Control of Fast-Spiking Interneurons in the Neostriatum ». *The Journal of Neuroscience* 22(2): 529-35.
- Kubota, Yoshiyuki, Shinobu Inagaki, Shozo Kito, et Jang-Yen Wu. 1987. « Dopaminergic Axons Directly Make Synapses with GABAergic Neurons in the Rat Neostriatum ». *Brain Research* 406(1-2): 147-56.
- Kühn, Simone et al. 2013. « Reduced Thickness of Anterior Cingulate Cortex in Obsessive-Compulsive Disorder ». *Cortex* 49(8): 2178-85.
- Lak, Armin et al. 2014. « Orbitofrontal Cortex Is Required for Optimal Waiting Based on Decision Confidence ». *Neuron* 84(1): 190-201.
- Lansink, Carien S., Pieter M. Goltstein, Jan V. Lankelma, et Cyriel M.A. Pennartz. 2010. « Fast-Spiking Interneurons of the Rat Ventral Striatum: Temporal Coordination of Activity with Principal Cells and Responsiveness to Reward: Fast-Spiking Interneurons of the Ventral Striatum ». *European Journal of Neuroscience* 32(3): 494-508.
- Lapper, S.R. et al. 1992. « Cortical Input to Parvalbumin-Immunoreactive Neurons in the Putamen of the Squirrel Monkey ». *Brain Research* 580(1-2): 215-24.
- Lee, Christian R. et al. 2019. « Opposing Influence of Sensory and Motor Cortical Input on Striatal Circuitry and Choice Behavior ». *Current Biology* 29(8): 1313-1323.e5.

- Lee, Kwang et al. 2017. « Parvalbumin Interneurons Modulate Striatal Output and Enhance Performance during Associative Learning ». *Neuron* 93(6): 1451-1463.e4.
- Legaria, Alex A. et al. 2022. « Fiber Photometry in Striatum Reflects Primarily Nonsomatic Changes in Calcium ». *Nature Neuroscience* 25(9): 1124-28.
- Leckman JF, Grice DE, Barr LC, de Vries AL, Martin C, Cohen DJ, McDougle CJ, Goodman WK, Rasmussen SA. 1994. « Tic-related vs. non-tic-related obsessive compulsive disorder ». *Anxiety*. PMID: 9160576.
- Leckman, J. F. 2002. « Tourette's syndrome ». *Lancet*. 360: 1577–86
- Lewis, Mark, et Soo-Jeong Kim. 2009. « The Pathophysiology of Restricted Repetitive Behavior ». *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 1(2): 114-32.
- Li, Lizhu et al. 2022. « Colocalized, Bidirectional Optogenetic Modulations in Freely Behaving Mice with a Wireless Dual-Color Optoelectronic Probe ». *Nature Communications* 13(1): 839.
- Lamothe, H., Schreiweis, C., Lavielle, O., Burguière, E. 2021. « Not only compulsivity: The SAPAP3-KO mouse reconsidered as a comorbid model expressing a spectrum of pathological repetitive behaviors ». preprint, BioRxiv. doi.org/10.1101/2020.01.22.915215.
- Lombroso, P. J. et al. 1991. « Exacerbation of Gilles de la Tourette's syndrome associated with thermal stress ». *Neurology* 41(12): 1984.
- Ludwig, Mike et al. 2002. « Intracellular Calcium Stores Regulate Activity-Dependent Neuropeptide Release from Dendrites ». *Nature* 418(6893): 85-89.
- Ma, Yuxin et al. 2014. « Morphological Diversity of GABAergic and Cholinergic Interneurons in the Striatal Dorsolateral and Ventromedial Regions of Rats ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 34(3): 351-59.
- Malaiya, Sonia et al. 2021. « Single-Nucleus RNA-Seq Reveals Dysregulation of Striatal Cell Identity Due to Huntington's Disease Mutations ». *The Journal of Neuroscience* 41(25): 5534-52.
- Mallet, Luc et al. 2008. « Subthalamic Nucleus Stimulation in Severe Obsessive-Compulsive Disorder ». *New England Journal of Medicine* 359(20): 2121-34.
- Mallet, Nicolas et al. 2012. « Dichotomous Organization of the External Globus Pallidus ». *Neuron* 74(6): 1075-86.
- Marsh, Rachel et al. 2004. « Habit Learning in Tourette Syndrome: A Translational Neuroscience Approach to a Developmental Psychopathology ». *Archives of General Psychiatry* 61(12): 1259.
- Marton, Tanya et al. 2019. « Validating a Dimension of Doubt in Decision-Making: A Proposed Endophenotype for Obsessive-Compulsive Disorder » éd. Guido A. van Wingen. *PLOS ONE* 14(6): e0218182.
- Martos, Yanina V. et al. 2017. « Compulsive Social Behavior Emerges after Selective Ablation of Striatal Cholinergic Interneurons ». *The Journal of Neuroscience* 37(11): 2849-58.
- Matsuda, W. et al. 2009. « Single Nigrostriatal Dopaminergic Neurons Form Widely Spread and Highly Dense Axonal Arborizations in the Neostriatum ». *Journal of Neuroscience* 29(2): 444-53.

- Mattheisen, M et al. 2015. « Genome-Wide Association Study in Obsessive-Compulsive Disorder: Results from the OCGAS ». *Molecular Psychiatry* 20(3): 337-44.
- Mazzone, Luigi et al. 2010. « An FMRI Study of Frontostriatal Circuits During the Inhibition of Eye Blinking in Persons With Tourette Syndrome ». *American Journal of Psychiatry* 167(3): 341-49.
- McGeorge, A.J., et R.L.M. Faull. 1989. « The Organization of the Projection from the Cerebral Cortex to the Striatum in the Rat ». *Neuroscience* 29(3): 503-37.
- Meng, Chengbo et al. 2018. « Spectrally Resolved Fiber Photometry for Multi-Component Analysis of Brain Circuits ». *Neuron* 98(4): 707-717.e4.
- Menzies, Lara et al. 2008. « Integrating Evidence from Neuroimaging and Neuropsychological Studies of Obsessive-Compulsive Disorder: The Orbitofronto-Striatal Model Revisited ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32(3): 525-49.
- Mink, Jonathan W. 1996. « The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs ». *Progress in Neurobiology* 50(4): 381-425.
- Mink, Jonathan W., et W.Thomas Thach. 1993. « Basal Ganglia Intrinsic Circuits and Their Role in Behavior ». *Current Opinion in Neurobiology* 3(6): 950-57.
- Mondragón-González, C, Schreiweis, Burguière, E. 2022. « Closed-loop recruitment of striatal parvalbumin interneurons prevents the onset of compulsive behaviours ». preprint, BioRxiv. doi.org/10.1101/2022.01.10.475745
- Monteiro, Patricia et al. 2018. « Dichotomous Parvalbumin Interneuron Populations in Dorsolateral and Dorsomedial Striatum: Parvalbumin Interneurons in Dorsal Striatum ». *The Journal of Physiology* 596(16): 3695-3707.
- Morgiève, M. et al. 2014. « Dynamics of Psychotherapy-Related Cerebral Haemodynamic Changes in Obsessive Compulsive Disorder Using a Personalized Exposure Task in Functional Magnetic Resonance Imaging ». *Psychological Medicine* 44(7): 1461-73.
- Müller, Sandra Verena et al. 2003. « Disturbed Monitoring and Response Inhibition in Patients with Gilles De La Tourette Syndrome and Co-Morbid Obsessive Compulsive Disorder ». *Behavioural Neurology* 14(1-2): 29-37.
- Muñoz-Manchado, Ana B. et al. 2018. « Diversity of Interneurons in the Dorsal Striatum Revealed by Single-Cell RNA Sequencing and PatchSeq ». *Cell Reports* 24(8): 2179-2190.e7.
- Nambu, Atsushi. 2011. « Somatotopic Organization of the Primate Basal Ganglia ». *Frontiers in Neuroanatomy* 5. PMID: 21541304.
- Nambu, Atsushi, Katsuyuki Kaneda, Hironobu Tokuno, et Masahiko Takada. 2002. « Organization of Corticostriatal Motor Inputs in Monkey Putamen ». *Journal of Neurophysiology* 88(4): 1830-42.
- Newsome, Wt, et Eb Pare. 1988. « A Selective Impairment of Motion Perception Following Lesions of the Middle Temporal Visual Area (MT) ». *The Journal of Neuroscience* 8(6): 2201-11.
- Nogueira, Ramon et al. 2017. « Lateral Orbitofrontal Cortex Anticipates Choices and Integrates Prior with Current Information ». *Nature Communications* 8(1): 14823.

- Hauser, T. et al. 2017. « Metacognitive Impairments Extend Perceptual Decision Making Weaknesses in Compulsivity ». *Scientific Reports* 7(1): 6614.
- O'Hare, Justin, Nicole Calakos, et Henry H Yin. 2018. « Recent Insights into Corticostriatal Circuit Mechanisms Underlying Habits ». *Current Opinion in Behavioral Sciences* 20: 40-46.
- Orduz, David et al. 2013. « Parvalbumin Tunes Spike-Timing and Efferent Short-Term Plasticity in Striatal Fast Spiking Interneurons: Parvalbumin Regulates Striatal Fast Spiking Interneuron Function ». *The Journal of Physiology* 591(13): 3215-32.
- Ostlund, S. B., et B. W. Balleine. 2007. « The Contribution of Orbitofrontal Cortex to Action Selection ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1121(1): 174-92.
- Owen, Scott F., Joshua D. Berke, et Anatol C. Kreitzer. 2018. « Fast-Spiking Interneurons Supply Feedforward Control of Bursting, Calcium, and Plasticity for Efficient Learning ». *Cell* 172(4): 683-695.e15.
- Parent, André et al. 2000. « Organization of the Basal Ganglia: The Importance of Axonal Collateralization ». *Trends in Neurosciences* 23: S20-27.
- Parthasarathy, H.B., et A.M. Graybiel. 1997. « Cortically Driven Immediate-Early Gene Expression Reflects Modular Influence of Sensorimotor Cortex on Identified Striatal Neurons in the Squirrel Monkey ». *The Journal of Neuroscience* 17(7): 2477-91.
- Peça, João et al. 2011. « Shank3 Mutant Mice Display Autistic-like Behaviours and Striatal Dysfunction ». *Nature* 472(7344): 437-42.
- Percheron G, Filion M. 1991. «Parallel processing in the basal ganglia: up to a point.» *Trends Neurosci.* PMID: 1708537.
- Peters, Andrew J. et al. 2021. « Striatal Activity Topographically Reflects Cortical Activity ». *Nature* 591(7850): 420-25.
- Pisansky, Marc T. et al. 2019. « Nucleus Accumbens Fast-Spiking Interneurons Constrain Impulsive Action ». *Biological Psychiatry* 86(11): 836-47.
- Plenz, Dietmar. 2003. « When Inhibition Goes Incognito: Feedback Interaction between Spiny Projection Neurons in Striatal Function ». *Trends in Neurosciences* 26(8): 436-43.
- Purdon-Martin, J. 1927. « Hemichorea resulting from a local lesion of the brain. (the syndrome of the body of luys) ». *Brain*, Volume 50, Issue 3-4.
- Qvist, Per et al. 2018. « Brain Volumetric Alterations Accompanied with Loss of Striatal Medium-Sized Spiny Neurons and Cortical Parvalbumin Expressing Interneurons in Brd1+/- Mice ». *Scientific Reports* 8(1): 16486.
- Ramanathan, Sankari, Jason J. Hanley, Jean-Michel Deniau, et J. Paul Bolam. 2002. « Synaptic Convergence of Motor and Somatosensory Cortical Afferents onto GABAergic Interneurons in the Rat Striatum ». *The Journal of Neuroscience* 22(18): 8158-69.
- Ramírez-Armenta, Kathia I. et al. 2022. « Optogenetic Inhibition of Indirect Pathway Neurons in the Dorsomedial Striatum Reduces Excessive Grooming in Sapap3-Knockout Mice ». *Neuropsychopharmacology* 47(2): 477-87.

Ratcliff, Roger. « A Theory of Memory Retrieval ». : 50.

Ratcliff, Roger, et Michael J. Frank. 2012. « Reinforcement-Based Decision Making in Corticostriatal Circuits: Mutual Constraints by Neurocomputational and Diffusion Models ». *Neural Computation* 24(5): 1186-1229.

Reep, R.L., H.C. Chandler, V. King, et J.V. Corwin. 1994. « Rat Posterior Parietal Cortex: Topography of Corticocortical and Thalamic Connections ». *Experimental Brain Research* 100(1).

Rehani, Rotem et al. 2019. « Activity Patterns in the Neuropil of Striatal Cholinergic Interneurons in Freely Moving Mice Represent Their Collective Spiking Dynamics ». *eneuro* 6(1): ENEURO.0351-18.2018.

Ren, Yuqi, Yang Liu, et Minmin Luo. 2021. « Gap Junctions Between Striatal D1 Neurons and Cholinergic Interneurons ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 15: 674399.

Robbins, Trevor W., Matilde M. Vaghi, et Paula Banca. 2019. « Obsessive-Compulsive Disorder: Puzzles and Prospects ». *Neuron* 102(1): 27-47.

Robertson, Mary M. et al. 2017. « Gilles de La Tourette Syndrome ». *Nature Reviews Disease Primers* 3(1): 16097.

Roitman, Jamie D., et Michael N. Shadlen. 2002. « Response of Neurons in the Lateral Intraparietal Area during a Combined Visual Discrimination Reaction Time Task ». *The Journal of Neuroscience* 22(21): 9475-89.

Rosin, Diane L. et al. 1998. « Immunohistochemical Localization of Adenosine A2A Receptors in the Rat Central Nervous System ». *The Journal of Comparative Neurology* 401(2): 163-86.

Rushworth, M.F.S., T.E.J. Behrens, P.H. Rudebeck, et M.E. Walton. 2007. « Contrasting Roles for Cingulate and Orbitofrontal Cortex in Decisions and Social Behaviour ». *Trends in Cognitive Sciences* 11(4): 168-76.

Schroll, Henning, Julien Vitay, et Fred H. Hamker. 2014. « Dysfunctional and Compensatory Synaptic Plasticity in Parkinson's Disease ». *European Journal of Neuroscience* 39(4): 688-702.

Schultz, Wolfram. 2002. « Getting Formal with Dopamine and Reward ». *Neuron* 36(2): 241-63.

Schwaller, Beat, Michael Meyer, et Serge Schiffmann. 2002. « "New" Functions for "Old" Proteins: The Role of the Calcium-Binding Proteins Calbindin D-28k, Calretinin and Parvalbumin, in Cerebellar Physiology. Studies with Knockout Mice ». *The Cerebellum* 1(4): 241-58.

Selimbeyoglu, Aslihan et al. 2017. « Modulation of Prefrontal Cortex Excitation/Inhibition Balance Rescues Social Behavior in *CNTNAP2* -Deficient Mice ». *Science Translational Medicine* 9(401): eaah6733.

Shadlen, M N, et W T Newsome. 1996. « Motion Perception: Seeing and Deciding. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93(2): 628-33.

Shadlen, Michael N., et William T. Newsome. 2001. « Neural Basis of a Perceptual Decision in the Parietal Cortex (Area LIP) of the Rhesus Monkey ». *Journal of Neurophysiology* 86(4): 1916-36.

- Shanahan, Laura K., Surabhi Bhutani, et Thorsten Kahnt. 2021. « Olfactory Perceptual Decision-Making Is Biased by Motivational State » éd. Ben Seymour. *PLoS Biology* 19(8): e3001374.
- Sidibé, M, et Y Smith. 1999. « Thalamic Inputs to Striatal Interneurons in Monkeys: Synaptic Organization and Co-Localization of Calcium Binding Proteins ». *Neuroscience* 89(4): 1189-1208.
- Silberberg, Gilad, et J. Paul Bolam. 2015. « Local and Afferent Synaptic Pathways in the Striatal Microcircuitry ». *Current Opinion in Neurobiology* 33: 182-87.
- Smith, Philip L., et Roger Ratcliff. 2022. « Modeling Evidence Accumulation Decision Processes Using Integral Equations: Urgency-Gating and Collapsing Boundaries. » *Psychological Review* 129(2): 235-67.
- Sowell, Elizabeth R et al. 2008. « Thinning of Sensorimotor Cortices in Children with Tourette Syndrome ». *Nature Neuroscience* 11(6): 637-39.
- Stein, Dan J. et al. 2019. « Obsessive–Compulsive Disorder ». *Nature Reviews Disease Primers* 5(1): 52.
- Stewart, S E et al. 2013. « Genome-Wide Association Study of Obsessive-Compulsive Disorder ». *Molecular Psychiatry* 18(7): 788-98.
- Sturm, Volker et al. 2003. « The Nucleus Accumbens: A Target for Deep Brain Stimulation in Obsessive–Compulsive- and Anxiety-Disorders ». *Journal of Chemical Neuroanatomy* 26(4): 293-99.
- Summerfield, Christopher, et Etienne Koechlin. 2010. « Economic Value Biases Uncertain Perceptual Choices in the Parietal and Prefrontal Cortices ». *Frontiers in Human Neuroscience* 4. PMID: 21267421.
- Sun, Tingting et al. 2019. « Basolateral Amygdala Input to the Medial Prefrontal Cortex Controls Obsessive–Compulsive Disorder-like Checking Behavior ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116(9): 3799-3804.
- Taylor, Steven. 2011. « Etiology of Obsessions and Compulsions: A Meta-Analysis and Narrative Review of Twin Studies ». *Clinical Psychology Review* 31(8): 1361-72.
- Tecuapetla, Fatuel et al. 2014. « Balanced Activity in Basal Ganglia Projection Pathways Is Critical for Contraversive Movements ». *Nature Communications* 5(1): 4315.
- Tecuapetla, Fatuel, Xin Jin, Susana Q. Lima, et Rui M. Costa. 2016. « Complementary Contributions of Striatal Projection Pathways to Action Initiation and Execution ». *Cell* 166(3): 703-15.
- Tepper, James M. et al. 2018. « Heterogeneity and Diversity of Striatal GABAergic Interneurons: Update 2018 ». *Frontiers in Neuroanatomy* 12: 91.
- Tepper, James M, et J Paul Bolam. 2004. « Functional Diversity and Specificity of Neostriatal Interneurons ». *Current Opinion in Neurobiology* 14(6): 685-92.
- Tepper, James M., Charles J. Wilson, et Tibor Koós. 2008. « Feedforward and Feedback Inhibition in Neostriatal GABAergic Spiny Neurons ». *Brain Research Reviews* 58(2): 272-81.

- Terra, Huub et al. 2020. « Prefrontal Cortical Projection Neurons Targeting Dorsomedial Striatum Control Behavioral Inhibition ». *Current Biology* 30(21): 4188-4200.e5.
- Thomas TM, Smith Y, Levey AI, Hersch SM. 2000 « Cortical inputs to m2-immunoreactive striatal interneurons in rat and monkey ». *Synapse*. PMID: 10891862.
- Thorn, C. A., et A. M. Graybiel. 2014. « Differential Entrainment and Learning-Related Dynamics of Spike and Local Field Potential Activity in the Sensorimotor and Associative Striatum ». *Journal of Neuroscience* 34(8): 2845-59.
- Thorn, Catherine A., Hisham Atallah, Mark Howe, et Ann M. Graybiel. 2010. « Differential Dynamics of Activity Changes in Dorsolateral and Dorsomedial Striatal Loops during Learning ». *Neuron* 66(5): 781-95.
- Tremblay, Léon et al. 2015. « Selective Dysfunction of Basal Ganglia Subterritories: From Movement to Behavioral Disorders: selective dysfunction of bg subterritories ». *Movement Disorders* 30(9): 1155-70.
- Vaghi, Matilde M. et al. 2017. « Specific Frontostriatal Circuits for Impaired Cognitive Flexibility and Goal-Directed Planning in Obsessive-Compulsive Disorder: Evidence From Resting-State Functional Connectivity ». *Biological Psychiatry* 81(8): 708-17.
- Vogt, Brent A., et George Paxinos. 2014. « Cytoarchitecture of Mouse and Rat Cingulate Cortex with Human Homologies ». *Brain Structure and Function* 219(1): 185-92.
- Wallis, Jonathan D. 2007. « Orbitofrontal Cortex and Its Contribution to Decision-Making ». *Annual Review of Neuroscience* 30(1): 31-56.
- Wan, Yehong et al. 2014. « Circuit-Selective Striatal Synaptic Dysfunction in the Sapap3 Knockout Mouse Model of Obsessive-Compulsive Disorder ». *Biological Psychiatry* 75(8): 623-30.
- Wang, Yuanmo, Emily M. DeMarco, Lisa Sophia Witzel, et Jacqueline D. Keighron. 2021. « A Selected Review of Recent Advances in the Study of Neuronal Circuits Using Fiber Photometry ». *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 201: 173113.
- Watamaniuk SN, Sekuler R. 1992. « Temporal and spatial integration in dynamic random-dot stimuli ». *Vision Res.* doi: 10.1016/0042-6989(92)90097-3. PMID: 1288010.
- Welch, Jeffrey M et al. 2008. « Cortico-Striatal Synaptic Defects and OCD-like Behaviors in SAPAP3 Mutant Mice ». : 18.
- Williams, Douglas W., et Robert Sekuler. 1984. « Coherent Global Motion Percepts from Stochastic Local Motions ». *Vision Research* 24(1): 55-62.
- Wilson S.A.K., 1912. « Progressive lenticular degeneration: A familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver ». *Brain*, 34, 296-509.
- Wilson, S.A.K. 1925. « Some disorders of motility and of muscle tone, with special reference to the corpus striatum ». *The Lancet*.
- Worbe, Yulia et al. 2010. « Distinct Structural Changes Underpin Clinical Phenotypes in Patients with Gilles de La Tourette Syndrome ». *Brain* 133(12): 3649-60.

- Worbe, Yulia, Stephane Lehericy, et Andreas Hartmann. 2015. « Neuroimaging of Tic Genesis: Present Status and Future Perspectives: Neuroimaging of tics ». *Movement Disorders* 30(9): 1179-83.
- Xu, M., L. Li, et C. Pittenger. 2016. « Ablation of Fast-Spiking Interneurons in the Dorsal Striatum, Recapitulating Abnormalities Seen Post-Mortem in Tourette Syndrome, Produces Anxiety and Elevated Grooming ». *Neuroscience* 324: 321-29.
- Xu, Meiyu et al. 2015. « Targeted Ablation of Cholinergic Interneurons in the Dorsolateral Striatum Produces Behavioral Manifestations of Tourette Syndrome ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(3): 893-98.
- Yang, Yiyuan et al. 2021. « Wireless Multilateral Devices for Optogenetic Studies of Individual and Social Behaviors ». *Nature Neuroscience* 24(7): 1035-45.
- Yartsev, Michael M, Timothy D Hanks, Alice Misun Yoon, et Carlos D Brody. 2018. « Causal Contribution and Dynamical Encoding in the Striatum during Evidence Accumulation ». *eLife* 7: e34929.
- Yelnik, J. 2008. « Modeling the Organization of the Basal Ganglia Une Mode' Lisation de l'organisation Des Ganglions de La Base ». *revue neurologique*: 8.
- Yin, Henry H., Barbara J. Knowlton, et Bernard W. Balleine. 2004. « Lesions of Dorsolateral Striatum Preserve Outcome Expectancy but Disrupt Habit Formation in Instrumental Learning ». *European Journal of Neuroscience* 19(1): 181-89
- Yin H., B. Knowlton et B. Balleine. 2005a. « Blockade of NMDA Receptors in the Dorsomedial Striatum Prevents Action-Outcome Learning in Instrumental Conditioning: Striatum and Action ». *European Journal of Neuroscience* 22(2): 505-12.
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW. 2005b. « The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning ». *Eur J Neurosci*. PMID: 16045504.
- Zinner, Samuel H., et Jonathan W. Mink. 2010. « Movement Disorders I: Tics and Stereotypies ». *Pediatrics In Review* 31(6): 223-33.
- Znamenskiy, Petr, et Anthony M. Zador. 2013. « Corticostriatal Neurons in Auditory Cortex Drive Decisions during Auditory Discrimination ». *Nature* 497(7450): 482-85.
- Zuchner, S et al. 2006. « SLITRK1 Mutations in Trichotillomania ». *Molecular Psychiatry* 11(10): 887-887.

RÉSUMÉ GRAND PUBLIC

Au quotidien, nous prenons des décisions basées sur des informations disponibles dans notre environnement. Ces décisions dites perceptuelles reposent sur des associations stimulus-action entraînant une réponse rapide si le contexte est non-ambiguë, mais qui requiert plus de temps si le contexte devient incertain afin d'intégrer davantage d'information. Ce travail de thèse a consisté à comprendre les mécanismes qui sous-tendent cette régulation comportementale lors de la prise de décision chez la souris. Pour cela, une tâche de prise de décision perceptuelle a été développée dans le but de mesurer la durée du processus décisionnel tout en couplant ce comportement à des enregistrements d'activité neuronale dans le striatum, une structure cérébrale impliquée dans la régulation de l'action. Les résultats indiquent une variation de la durée de prise de décision de la souris en fonction de la difficulté de la tâche. Nous avons montré un recrutement au niveau du striatum de neurones inhibiteurs lors de la prise de décision, ainsi qu'une diminution de leur activité lors de l'exécution du choix, suggérant leur rôle crucial dans la régulation de l'action pendant ce processus cognitif.

Mots clés : [Prise de décision perceptuelle, Interneurones à parvalbumine et cholinergiques, Striatum, Troubles des comportements répétés, Enregistrements par photométrie, Souris *Sapap3-KO*]

The role of striatal parvalbumin interneurons in perceptual decision-making.

Abstract:

Every day, we make decisions based on information from our environment. These decisions are referred to as perceptual and are based on stimulus-action associations that lead to a rapid response when the context is reliable. However, behavioral regulation is required when the context becomes uncertain allowing collecting more evidence to make a choice. In this work, we aimed to understand the mechanisms underlying this regulation process during decision-making in mice. To this end, a perceptual decision-making task has been developed to measure the duration of the decision-making process and to monitor neuronal activity in the striatum, a structure involved in action regulation. The results described in this manuscript showed that the duration of decision-making varies as a function of the task difficulty. Neuronal recordings showed a recruitment of inhibitory neurons during decision-making as well as a strong decrease in their activity precisely during the execution of the choice, suggesting their crucial role in regulating action during this cognitive process.

Keywords : [Perceptual decision-making, parvalbumin and cholinergic interneurons, Striatum, Repeated behaviour dysregulation, Fiber photometry, *Sapap3-KO* mouse]

ANNEXES

Authors

Lamothe H^{1,2*}, Schreiweis C^{1*}, Lavielle O¹, Mallet L^{1,2,3,4}, Burguière E^{1,§}

Author Affiliations & Addresses

¹ Sorbonne Université, INSERM U 1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, F-75013 Paris, France

² Université Paris-Est Créteil, Créteil, France

³Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, DMU IMPACT, Département Médical-Universitaire de Psychiatrie et d'Addictologie, Neurosurgery Department, Hôpitaux Universitaires Henri Mondor - Albert Chenevier, Créteil, France

⁴ Department of Mental Health and Psychiatry, Global Health Institute, University of Geneva, Geneva, Switzerland

* These authors contributed equally to the publication

Corresponding author

§Eric Burguière

Email: eric.burguiere@icm-institute.org

Phone: +33-1.57.27.44.25

Running Title

What is the Sapap3-KO a model of?

1 **Title**

2 Not only compulsivity: The SAPAP3-KO mouse reconsidered as a comorbid model expressing
3 a spectrum of pathological repetitive behaviors.

4
5
6 **Abstract**

7 Symptom comorbidity is present amongst neuropsychiatric disorders with repetitive
8 behaviours, complicating clinical diagnosis and impeding appropriate treatments. This is of
9 particular importance for obsessive-compulsive disorder (OCD) and Tourette syndrome. Here,
10 we meticulously analysed the behaviour of Sapap3 knockout mice, the recent rodent model
11 predominantly used to study compulsive-like behaviours, and found that its behaviour is more
12 complex than originally and persistently described. Indeed, we detected previously
13 unreported elements of distinct pathologically repetitive behaviours, which do not form part
14 of rodent syntactic cephalo-caudal self-grooming. These repetitive behaviours include
15 sudden, rapid body and head twitches, resembling tic-like movements. We also observed that
16 another type of repetitive behaviours, aberrant hindpaw scratching, is responsible for the
17 flagship-like skin lesions of this mouse model, rather than originally suspected self-grooming.
18 In order to characterize the symptomatological nature of observed repetitive behaviours, we
19 pharmacologically challenged these phenotypes by systemic aripiprazole administration, a
20 first-line treatment for tic-like symptoms in Tourette Syndrome and trichotillomania. A single
21 treatment of aripiprazole significantly reduced the number of tic-like movements but not
22 syntactic grooming events. These observations are in line with the high comorbidity of tic- and
23 compulsive-like symptoms in Tourette, OCD and trichotillomania patients as well as with the
24 hypothesis of shared neurobiological mechanisms.

26 **Introduction**

27 Many neuropsychiatric disorders are characterized by pathological repetitive behaviors (RB)
28 such as compulsions, tics, stereotypies, or mannerisms. The exact nature of pathological RB is
29 not always trivial to distinguish and comorbidities impede correct diagnosis and appropriate
30 subsequent treatment (1–3). This applies especially to two neuropsychiatric disorders with
31 high comorbidity (1,3,4): Tourette Syndrome (TS), a childhood-onset neurodevelopmental
32 disorder characterized by tics, and Obsessive Compulsive Disorder (OCD), a heterogeneous
33 disorder, of which the most typical form is characterized by obsessions and obsession-
34 dependent compulsions (5). Tics are defined as sudden, rapid, recurrent, non-rhythmic,
35 stereotyped motor events or vocalizations (5). Compulsions are clinically described as RBs that
36 individuals feel driven to perform in response to an obsession or according to rules that must
37 be rigidly applied. Although compulsions occur less suddenly than tics, it is not always trivial
38 to correctly distinguish between these two RBs and hence, they could be easily confounded
39 in clinical practice (3,6). Furthermore, a third class of disorders with RBs, trichotillomania
40 (TTM), raises yet another important clinical concern. Although TTM is usually easily diagnosed
41 through abnormal RBs such as hair-pulling or skin-picking, it remains debated amongst experts
42 whether these symptoms are of a tic-like or a compulsive-like nature (7).

43 Rodent self-grooming is recognized as a relevant behavioural output for mapping and probing
44 neural circuits underlying the generation of repetitive behaviours in translational psychiatric
45 approaches (8,9). Over the last decade, mice lacking the postsynaptic protein SAP90/PSD95-
46 associated protein 3 (*Sapap3*^{-/-}), which is strongly expressed in the striatum, have been used
47 as the main reference mouse model for compulsive-like behaviours since their phenotype
48 matches with human OCD symptomatology in many ways. In both OCD patients as well as
49 *Sapap3*^{-/-} mice, neurophysiological and behavioural components are similarly affected:

50 cortico-striatal transmission is dysregulated (10–15), striatal activity is increased (16,17), OCD-
51 like relevant behaviour such as excessive self-grooming is aberrantly overexpressed despite
52 deleterious consequences, and anxiety measures are increased (13). Pharmacotherapy via
53 selective serotonin reuptake inhibitors, which are applied as first-line therapy in OCD, or
54 targeted deep brain stimulation, which is applied in severe, treatment-resistant OCD cases,
55 decreases compulsive-like behaviours in both OCD patients as well as the *Sapap3^{-/-}* mouse
56 model (13,18–20). A neurobiological core candidate in human OCD symptomatology is
57 aberrant orbitofrontal cortex (OFC) neuroanatomy and/or activity (15,17,21). Several studies
58 in *Sapap3^{-/-}* mice have corroborated the potential implication of the OFC; more specifically the
59 lateral OFC input onto striatal medium spiny neurons (MSN) in *Sapap3^{-/-}* mice was reduced
60 (22) and their optogenetic excitation restored adapted grooming behaviour and aberrantly
61 elevated striatal firing rates (16).

62 Dysfunctions of cortico-striatal circuits are consistently reported with the appearance of
63 pathological RBs. These circuits are topographically organized in parallel limbic, associative
64 and sensorimotor loops coursing through the ventral (VS), dorsomedial (DMS) and
65 dorsolateral striatum (DLS), respectively (23–26). They are known to dynamically interact
66 across these topographically organized loops and are recruited to different extents during
67 learning and automatization of behaviours (27–31). While earlier evidences suggest a specific
68 neuropathological connection between compulsive-like behaviours and the so-called
69 ‘associative’ cortico-striatal loop comprising associative cortical regions such as OFC and the
70 dorsomedial and central striatum, other findings suggest the implication of other,
71 complementary dorsal striatal circuits in the generation of pathological RBs in OCD and other
72 comorbid disorders. In the framework of these dynamically interacting cortico-striatal circuits,
73 OCD has recently been discussed as resulting from an imbalance across associative and

74 sensorimotor CSCs (32). This hypothesis is corroborated by studies demonstrating the
75 implication of the ‘sensorimotor’ cortico-striatal circuits, comprising motor cortices and the
76 dorsolateral striatum, in the generation of pathological RBs (22,33). Notably, in the same
77 Sapap3^{-/-} model, which has become the main reference mouse model for studying compulsive-
78 like behaviours in rodents, a recent study revealed that synaptic input from the premotor
79 cortex (M2), as observed *in vitro* through slice neurophysiological recording, was strengthened
80 in Sapap3^{-/-} mutants, suggesting thus a potential implication of sensorimotor circuits (22). Yet
81 other studies, including some in patients, point to an implication of the entire dorsal striatal
82 circuits in the generation of several types of pathological RBs (34–41). The hypothesis of
83 generally compromised cortico-dorsostriatal circuitry mediating RBs is also on line with the
84 observed strong comorbidity of tic- and compulsive-like symptoms in patients with Tourette
85 syndrome or OCD (3,42–45) and this comorbidity is decisive for successful treatment
86 (42,43,46).

87 Thus, reconsidering cortico-striatal circuitry as a substrate for pathological RBs and taking into
88 account specific indications of an implication of the sensorimotor cortico-striatal loops also in
89 the Sapap3^{-/-} mice (22), we here raised the question whether compulsive-like self-grooming
90 in Sapap3^{-/-} mice might be complemented by RBs of different nature. We first performed a
91 detailed multi-angle video screening to seek for distinct types of pathological RB other than
92 compulsive-like self-grooming. We next confirmed predictive validity by pharmacological
93 treatment of the spectrum of pathological RBs, which we observed and the interaction of
94 which we describe. These findings are of crucial interest to redefine the Sapap3^{-/-} mouse
95 model as a model of distinct types of RBs in the light of cortico-dorsostriatal circuitry
96 implication. Indeed, these new results are in line with neurophysiological modifications due

97 to whole-striatal Sapap3 expression patterns, the clinical comorbidity observed in patients,
98 and recent work reconsidering the circuitry affected in this mouse model.

99

100

101

102 **Materials & Methods**

103 **Animals**

104 All experimental procedures followed national and European guidelines and have been
105 approved by the institutional review boards (French Ministry of Higher Education, Research
106 and Innovation; APAFiS Protocol no. 1418-2015120217347265). Animals were group-housed
107 in ventilated standard cages in groups of up to six animals per cage; they were maintained in
108 a 12-hour light/dark cycle (lights on/off at 8:00am/8:00 pm, respectively), and had *ab libitum*
109 food and water access. Sapap3^{-/-} mutant mice and Sapap3^{+/+} littermates (wt) were generated
110 in heterozygous breeding trios of C57BL/6J background in the animal facility of the Paris Brain
111 Institute. Founders for the Sapap3^{-/-} colony were kindly provided by Dr. G. Feng, MIT,
112 Cambridge, USA.

113 A total of 85 animals (hereof n=16 females and n=69 males) were used in this study and
114 systematically genotyped for the presence or absence of the Sapap3 protein during weaning
115 period following previously described procedures (13). In detail, n = 55 Sapap3^{-/-} mice were
116 used for lesion evaluation; out of this pool for lesion evaluations, n = 16 mice were recycled
117 and complemented by n = 4 additional mice for the nails clipping study; n = 18 of each
118 Sapap3^{-/-} (n = 9) and wildtype (n = 9) mice for screening of repetitive behaviours; n = 8
119 Sapap3^{-/-} mice for aripiprazole treatment.

120

121 **Video acquisition**

122 For the detailed behavioural characterization in naïve mice, animals were temporarily
123 separated from their littermates for a continuous video recording session of 24 hours in video
124 recording apparatuses. An innovative recording setup has been custom-made for the purpose
125 of our experiment to allow for detailed behavioural analysis. The setup was equipped with
126 four behavioural boxes (black acrylic side walls, opaque front wall, transparent back wall; 20
127 cm(l) x 20 cm (w) x 25 cm(h)). Each box was equipped with a side and a top camera (25 fps)
128 and connected to a digital video recording system (KKMoon, Shenzhen Tomtop Technology)
129 (Figure 1A, B). The boxes were filled with standard wood bedding; *ad libitum* water and food
130 was provided. As in the animals' regular housing conditions, light was on between 8am-8pm
131 and infrared illumination was on between 8pm-8am. Additionally, a commercially available
132 system with similar specificities (StereoScan, CleverSys®, Reston, VA, USA) has been used to
133 complement our video-recording boxes.

134 **Pharmacological treatments with aripiprazole.**

136 Sapap3^{-/-} mice (n=8) were weighted and placed inside the video acquisition system at 10am.
137 Animals were habituated to the environment for 30 hours prior to injections as well as to
138 handling and restraining procedures. At 4pm the following day, half the animals were injected
139 first with vehicle solution (0.9% sterile solution with 1% Tween 80 and 1% sterile DMSO;
140 0.1ml/10g) and 24 hours later with aripiprazole (1.5mg/kg in vehicle solution, 0.1ml/10g)
141 (47,48). The other half of the animals received first an aripiprazole injection, followed by a
142 vehicle solution injection a week later to allow for a sufficient washout period of aripiprazole.
143 In that condition, animals were taken out of the video recording apparatus 24hours after

144 aripiprazole treatment and re-habituated one week later to handling, restraining and to the
145 apparatus for 30hrs prior to vehicle injections.

147 **Video analysis**

148 For spontaneous behavioural assessment, videos were manually analysed offline using a freely
149 available scoring software (Kinovea, 0.8.15, www.kinovea.org), which allows to tag each
150 individual scored event and to export timestamps of tagged behaviours (16). The
151 experimenter scoring the behaviour was blind to genotype and treatment.

152 For detailed behaviour characterisation in naïve mice, four time segments of 30 minutes were
153 defined across 24 hours: 10-10h30 am, 6-6:30pm, 9-9h30pm, and 4-4h30am (Fig 1C). This
154 selection of time segments comprised dark/light cycle episodes as previous studies including
155 those using automated assessment of grooming (49) and was primarily based on the first study
156 reporting the excessive grooming phenotype in the *Sapap3^{-/-}* mice (13).

157 For the behavioural assessment under aripiprazole, one time segment per mouse was selected
158 for video analyses according to the pharmacokinetics of the compound and following
159 procedures of previously published assays (47,48). The segment started at 9PM and lasted until
160 reaching 30 minutes of active behaviour. The proportion of sleep episodes, interspersed
161 during 30 minutes of active behaviour, was additionally quantified.

163 **Ethogram**

164 ***Self-Grooming.*** Self-grooming behaviour is defined as a rostro-caudal sequence of four typical,
165 distinct, often intermittently executed phases as previously described in the literature for
166 rodent syntactic grooming (50,51). In our study we distinguished two different types of
167 grooming bouts. Short grooming bouts (<3sec) predominantly composed of only one of the

168 four grooming phases (Supplementary Figure 1, Supplementary Video 1), and long grooming
169 bouts (>3sec) predominantly composed of multiple self-grooming phases separated by less
170 than 1 second from each other.

171 ***Tic-like behaviour.*** Tic-like behaviours were defined as rapid, sudden repetitive behaviours,
172 consisting of a single movement. These behaviours typically included head-body twitches, i.e.
173 axial jerks as described in other mouse models of tic-like behaviours (52,53) (Supplementary
174 Videos 1, 2).

175 ***Scratching behaviour.*** We defined scratching behaviour as a rhythmic movement of the hind
176 limbs interacting with more rostral parts of the body (54). The targeted body parts varied
177 between individuals in snout, area around the eyes, upper forehead, neck, between shoulders
178 and on the back (Supplementary Videos 1, 3).

179 **Nail clipping assay**

180
181 We selected 20 mice (13 male and 7 female) Sapap3^{-/-} mice with lesions of different severity
182 grades to perform hindpaw nail clipping under isoflurane anesthesia (Isovet, Centravet,
183 1000mg/g). Using small surgery scissors, we removed the pointy part of the hindpaw claws
184 without hurting the nail bed. Clipped nails were disinfected with 10% betadine solution
185 (Vétédine, Vétquinol) and mice were placed back into their homecages with their littermates.

186 Lesion were scored at three different time points: before nail clipping procedure, two days
187 and two weeks after nail clipping. Hereby, a common pool of n = 15 mice was assessed on all
188 three time points; n = 4 additional mice were assessed only prior to and two days after nail
189 clipping; n = 1 mouse was additionally assessed only prior to and two weeks after nail clipping
190 treatment. Lesion scores were determined according to the following definitions: absence of
191 lesions (score 1); mild fur and skin lesions without blood crusts (score 2); moderate fur and

192 skin lesions with blood crusts (score 3); tissue missing with blood crusts or open, wet skin
193 (severe lesion) (score 4).

195 **Statistical analysis**

196 For statistical analysis, we used the following non-parametric tests under R version 3.4.0
197 (<https://www.r-project.org/>): Spearman tests for assessing correlations, Mann Whitney U
198 testing for between-group comparisons, Wilcoxon signed rank test for evaluating treatment
199 effects (nail clipping, aripiprazole) and Aligned Rank Transformation Analysis of Variance for
200 testing factor interactions (package ARTool v0.10.6). For a comprehensive listing of statistical
201 analyses of all results, see Supplementary Table 1. For estimating the most reliable separation
202 of single versus syntactic grooming events consisting of distinct grooming phases, we used a
203 receiver operating characteristic (ROC) curve, indicating the optimal true-positive rate
204 (sensitivity) of a finding given the least possible probability of a false positive (1 - specificity).
205 The R packages used for the ROC analysis were pROC (v3.6.3) and epiR (v3.6.1). For graphical
206 illustration, we used the packages ggplot2 (v3.2.0.) and reshape2 (v1.4.3.).

209 **Results**

210 **Sapap3^{-/-} mice express aberrant tic-like behaviours**

211 Given the clinical reality of tic-like and compulsive-like comorbidity and recent publications
212 reconsidering the purely compulsive-like nature of aberrant self-grooming in the Sapap3^{-/-}
213 mouse (22), we performed a precise screening for other RBs than self-grooming, especially
214 those, which might resemble tic-like movements. Indeed, we detected a very short and
215 sudden type of repetitive behaviour, which is nearly absent in wildtype but significantly

216 present in *Sapap3*^{-/-} mice (median_{wt} = 6.3 vs. median_{*Sapap3*^{-/-}} = 49.7; $W = 76$, $p = 0.002$) (Figure
217 2A). These repetitive behaviours consist of rapid head twitches and/or body jerks. This
218 observed sudden, rapid recurrent, nonrhythmic execution of a single movement in the
219 *Sapap3*^{-/-} model strongly resembles the clinical definition of tics in human patients (5) as well
220 as what has been described for rodent models of tic-like behaviours (52), suggesting face
221 validity of the observed phenotype.

222 223 **Typical skin lesions of *Sapap3*^{-/-} mice are provoked by excessive scratching, a repetitive** 224 **behaviour distinct from syntactic self-grooming**

225 In addition to phenomenologically tic-like head and body twitches, we furthermore detected
226 a prominent number of scratching events, which consist of the rapid, repeated beating of the
227 hindpaw against various body parts (such as snout, areas surrounding the eyes and the ears,
228 the neck, between the shoulders etc.), and should be distinguished from syntactic grooming,
229 a stereotypically enchainned sequence of segregate phases, which is well-conserved in its
230 choreography in all rodents (9,50,51). The amount of scratching events was significantly
231 increased in *Sapap3*^{-/-} compared to wildtype mice (median_{wt} = 5.7 vs. median_{*Sapap3*^{-/-}} = 106.3;
232 $W = 73$, $p = 0.003$) (Figure 2B; Supplementary Videos 1, 3). The duration of scratching,
233 significantly larger in *Sapap3*^{-/-} mice, further corroborates the importance of this phenotype
234 (median_{wt} = 0.3 min/hour_{activity} vs. median_{*Sapap3*^{-/-}} = 7.1 min/hour_{activity}; Mann Whitney U: $W =$
235 76 , $p = 0.0008$) (Figure 2C). The number of tic-like head/body twitches correlated significantly
236 with the number of scratching events, likely suggesting a common pathophysiological
237 foundation of the two newly observed phenotypes (Spearman correlation – wt: $S = 34.64$, $\rho =$
238 0.71 , $p = 0.03$; *Sapap3*^{-/-}: $S = 4$, $\rho = 0.97$, $p = 0.0002$) (Figure 2D).

239 During scratching, the hindpaw exerts a strong power onto targeted body areas, including
240 body areas such as the neck or back, which are not touched by the forepaws during the self-
241 grooming sequence. The quality of this event is rather violent and best described as a
242 “beating” of the hindpaw against the body (55). Given the large frequency and duration of
243 scratching behavior in *Sapap3*^{-/-} mice, the occasional detection of blood underneath the
244 hindpaw claws of mice with lesions, the inherent violence of the movement and the
245 observation that a proportion of principal lesions were detected in the neck and/or back of
246 the animals, i.e. body locations, which are not prominently involved in self-grooming behavior,
247 we established the alternative hypothesis that the flagship-like phenotype of facial and body
248 lesions in *Sapap3*^{-/-} might be provoked by scratching instead of self-grooming. We therefore
249 screened a large number of *Sapap3*^{-/-} mutants in the colony (n = 55 *Sapap3*^{-/-} mice) to revisit
250 the most prominent lesion locations on their bodies and found that more than 30% of the
251 lesions were indeed in body locations, which are not touched during the syntactic self-
252 grooming sequence, namely the neck or back (Supplementary Figure 1A). We analyzed a
253 subpopulation of these animals (n = 32) more in detail and found that in about 81% of these
254 animals, the principal lesion was accompanied by further lesions at multiple sites including the
255 snout (12.3%), eyes (16.4%), ears (34.2%), top of the head (2.7%), neck (24.7%) or back of the
256 animals (9.6%) (Supplementary Figure 1B).

257 Out of the colony pool used to evaluate the lesion locations, we next selected *Sapap3*^{-/-} mice
258 with representative lesions of various degrees of severity (n = 20; see methods section for
259 details). In these representative individuals, we clipped the sharp tip of exclusively the hind-
260 not forepaw nails without hurting the nailbed. We assessed the severity of the lesions
261 longitudinally, prior to nail clipping, and two days or two weeks after hindpaw nail clipping.
262 We applied a lesion score determined by the absence of fur, skin or tissue (see materials &

263 methods section for details). Stark improvement of lesion scores was already clearly
264 detectable in all mice after only two days following nail clipping treatment (n = 19 mice;
265 Wilcoxon signed rank test, paired; $V = 0$, $p = 0.0005$) (Fig. 2E, F), and further improved when
266 screened after two weeks (n = 16; Wilcoxon signed rank test, paired; $V = 0$, $p = 0.0002$) (Fig.
267 2E, G).

268 **Single-phase grooming events are more exaggerated than syntactic grooming in Sapap3^{-/-}** 269 **mice**

270
271 Having detected two novel RB phenotypes in the Sapap3^{-/-} mice and having observed that the
272 prominent, typical lesions are inflicted by hindpaw scratching and not syntactic self-grooming,
273 we revisited in detail the self-grooming behaviour in these mice, a highly stereotypical
274 enchainment of four distinct phases (9,51,56). Increased self-grooming in Sapap3^{-/-} mice is
275 usually quantified in the literature either via increased number of grooming events (13,49) or
276 via increased grooming duration (13,19,49). In our detailed analysis, we decided to pay
277 particular attention to the qualitative grooming heterogeneity observed in mice. We
278 distinguished between both classical syntactic grooming composed of distinct rostro-caudal
279 phases chained in sequence, and a deviating type consisting of a more sudden isolated short
280 single-phase grooming event. When these two types of grooming were merged together, we
281 observed a significantly increased number of grooming events in Sapap^{-/-} mice (median_{wt} =
282 24.9 vs. median_{Sapap3^{-/-}} = 96.7; Mann Whitney U: $W = 80$, $p = 0.00008$ (Fig. 3A). However,
283 surprisingly, we did not observe a significant difference in grooming duration between
284 wildtype and mutant mice (median_{wt} = 11.6 min/hour_{activity} vs. median_{Sapap3^{-/-}} = 16.4
285 min/hour_{activity}, Mann Whitney U, $W = 51$, $p = 0.39$) (Fig. 3B). We first excluded that differences
286 in sleep duration between Sapap3^{-/-} and wildtype mice might cause a confound in our

287 grooming dataset (sleep: median_{wt} = 33.2 min vs. median_{Sapap3^{-/-}} = 34.7 min; Mann Whitney U:
288 $W = 41$, $p = 1$) (Supplementary Figure 2A). Thus, we next systematically investigated the
289 distribution and quality of individual grooming events. We indeed detected a difference in the
290 distribution of grooming bout lengths between Sapap3^{-/-} and wildtype controls with a
291 substantial number of grooming events falling into the short event spectrum of the
292 distribution (Fig. 3C). To analyse whether these short grooming events corresponded to short
293 events consisting of a single grooming phases only, we performed a fine-scale scoring analysis,
294 distinguishing individual grooming phases ($n = 608$ number of grooming events in $n = 4$
295 Sapap3^{-/-} mice; Supplementary Figure 2B). Applying receiver operating characteristic (ROC)
296 curve estimations to our full-second binned data, we calculated that short events in our
297 dataset consisting of a single grooming phase and those being composed of distinct grooming
298 phases were best separated by a duration of 3 seconds (true positive rate / sensitivity_{3s} =
299 87.2%; false positive rejection rate / Specificity_{3s} = 61.5%; Supplementary Figure 2C). When
300 classifying all scored grooming events ($n = 1737$ in $n = 9$ mice per genotype) into these two
301 categories, Sapap3^{-/-} mice showed an aberrantly higher number of both short and long
302 grooming bouts (short single-phase grooming bouts: median_{Sapap3^{-/-}} = 61.9; median_{wt} = 7.2,
303 Mann Whitney U: $W = 81$, $p = 0.0004$; long syntactic grooming bouts: median_{Sapap3^{-/-}} = 56.0;
304 median_{wt} = 18.9, Mann Whitney U: $W = 71$, $p = 0.006$; Figure 3D). Although this effect was
305 present in both types of grooming events, the genotype effect depended on the type of
306 grooming (Aligned Ranks Transformation ANOVA (ART ANOVA): $p_{GT*Grooming\ category} = 0.01$;
307 Figure 3D). The proportion of short single phase to long syntactic grooming was genotype-
308 dependent: while single phase grooming events formed about half the number of all grooming
309 events in the Sapap3^{-/-} mice (grooming < 3 s : median_{Sapap3^{-/-}} = 56.3%; median_{wt} = 21.8%, $W =$
310 79, p -value = 0.0002), wildtype mice had a significantly higher proportion of long, syntactic

grooming events (grooming > 3 s : median_{Sapap3^{-/-}} = 44.7%; median_{wt} = 77.4%, $W = 2$, p -value = 0.0002 (Aligned Ranks Transformation ANOVA (ART ANOVA): $p_{GT*Grooming\ category} = 8.7*10^{-10}$; Supplementary Figure 2D). Lastly, we explored potential confounds between self-grooming and other types of RB such as scratching, which we report here as a novel type of RB. Indeed, when summing up total grooming duration as well as scratching duration, we confirmed that the total duration of RBs in Sapap3^{-/-} was also significantly increased in our dataset (Mann Whitney U: $W = 65$, $p = 0.003$), consistent with previous studies (13). Taken together, besides the increased number of syntactic self-grooming events previously described, we demonstrated here that exaggerated self-grooming reported in Sapap3^{-/-} mice was prominently due to elevated onsets of the sub-category of short grooming events.

Excessive tic-like, scratching and short grooming events are associated in Sapap3^{-/-} mice

Next, we analysed the distribution between the four different types of observed RBs, namely tic-like movements, scratching, short and long self-grooming events, as well as the correlations amongst them. While all four RBs formed part of a normal phenotype in wildtype mice, they were significantly more present in Sapap3^{-/-} mice and their distribution was also significantly different (Pearson's Chi-squared test: Chi-squared = 44.1, $df = 3$, $p = 1.5*10^{-09}$; Figure 4A). Tic-like events positively correlated with short grooming events in Sapap3^{-/-} mice only (Spearman correlation: Sapap3^{-/-}: $S = 32$, $\rho = 0.73$, $p = 0.03$; wt: $S = 53.7$, $\rho = 0.55$, $p = 0.12$), but not with long grooming sequences (Spearman correlation: Sapap3^{-/-}: $S = 60$, $\rho = 0.5$, $p = 0.18$; wt: $S = 173$, $\rho = -0.44$, $p = 0.23$) (Figure 4B), hinting towards a shared pathological neurobiological nature of tic-like and short grooming onsets.

The number of scratching events positively correlated with short but not long grooming events in Sapap3^{-/-} mice (Spearman correlation: short grooming events: $S = 20$, $\rho = 0.83$, $p = 0.008$;

335 long grooming events: $S = 54$, $\rho = 0.55$, $p = 0.13$) (Figure 4C); a similar tendency was also
336 observed in wildtype mice (Spearman correlation: short grooming events: $S = 40$, $\rho = 0.67$,
337 $p = 0.06$; long grooming events: $S = 132$, $\rho = -0.1$, $p = 0.81$) (Figure 4B, C), again suggesting a
338 potentially shared neurobiology between short grooming onset events and hindpaw
339 scratching. Finally, the number of scratching and tic-like events significantly correlated
340 positively in both genotypes (Spearman correlation: $Sapap3^{-/-}$: $S = 4$, $\rho = 0.97$, $p = 0.0002$;
341 wt: $S = 34.6$, $\rho = 0.71$, $p = 0.03$) (Figure 2E).

342 Taken together, these results suggest a symptomatological association between tic-like
343 behaviours, scratching and short grooming events but not syntactic grooming sequences, with
344 a stronger effect in $Sapap3^{-/-}$ than wildtype mice.

345 346 **Tic-like and short grooming bouts were selectively reduced by aripiprazole, a first-line 347 pharmacological treatment for Tourette syndrome**

348 Although face validity, i.e. the close phenomenological similarity of tics in human patients and
349 rapid recurrent repetitive behaviours observed in the $Sapap3^{-/-}$ mice, seems to point to a
350 recapitulation of a common etiology, it is insufficient to draw conclusions about the nature of
351 the observed rodent behavior. On top, face validity remains the most intuitive but at the same
352 time subjective and prone to anthropomorphic interpretations (57). Thus, in order to
353 investigate the nature of tic-like head-body twitches, scratching, short and long grooming
354 events, and to question if they belong to the same symptomatologic categories, we
355 pharmacologically challenged the predictive validity on these different types of RB observed
356 in $Sapap3^{-/-}$ mice for a potential tic-like nature. Therefore, we applied the first-line
357 pharmacological treatment for tic-like symptoms, aripiprazole (58–62). Aripiprazole is an
358 atypical antipsychotic medication with a high in vitro affinity for dopamine 2 receptors (D2R)

359 and has a mixed effect as partial agonist and antagonist on type 1A and 2A serotonin
360 receptors, respectively (63,64). Aripiprazole has an elimination half-life of approximately 75
361 hours and stable brain-to-serum concentration is achieved after 6 hours following acute
362 injection (65). We applied a dose of 1.5mg/kg aripiprazole, which previously had been used to
363 successfully reduce tic-like movements in according rodent models (47,48). We evaluated the
364 effect of acutely administered aripiprazole on the different types of repetitive behaviours
365 observed in the *Sapap3^{-/-}* mice, comparing treatment effect to the behavioural baseline of
366 systemic injection of its vehicle solution. Acute aripiprazole treatment significantly lowered
367 the number (Wilcoxon signed rank test, paired; $V = 1$, $p = 0.035$) and total duration of short
368 grooming events (Wilcoxon signed rank test, paired; $V = 3$, $p = 0.04$) as well as the number of
369 tic-like movements such as sudden head twitches and body jerks (Wilcoxon signed-rank test,
370 paired; $V = 3$, $p = 0.04$) in *Sapap3^{-/-}* mice ($n = 8$ males) (Figure 5A, B). We observed a tendency
371 of a decrease in number and duration of scratching, although these findings remained non-
372 significant (Wilcoxon signed rank test, paired; $V = 8$, $p_{number\ of\ events} = 0.2$; Wilcoxon signed-rank
373 test, paired; $V = 8$, $p_{duration\ of\ events} = 0.2$) (Figure 5A). However, such a tendency for a decrease
374 was absent for the number and total duration of long grooming events (Wilcoxon signed-rank
375 test, paired; $V = 12$, $p_{number\ of\ events} = 0.46$; Wilcoxon signed-rank test, paired; $V = 13$, $p_{duration\ of\ events} = 0.55$) (Figure 5A). This suggests that at least two out of four repetitive behaviours, which
376 we observed as significantly present in the *Sapap3^{-/-}* mouse model, responded to a
377 pharmacological treatment, which has proven success in treating tic-like movements both in
378 Tourette syndrome in humans as well as in corresponding rodent models (47,48,58–61,66).
379 Thus, we provide evidence that two RBs, namely tic-like body twitches and short single-phase
380 grooming events, which symptomatologically are characterized as short, sudden movements
381

382 composed out of one single movement, - corresponding to the clinical definition of a tic -
383 additionally possess predictive validity for tic-like symptoms.

386 Discussion

387 Here, we reconsidered the current main reference mouse model of compulsive-like
388 behaviours, the Sapap3^{-/-} mouse, in light of the cortico-striatal circuitry as a substrate for
389 pathological RBs. Recent studies indicate that not only the associative but also the
390 sensorimotor CSCs might be implicated in the often comorbid occurrence of compulsive-like
391 and tic-like RBs (3,22,67,68). Concretely, we performed a detailed, behavioural re-analysis of
392 this mouse model, discovered previously undescribed types of pathologically RBs and
393 pharmacologically challenged their clinical/neurobiological nature using aripiprazole, the first-
394 line treatment for tic-like movements.

395 The here detected previously unreported RBs in the Sapap3^{-/-} mice consisted of single
396 movements, which were repeatedly executed. This included sudden, rapid head/body
397 twitches as well as hindpaw scratching, both occurring at an aberrantly high rate in Sapap3^{-/-}
398 mice. The suddenness and rapidity of head-body twitches and their successful
399 pharmacological treatment using aripiprazole hint straight to a classification of these RBs as
400 tic-like RBs. The presence of both tic- and compulsive-like behaviours in the same model is in
401 line with the clinical observation of tic-like comorbidities in both patients with Tourette
402 Syndrome as well as with OCD (3,42,67,69). Indeed, some forms of OCD can be etiologically
403 related to chronic tic disorders and 10-40% of OCD cases diagnosed in childhood or during
404 adolescence are defined as belonging to a tic-related OCD subtype (44,45,68,70–75). Patients
405 with tic-related OCD more likely report sensory phenomena such as “just right” perceptions

406 associated with sensory stimuli or the feeling of an “urge” (67,72,76) and may respond better
407 to neuroleptic augmentation treatment (46,77). Within this clinical context, it is important to
408 detect necessary subtlety in the phenotype of applied research models. Hence, the presence
409 of both tic- and compulsive-like phenotypes in the Sapap3^{-/-} model increases its importance
410 for studying the neurobiological basis of tic- and compulsive like comorbidities in various
411 disorders or these pathologically RBs.

412 Hindpaw scratching, nearly absent in wildtype mice, occurred at an even higher frequency
413 than tic-like head-body twitches. The significance of this RB is furthermore elevated by the
414 pronounced improvement of the well-reported, flagship-like phenotype of skin lesions in this
415 mouse model upon hindpaw claw dulling; our experiments suggest that it is actually the
416 previously unconsidered RB of scratching and not syntactic self-grooming, which is crucially
417 implicated in the most visible pathological phenotype of this mouse model. Having observed
418 these previously unreported RBs in the Sapap3^{-/-} mouse model, we last revisited the syntactic
419 self-grooming phenotype, the sole defined RB which had led to the definition of these mice as
420 a compulsive-like model. Indeed, we confirmed the well-reported compulsive-like phenotype
421 of an increased number of grooming bouts in these mice, however, couldn’t replicate the
422 increased duration of self-grooming RB, which represents the most often reported
423 pathological parameter in Sapap3^{-/-} mice (13,19,49). Most likely, the incongruence of our
424 findings with previous reports is caused by a distinction of scratching and self-grooming
425 behaviour, which was first performed in this study. Indeed, pooling of these two RBs has been
426 previously mentioned (13). Yet, self-grooming is a highly stereotyped linear action sequence
427 *stricto sensu*, which follows a predictable order (51), while scratching as a single isolated
428 action does not share these properties of linearity and predictability. Thus, pooling of two
429 qualitatively very distinct forms of behaviour causes confounds in the behavioural

430 phenotyping and in drawing conclusions for translational approaches. The pathophysiological
431 definition of scratching is less clear. Can we define scratching as a tic-like behaviour due to its
432 phenomenological appearance? Indeed, this pathologically repetitive behaviour consists of a
433 sudden, rapidly repeated single movement and its frequency correlates with tic-like events in
434 both wildtype and mutant mice. However, despite a tendency, aripiprazole did not
435 significantly improve scratching frequency nor duration. Hence, scratching demonstrates tic-
436 like elements but may not be entirely defined as such. Scratching may be consider similar to
437 pathological hair-pulling and skin-picking, which has propagated a wave of clinical discussion
438 concerning these phenotypes in human trichotillomania patients as well as frequently
439 comorbid OCD and/or TS patients with hair-pulling and/or skin-picking pathologies (7).
440 Indeed, it has been reported that patients with tic-related OCD also have higher rates of TTM
441 (43,69). Interestingly, although no direct link was found between genetic *SAPAP3* variants and
442 OCD, identified single nucleotide polymorphisms were associated with grooming disorders
443 such as pathologic nail biting, pathologic skin picking, and/or trichotillomania, an obsessive-
444 compulsive related disorder (78,79). These genetic studies underline the potential involvement
445 of *SAPAP3/Sapap3* in the generation of hair-pulling or other grooming disorders, which occur
446 in TTM or as a comorbidity in PCD and TS patients (78). TTM possesses clinical characteristics,
447 which overlap with TS and OCD, e.g. the premonitory urge and temporary relief after
448 completion of individual repetitive behaviours (80).

449 As a last major finding of our study, we observed that self-grooming events in *Sapap3*^{-/-} mice
450 were not always conform with syntactic rodent self-grooming stricto sensu, i.e. composed of
451 a syntactic chain of different, well-defined grooming phases (9,51,56). Instead, the majority of
452 *Sapap3*^{-/-} self-grooming events were of short duration and seemed to consist of a single
453 grooming phase only, i.e. a repeatedly executed, short and single movement. Both short and

454 long grooming events distinguish Sapap3^{-/-} from wildtype mice given their aberrant frequency,
455 but their neurobiological nature seems to differ. Indeed, aripiprazole significantly reduced
456 short but not long grooming events. Both the symptomatologic description of short grooming
457 events and a decrease in their frequency upon aripiprazole treatment, i.e. face and predictive
458 validity both suggest that short single-phase grooming events could be considered as tic-like
459 events. On the other hand, longer grooming events, which mostly consisted of a syntactic
460 sequence of different grooming phases, were not affected by acute aripiprazole
461 administration. This distinction suggests a different neurobiological nature of these two types
462 of grooming events. We thus report important evidences that self-grooming behaviour should
463 not be considered a homogeneous behaviour and stress that a detailed characterization is
464 essential to capture its neurobiological nature. Ushering a paradigm shift in the definition of
465 rodent self-grooming might provide deeper insights into the pathological nature of RBs. This
466 is important for the Sapap3^{-/-} mouse as we exemplarily analysed, but might need to be
467 considered also for other mouse models, for which aberrantly elevated self-grooming
468 behaviour had been reported (38,81,82). Differentiating distinct forms of self-grooming could
469 help researchers to more adequately define the neurobiology of self-grooming and make
470 them less prone to interpret their results in an anthropomorphic way.

471 Taken together, we observed distinct types of repetitive behaviours in the Sapap3^{-/-} mouse
472 model, half of which can be defined as tic-like behaviours according to face and predictive
473 validity criteria. We confirm previously reported excessive self-grooming sequences in Sapap3^{-/-}
474 mice, but highlight the necessity to distinguish these from more sudden and simple
475 repetitive behaviours. Indeed, we conclude that excessive number of grooming onsets rather
476 than their duration characterizes the pathological phenotype of Sapap3^{-/-} mice. This
477 observation of exaggerated grooming onsets is in line with previous studies suggesting that

478 Sapap3^{-/-} mice lack inhibition of executing an acquired motor sequence (16,22). This
479 phenotype seems to be anchored in a diminished number of striatal parvalbumine-positive
480 interneurons (16), which form a strong feed-forward inhibitory striatal regulatory network
481 (83), as well as an increased striatal input of premotor cortico-striatal projections (22), a
482 pathway which has been shown to be important for initiating behavioural sequences (84).

483 Altogether, the here newly reported comorbidity of different RBs in Sapap3^{-/-} mice is in line
484 with the numerous clinical reports of comorbidity of tics and compulsions in OCD as well as TS
485 patients (3) as well as with the current literature on disorders of repetitive behaviours,
486 including fundamental neuroscience studies highlighting the potential implication of
487 sensorimotor cortico-striatal circuits. Comorbidity findings of tic- and compulsive-like
488 behaviours in Sapap3^{-/-} further corroborate the current hypothesis of a common
489 neurobiological basis in disorders with repetitive behaviours. Re-defining the Sapap3^{-/-} mouse
490 as a mouse model of RBs instead of compulsive-like behaviours raises its translational value in
491 defining the proposed common neurobiological mechanism of tic- and compulsive-like
492 symptoms.

493 494 495 **References**

- 496
- 497 1. Freeman RD, Soltanifar A, Baer S. Stereotypic movement disorder: easily missed. *Dev Med Child*
498 *Neurol.* 2010 Aug;52(8):733–8.
 - 499 2. Jiujiang M, Kelley E, Hall L. Restricted, Repetitive Behaviors in Autism Spectrum Disorder and
500 Obsessive-Compulsive Disorder: A Comparative Review. *Child Psychiatry Hum Dev.*
501 2017;48(6):944–59.
 - 502 3. Worbe Y, Mallet L, Golmard J-L, Béhar C, Durif F, Jalenques I, et al. Repetitive behaviours in
503 patients with Gilles de la Tourette syndrome: tics, compulsions, or both? *PLoS One.*
504 2010;5(9):e12959.

- 505 4. Leckman JF, Bloch MH, King RA. Symptom dimensions and subtypes of obsessive-compulsive
506 disorder: a developmental perspective. *Dialogues Clin Neurosci*. 2009;11(1):21–33.
- 507 5. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-V)*.
508 5th ed. American Psychiatric Publishing. Arlington, VA.; 2013.
- 509 6. Kircanski K, Woods DW, Chang SW, Ricketts EJ, Piacentini JC. Cluster analysis of the Yale Global
510 Tic Severity Scale (YGTSS): symptom dimensions and clinical correlates in an outpatient youth
511 sample. *J Abnorm Child Psychol*. 2010 Aug;38(6):777–88.
- 512 7. Lamothe H, Baleyte J-M, Mallet L, Pelissolo A. Trichotillomania is more related to Tourette
513 disorder than to obsessive-compulsive disorder. *Rev Bras Psiquiatr Sao Paulo Braz* 1999. 2019
514 Sep 26;
- 515 8. Kalueff AV, Stewart AM, Song C, Berridge KC, Graybiel AM, Fentress JC. Neurobiology of rodent
516 self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. 2016 Jan;17(1):45–
517 59.
- 518 9. Berridge KC, Whishaw IQ. Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming
519 sequence. *Exp Brain Res*. 1992;90(2):275–90.
- 520 10. Ting JT, Feng G. Neurobiology of obsessive-compulsive disorder: insights into neural circuitry
521 dysfunction through mouse genetics. *Curr Opin Neurobiol*. 2011 Dec;21(6):842–8.
- 522 11. Milad MR, Rauch SL. Obsessive-compulsive disorder: beyond segregated cortico-striatal
523 pathways. *Trends Cogn Sci*. 2012 Jan;16(1):43–51.
- 524 12. Pittenger C, Bloch MH, Williams K. Glutamate abnormalities in obsessive compulsive disorder:
525 neurobiology, pathophysiology, and treatment. *Pharmacol Ther*. 2011 Dec;132(3):314–32.
- 526 13. Welch JM, Lu J, Rodriguiz RM, Trotta NC, Peca J, Ding J-D, et al. Cortico-striatal synaptic defects
527 and OCD-like behaviours in Sapap3-mutant mice. *Nature*. 2007;448(7156):894–900.
- 528 14. Wan Y, Ade KK, Caffall Z, Ilcim Ozlu M, Eroglu C, Feng G, et al. Circuit-selective striatal synaptic
529 dysfunction in the Sapap3 knockout mouse model of obsessive-compulsive disorder. *Biol*
530 *Psychiatry*. 2014 Apr 15;75(8):623–30.
- 531 15. Pauls DL, Abramovitch A, Rauch SL, Geller DA. Obsessive-compulsive disorder: an integrative
532 genetic and neurobiological perspective. *Nat Rev Neurosci*. 2014 Jun;15(6):410–24.
- 533 16. Burguière E, Monteiro P, Feng G, Graybiel AM. Optogenetic stimulation of lateral orbitofronto-
534 striatal pathway suppresses compulsive behaviors. *Science*. 2013;340(6137):1243–6.
- 535 17. Rauch SL, Jenike MA, Alpert NM, Baer L, Breiter HC, Savage CR, et al. Regional cerebral blood flow
536 measured during symptom provocation in obsessive-compulsive disorder using oxygen 15-
537 labeled carbon dioxide and positron emission tomography. *Arch Gen Psychiatry*. 1994
538 Jan;51(1):62–70.
- 539 18. Pinhal CM, van den Boom BJG, Santana-Kragelund F, Fellingner L, Bech P, Hamelink R, et al.
540 Differential Effects of Deep Brain Stimulation of the Internal Capsule and the Striatum on
541 Excessive Grooming in Sapap3 Mutant Mice. *Biol Psychiatry*. 2018 Dec 15;84(12):917–25.

- 542 19. Manning EE, Wang AY, Saikali LM, Winner A, Ahmari SE. Disruption of prepulse inhibition is
543 associated with severity of compulsive behavior and nucleus accumbens dopamine system
544 changes in Sapap3 knockout mice. *bioRxiv*. 2019 Jul 7;694935.
- 545 20. Mallet L, Polosan M, Jaafari N, Baup N, Welter M-L, Fontaine D, et al. Subthalamic nucleus
546 stimulation in severe obsessive-compulsive disorder. *N Engl J Med*. 2008 Nov 13;359(20):2121–
547 34.
- 548 21. Chamberlain SR, Menzies L, Hampshire A, Suckling J, Fineberg NA, del Campo N, et al.
549 Orbitofrontal dysfunction in patients with obsessive-compulsive disorder and their unaffected
550 relatives. *Science*. 2008 Jul 18;321(5887):421–2.
- 551 22. Corbit VL, Manning EE, Gittis AH, Ahmari SE. Strengthened inputs from secondary motor cortex
552 to striatum in a mouse model of compulsive behavior. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2019 Feb 8;
- 553 23. Hintiryan H, Foster NN, Bowman I, Bay M, Song MY, Gou L, et al. The mouse cortico-striatal
554 projectome. *Nat Neurosci*. 2016 Aug;19(8):1100–14.
- 555 24. McGeorge AJ, Faull RL. The organization of the projection from the cerebral cortex to the
556 striatum in the rat. *Neuroscience*. 1989;29(3):503–37.
- 557 25. Pan WX, Mao T, Dudman JT. Inputs to the Dorsal Striatum of the Mouse Reflect the Parallel Circuit
558 Architecture of the Forebrain. *Front Neuroanat [Internet]*. 2010 Dec 27 [cited 2016 Jun 3];4.
559 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3014656/>
- 560 26. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits
561 linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci*. 1986;9:357–81.
- 562 27. Jin X, Costa RM. Start/stop signals emerge in nigrostriatal circuits during sequence learning.
563 *Nature*. 2010 Jul 22;466(7305):457–62.
- 564 28. Miyachi S, Hikosaka O, Miyashita K, Kárádi Z, Rand MK. Differential roles of monkey striatum in
565 learning of sequential hand movement. *Exp Brain Res*. 1997 Jun;115(1):1–5.
- 566 29. Miyachi S, Hikosaka O, Lu X. Differential activation of monkey striatal neurons in the early and
567 late stages of procedural learning. *Exp Brain Res*. 2002 Sep;146(1):122–6.
- 568 30. Thorn CA, Atallah H, Howe M, Graybiel AM. Differential dynamics of activity changes in
569 dorsolateral and dorsomedial striatal loops during learning. *Neuron*. 2010 Jun 10;66(5):781–95.
- 570 31. Yin HH, Mulcare SP, Hilário MRF, Clouse E, Holloway T, Davis MI, et al. Dynamic reorganization of
571 striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. *Nat Neurosci*. 2009
572 Mar;12(3):333–41.
- 573 32. Gillan CM, Pappmeyer M, Morein-Zamir S, Sahakian BJ, Fineberg NA, Robbins TW, et al. Disruption
574 in the balance between goal-directed behavior and habit learning in obsessive-compulsive
575 disorder. *Am J Psychiatry*. 2011 Jul;168(7):718–26.
- 576 33. Xu M, Kobets A, Du J-C, Lenington J, Li L, Banasr M, et al. Targeted ablation of cholinergic
577 interneurons in the dorsolateral striatum produces behavioral manifestations of Tourette
578 syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Jan 20;112(3):893–8.

- 579 34. Kalanithi PSA, Zheng W, Kataoka Y, DiFiglia M, Grantz H, Saper CB, et al. Altered parvalbumin-
580 positive neuron distribution in basal ganglia of individuals with Tourette syndrome. *Proc Natl*
581 *Acad Sci U S A*. 2005 Sep 13;102(37):13307–12.
- 582 35. Kataoka Y, Kalanithi PSA, Grantz H, Schwartz ML, Saper C, Leckman JF, et al. Decreased number
583 of parvalbumin and cholinergic interneurons in the striatum of individuals with Tourette
584 syndrome. *J Comp Neurol*. 2010 Feb 1;518(3):277–91.
- 585 36. Peñagarikano O, Abrahams BS, Herman EI, Winden KD, Gdalyahu A, Dong H, et al. Absence of
586 CNTNAP2 leads to epilepsy, neuronal migration abnormalities, and core autism-related deficits.
587 *Cell*. 2011 Sep 30;147(1):235–46.
- 588 37. Rapanelli M, Frick LR, Pogorelov V, Ota KT, Abbasi E, Ohtsu H, et al. Dysregulated intracellular
589 signaling in the striatum in a pathophysiologically grounded model of Tourette syndrome. *Eur*
590 *Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol*. 2014 Dec;24(12):1896–906.
- 591 38. Shmelkov SV, Hormigo A, Jing D, Proenca CC, Bath KG, Milde T, et al. *Slitrk5* deficiency impairs
592 corticostriatal circuitry and leads to obsessive-compulsive-like behaviors in mice. *Nat Med*. 2010
593 May;16(5):598–602, 1p following 602.
- 594 39. Nordstrom EJ, Burton FH. A transgenic model of comorbid Tourette’s syndrome and obsessive-
595 compulsive disorder circuitry. *Mol Psychiatry*. 2002;7(6):617–25, 524.
- 596 40. Baldan LC, Williams KA, Gallezot J-D, Pogorelov V, Rapanelli M, Crowley M, et al. Histidine
597 decarboxylase deficiency causes tourette syndrome: parallel findings in humans and mice.
598 *Neuron*. 2014 Jan 8;81(1):77–90.
- 599 41. Xu M, Li L, Ohtsu H, Pittenger C. Histidine decarboxylase knockout mice, a genetic model of
600 Tourette syndrome, show repetitive grooming after induced fear. *Neurosci Lett*. 2015 May
601 19;595:50–3.
- 602 42. Leckman JF, Denys D, Simpson HB, Mataix-Cols D, Hollander E, Saxena S, et al. Obsessive-
603 compulsive disorder: a review of the diagnostic criteria and possible subtypes and dimensional
604 specifiers for DSM-V. *Depress Anxiety*. 2010 Jun;27(6):507–27.
- 605 43. Petter T, Richter MA, Sandor P. Clinical features distinguishing patients with Tourette’s syndrome
606 and obsessive-compulsive disorder from patients with obsessive-compulsive disorder without
607 tics. *J Clin Psychiatry*. 1998 Sep;59(9):456–9.
- 608 44. Cath DC, Spinhoven P, Hoogduin CAL, Landman AD, van Woerkom TCAM, van de Wetering BJM,
609 et al. Repetitive behaviors in Tourette’s syndrome and OCD with and without tics: what are the
610 differences? *Psychiatry Res*. 2001 Mar 25;101(2):171–85.
- 611 45. Jaisoorya TS, Reddy YCJ, Srinath S, Thennarasu K. Obsessive-compulsive disorder with and
612 without tic disorder: a comparative study from India. *CNS Spectr*. 2008 Aug;13(8):705–11.
- 613 46. Bloch MH, Landeros-Weisenberger A, Kelmendi B, Coric V, Bracken MB, Leckman JF. A systematic
614 review: antipsychotic augmentation with treatment refractory obsessive-compulsive disorder.
615 *Mol Psychiatry*. 2006 Jul;11(7):622–32.
- 616 47. Rizzo F, Abaei A, Nespoli E, Fegert JM, Hengerer B, Rasche V, et al. Aripiprazole and Riluzole
617 treatment alters behavior and neurometabolites in young ADHD rats: a longitudinal 1H-NMR
618 spectroscopy study at 11.7T. *Transl Psychiatry*. 2017 01;7(8):e1189.

- 619 48. Rizzo F, Nespoli E, Abaei A, Bar-Gad I, Deelchand DK, Fegert J, et al. Aripiprazole Selectively
620 Reduces Motor Tics in a Young Animal Model for Tourette's Syndrome and Comorbid Attention
621 Deficit and Hyperactivity Disorder. *Front Neurol*. 2018;9:59.
- 622 49. van den Boom BJG, Pavlidi P, Wolf CJH, Mooij AH, Willuhn I. Automated classification of self-
623 grooming in mice using open-source software. *J Neurosci Methods*. 2017 Sep 1;289:48–56.
- 624 50. Berridge KC. Comparative fine structure of action: rules of form and sequence in the grooming
625 patterns of six rodent species. *Behaviour*. 1–2(113):21–56.
- 626 51. Berridge KC, Fentress JC, Parr H. Natural syntax rules control action sequence of rats. *Behav Brain*
627 *Res*. 1987 Jan;23(1):59–68.
- 628 52. Santangelo A, Bortolato M, Mosher LJ, Crescimanno G, Di Giovanni G, Cassioli E, et al. Behavioral
629 fragmentation in the D1CT-7 mouse model of Tourette's syndrome. *CNS Neurosci Ther*. 2018
630 Aug;24(8):703–11.
- 631 53. Pogorelov V, Xu M, Smith HR, Buchanan GF, Pittenger C. Corticostriatal interactions in the
632 generation of tic-like behaviors after local striatal disinhibition. *Exp Neurol*. 2015 Mar;265:122–
633 8.
- 634 54. Orito K, Chida Y, Fujisawa C, Arkwright PD, Matsuda H. A new analytical system for quantification
635 scratching behaviour in mice. *Br J Dermatol*. 2004 Jan;150(1):33–8.
- 636 55. Inagaki N, Igeta K, Shiraishi N, Kim JF, Nagao M, Nakamura N, et al. Evaluation and
637 Characterization of Mouse Scratching Behavior by a New Apparatus, MicroAct. *Skin Pharmacol*
638 *Physiol*. 2003;16(3):165–75.
- 639 56. Berridge KC, Aldridge JW, Houchard KR, Zhuang X. Sequential super-stereotypy of an instinctive
640 fixed action pattern in hyper-dopaminergic mutant mice: a model of obsessive compulsive
641 disorder and Tourette's. *BMC Biol*. 2005;3:4.
- 642 57. Bortolato M, Pittenger C. Modeling tics in rodents: Conceptual challenges and paths forward. *J*
643 *Neurosci Methods*. 2017 Dec 1;292:12–9.
- 644 58. Cox JH, Seri S, Cavanna AE. Safety and efficacy of aripiprazole for the treatment of pediatric
645 Tourette syndrome and other chronic tic disorders. *Pediatr Health Med Ther*. 2016;7:57–64.
- 646 59. Yang C-S, Huang H, Zhang L-L, Zhu C-R, Guo Q. Aripiprazole for the treatment of tic disorders in
647 children: a systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry*. 2015 Jul 29;15:179.
- 648 60. Sallee F, Kohegyi E, Zhao J, McQuade R, Cox K, Sanchez R, et al. Randomized, Double-Blind,
649 Placebo-Controlled Trial Demonstrates the Efficacy and Safety of Oral Aripiprazole for the
650 Treatment of Tourette's Disorder in Children and Adolescents. *J Child Adolesc Psychopharmacol*.
651 2017 Nov;27(9):771–81.
- 652 61. Hartmann A, Worbe Y. Pharmacological treatment of Gilles de la Tourette syndrome. *Neurosci*
653 *Biobehav Rev*. 2013 Jul;37(6):1157–61.
- 654 62. Pringsheim T, Holler-Managan Y, Okun MS, Jankovic J, Piacentini J, Cavanna AE, et al.
655 Comprehensive systematic review summary: Treatment of tics in people with Tourette syndrome
656 and chronic tic disorders. *Neurology*. 2019 07;92(19):907–15.

- 657 63. Shapiro DA, Renock S, Arrington E, Chiodo LA, Liu L-X, Sibley DR, et al. Aripiprazole, a novel
658 atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. *Neuropsychopharmacol Off*
659 *Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2003 Aug;28(8):1400–11.
- 660 64. Wood M, Reavill C. Aripiprazole acts as a selective dopamine D2 receptor partial agonist. *Expert*
661 *Opin Investig Drugs*. 2007 Jun;16(6):771–5.
- 662 65. Kirschbaum KM, Uhr M, Holthoewer D, Namendorf C, Pietrzik C, Hiemke C, et al.
663 Pharmacokinetics of acute and sub-chronic aripiprazole in P-glycoprotein deficient mice.
664 *Neuropharmacology*. 2010 Nov;59(6):474–9.
- 665 66. Nespoli E, Rizzo F, Boeckers T, Schulze U, Hengerer B. Altered dopaminergic regulation of the
666 dorsal striatum is able to induce tic-like movements in juvenile rats. *PLOS ONE*. 2018 Apr
667 26;13(4):e0196515.
- 668 67. Miguel EC, do Rosário-Campos MC, Prado HS, do Valle R, Rauch SL, Coffey BJ, et al. Sensory
669 phenomena in obsessive-compulsive disorder and Tourette’s disorder. *J Clin Psychiatry*. 2000
670 Feb;61(2):150–6; quiz 157.
- 671 68. Diniz JB, Rosario-Campos MC, Hounie AG, Curi M, Shavitt RG, Lopes AC, et al. Chronic tics and
672 Tourette syndrome in patients with obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatr Res*. 2006
673 Sep;40(6):487–93.
- 674 69. Coffey BJ, Miguel EC, Biederman J, Baer L, Rauch SL, O’Sullivan RL, et al. Tourette’s disorder with
675 and without obsessive-compulsive disorder in adults: are they different? *J Nerv Ment Dis*. 1998
676 Apr;186(4):201–6.
- 677 70. Leonard HL, Lenane MC, Swedo SE, Rettew DC, Gershon ES, Rapoport JL. Tics and Tourette’s
678 disorder: a 2- to 7-year follow-up of 54 obsessive-compulsive children. *Am J Psychiatry*. 1992
679 Sep;149(9):1244–51.
- 680 71. George MS, Trimble MR, Ring HA, Sallee FR, Robertson MM. Obsessions in obsessive-compulsive
681 disorder with and without Gilles de la Tourette’s syndrome. *Am J Psychiatry*. 1993 Jan;150(1):93–
682 7.
- 683 72. Leckman JF, Grice DE, Barr LC, de Vries AL, Martin C, Cohen DJ, et al. Tic-related vs. non-tic-related
684 obsessive compulsive disorder. *Anxiety*. 1994 1995;1(5):208–15.
- 685 73. Holzer JC, Goodman WK, McDougle CJ, Baer L, Boyarsky BK, Leckman JF, et al. Obsessive-
686 compulsive disorder with and without a chronic tic disorder. A comparison of symptoms in 70
687 patients. *Br J Psychiatry J Ment Sci*. 1994 Apr;164(4):469–73.
- 688 74. Zohar AH, Pauls DL, Ratzoni G, Apter A, Dycian A, Binder M, et al. Obsessive-compulsive disorder
689 with and without tics in an epidemiological sample of adolescents. *Am J Psychiatry*. 1997
690 Feb;154(2):274–6.
- 691 75. Eichstedt JA, Arnold SL. Childhood-onset obsessive-compulsive disorder: a tic-related subtype of
692 OCD? *Clin Psychol Rev*. 2001 Feb;21(1):137–57.
- 693 76. Prado HS, Rosário MC, Lee J, Hounie AG, Shavitt RG, Miguel EC. Sensory phenomena in obsessive-
694 compulsive disorder and tic disorders: a review of the literature. *CNS Spectr*. 2008
695 May;13(5):425–32.

- 696 77. Ipser JC, Carey P, Dhansay Y, Fakier N, Seedat S, Stein DJ. Pharmacotherapy augmentation
697 strategies in treatment-resistant anxiety disorders. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Oct
698 18;(4):CD005473.
- 699 78. Bienvenu OJ, Wang Y, Shugart YY, Welch JM, Grados MA, Fyer AJ, et al. Sapap3 and pathological
700 grooming in humans: Results from the OCD collaborative genetics study. *Am J Med Genet Part B*
701 *Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet*. 2009 Jul 5;150B(5):710–20.
- 702 79. Boardman L, van der Merwe L, Lochner C, Kinnear CJ, Seedat S, Stein DJ, et al. Investigating
703 SAPAP3 variants in the etiology of obsessive-compulsive disorder and trichotillomania in the
704 South African white population. *Compr Psychiatry*. 2011 Apr;52(2):181–7.
- 705 80. Novak CE, Keuthen NJ, Stewart SE, Pauls DL. A twin concordance study of trichotillomania. *Am J*
706 *Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet*. 2009 Oct
707 5;150B(7):944–9.
- 708 81. Nagarajan N, Jones BW, West PJ, Marc RE, Capecchi MR. Corticostriatal circuit defects in Hoxb8
709 mutant mice. *Mol Psychiatry*. 2018 Sep;23(9):1868–77.
- 710 82. Mei Y, Monteiro P, Zhou Y, Kim J-A, Gao X, Fu Z, et al. Adult restoration of Shank3 expression
711 rescues selective autistic-like phenotypes. *Nature*. 2016 Feb 25;530(7591):481–4.
- 712 83. Silberberg G, Bolam JP. Local and afferent synaptic pathways in the striatal microcircuitry. *Curr*
713 *Opin Neurobiol*. 2015 Aug;33:182–7.
- 714 84. Rothwell PE, Hayton SJ, Sun GL, Fuccillo MV, Lim BK, Malenka RC. Input- and Output-Specific
715 Regulation of Serial Order Performance by Corticostriatal Circuits. *Neuron*. 2015 Oct
716 21;88(2):345–56.

717

718

719

Contributions

720

HL, CS, LM, EB conceptualized the research; HL, CS, OL conducted experiments; HL, CS, EB
721 analyzed data; CS, HL, EB wrote the article; HL, CS, LM, EB edited the manuscript.

722

723

Acknowledgements

724

All animal work was conducted at the PHENO-ICMice facility. This work furthermore benefitted
725 from the equipment and services from the iGenSeq core facility at ICM for the genotyping of
726 the animals. We thank Drs. G. Feng and Ann M. Graybiel for kindly providing founders of the
727 Sapap3^{-/-} colony, and Dr. Ester Nespoli for her experimental advice on aripiprazole

728 preparation. This work was realized with the following funding: Agence Nationale de la
729 Recherche (ANR-16-INSERM-SINREP, ANR-19-ICM-DOPALOOPS) (EB); Fondation de France
730 (EB), and the L'Oréal-UNESCO Fellowship 2016 (CS). The core facilities were supported by
731 "Investissements d'avenir" (ANR-10-IAIHU-06 and ANR-11-INBS-0011-NeurATRIS) and
732 "Fondation pour la Recherche Médicale".

733
734 **Conflict of interest.**

735 The authors declare no conflict of interest.
736
737

738 **Figure Legends**

739
740 **Figure 1. Behavioural assessment of Sapap3^{-/-} mice**

741 **(A)** Photographs of custom-made apparatus for behavioural assessment, consisting of four
742 acrylic chambers, each equipped with top and side cameras, connected to a digital video
743 recording system. **(B)** Detailed graphic illustration of a single video chamber with *ad libitum*
744 water and food access. **(C)** Time scale of behavioural assessment. Mice were video-recorded
745 in the behavioural apparatus for 24hrs. Four intermittent time bins of 30 minutes each (i.e. a
746 total of two hours) were manually analysed offline for repetitive behaviours including self-
747 grooming, head-body twitches and hindpaw scratching. The scored time bins were distributed
748 regularly across the light/dark circadian following previous protocols (Welch et al., 2007).

749
750 **Figure 2. Sapap3^{-/-} mice express aberrant tic-like and scratching behaviours**

751 **(A)** Sapap3^{-/-} mice execute a significant amount of tic-like head-body twitches, which are
752 nearly absent in wildtype mice (Mann-Whitney U test, $p < 0.001$). **(B)** Sapap3^{-/-} mice show a
753 significant amount of hindpaw scratching compared to wildtype control mice (Mann-Whitney
754 U test, $p < 0.001$). **(C)** The duration of hindpaw scratching is significantly elevated in Sapap3^{-/-}
755 in comparison to wildtype mice (Mann-Whitney U test, $p < 0.001$). **(D)** The number of tic-like
756 movements and scratching bouts correlate positively in both wildtype (Spearman correlation,
757 $p < 0.05$) and Sapap3^{-/-} mice (Spearman correlation, $p < 0.001$). **(E)** Photographs of three
758 individual mice with representative lesions before, and two days or two weeks after hindpaw
759 nail clipping treatment. **(F)** Lesions, assessed through a lesion score ranging from no lesions
760 (score = 1) to severe lesions (score = 4), significantly improved already two days after clipping
761 the hindpaw claws (Wilcoxon signed-rank test, paired, $p < 0.001$). **(G)** Lesions are further

762 improved two weeks after clipping the hindpaw claws as assessed through a significantly
763 lowered lesion score (Wilcoxon signed-rank test, paired, $p < 0.001$). ** = $p < 0.01$, *** = $p <$
764 0.001.

765
766 **Figure 3. Short, single-phase grooming events are more exaggerated than syntactic**
767 **grooming in Sapap3^{-/-} mice**

768 **(A)** Sapap3^{-/-} mice show significantly more grooming events compared to wildtype controls
769 (Mann-Whitney U test, $p < 0.001$). **(B)** Total grooming duration is comparable between
770 Sapap3^{-/-} and wildtype mice (Mann-Whitney U test, $p = 0.55$). **(C)** Self-grooming behavior of
771 Sapap3^{-/-} mice compared to wildtype mice is characterized by a large proportion of grooming
772 events of short duration. The x-axis is depicted on a log₁₀ scale. **(D)** Both short grooming events
773 (< 3 second duration) as well as long grooming events (>3 second duration) were significantly
774 enhanced in Sapap3^{-/-} mice compared to wildtype controls (Mann-Whitney U test, $p < 0.001$
775 and $p < 0.01$, respectively). Self-grooming behavior depended both on genotype and bout
776 length (ART ANOVA, $p_{\text{genotype} \times \text{grooming type}} < 0.01$). Box plots illustrate the first and third quartiles;
777 whiskers indicate the minimum and the maximal value of each data set at no further than 1.5
778 interquartile range. The indicated average is the median. Quartiles of Sapap3^{-/-} and wildtype
779 mice are plotted in grey or white, and individual data points in filled black and empty black
780 dots, respectively. ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$; ns = non-significant.

781
782 **Figure 4. Excessive tic-like, scratching and short grooming events are associated in Sapap3^{-/-}**
783 **mice**

784 **(A)** The proportion of novel detected repetitive behaviours in Sapap3^{-/-} mice outweighs
785 previously reported syntactic self-grooming behavior (Pearson's Chi-squared test, $p < 0.001$).

786 **(B)** Tic-like bouts positively correlate with short, single-phase grooming but not long, syntactic
787 grooming bouts in Sapap3^{-/-} mice (Spearman correlation, $p < 0.05$, $p = ns$, respectively). **(C)**
788 Scratching bouts also correlate positively with short, single-phase grooming but not long,
789 syntactic grooming bouts in Sapap3^{-/-} mice (Spearman correlation, $p < 0.01$, $p = ns$,
790 respectively). Box whisker plots are designed as in Figure 2. Correlation estimates are plotted
791 in a grey solid line or a dotted black line for wildtype or Sapap3^{-/-} mice, respectively.

792
793 **Figure 5. Tic-like and short grooming bouts were selectively reduced by aripiprazole**

794 **(A)** Acute treatment with aripiprazole (1.5mg/kg) significantly reduced the number of single-
795 phase grooming and the number of tic-like events (Wilcoxon signed-rank test, both $p < 0.05$),
796 but not the number of syntactic grooming events nor the number of hindpaw scratching
797 events (Wilcoxon signed-rank test, both $p = non\ significant$). The number of events under
798 aripiprazole treatment are normalized to vehicle treatment (100%) of individual mice. **(B)**
799 Aripiprazole significantly improves exaggerated single-phase but not syntactic grooming
800 behaviour in Sapap3^{-/-} mice. The x-axis is depicted on a \log_{10} scale. * = $p < 0.05$, ns = non-
801 significant.

802
803 **Supplementary Figure 1. Skin lesions in Sapap3^{-/-} include body areas that are not touched**
804 **during syntactic grooming**

805 **(A)** Distribution of most prominent skin lesions (in %) detected in a large colony pool of
806 Sapap3^{-/-} mice ($n = 55$), including snout, eye, ear, upper head, neck and back body areas. **(B)**

807 In more than 80% of animals analyzed in detail (n = 32), the principal lesion was accompanied
808 by further lesions at multiple sites.

809

810 **Supplementary Figure 2. Distinction between short and long grooming episodes**

811 **(A)** Sleep duration was comparable in wildtype and Sapap3^{-/-} mice (Mann-Whintey U, p = ns).

812 **(B)** Grooming events of short duration (<3 seconds) tend to consist of single-phase grooming
813 events, while longer grooming events (>3 second) tend to consist of syntactic grooming events.

814 **(C)** Receiver operating characteristic (ROC) curve estimation of the best cut-off separating
815 single- and syntactic grooming bouts according to their duration at 3 seconds (true positive rate
816 / sensitivity_{3s} = 87.2%; false positive rejection rate / Specificity_{3s} = 61.5%). (D) Sapap3^{-/-} mice
817 and wildtype mice significantly differ in the proportion of short, single-phase and long, syntactic
818 grooming events (ART ANOVA, p_{genotype*grooming type} < 0.001). *** = p < 0.001, ns = non-significant.

819

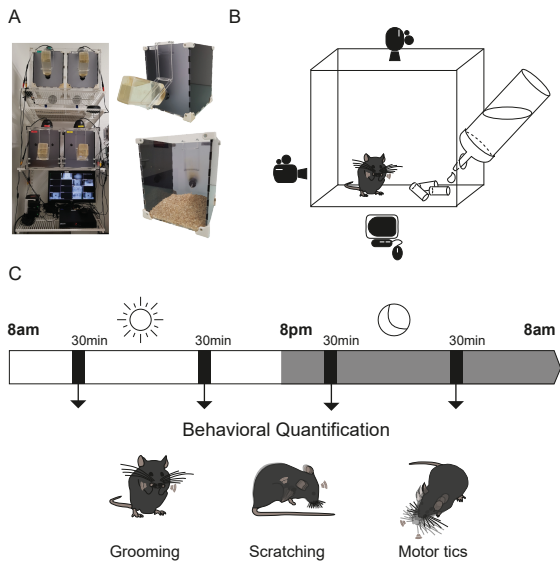


Figure 2

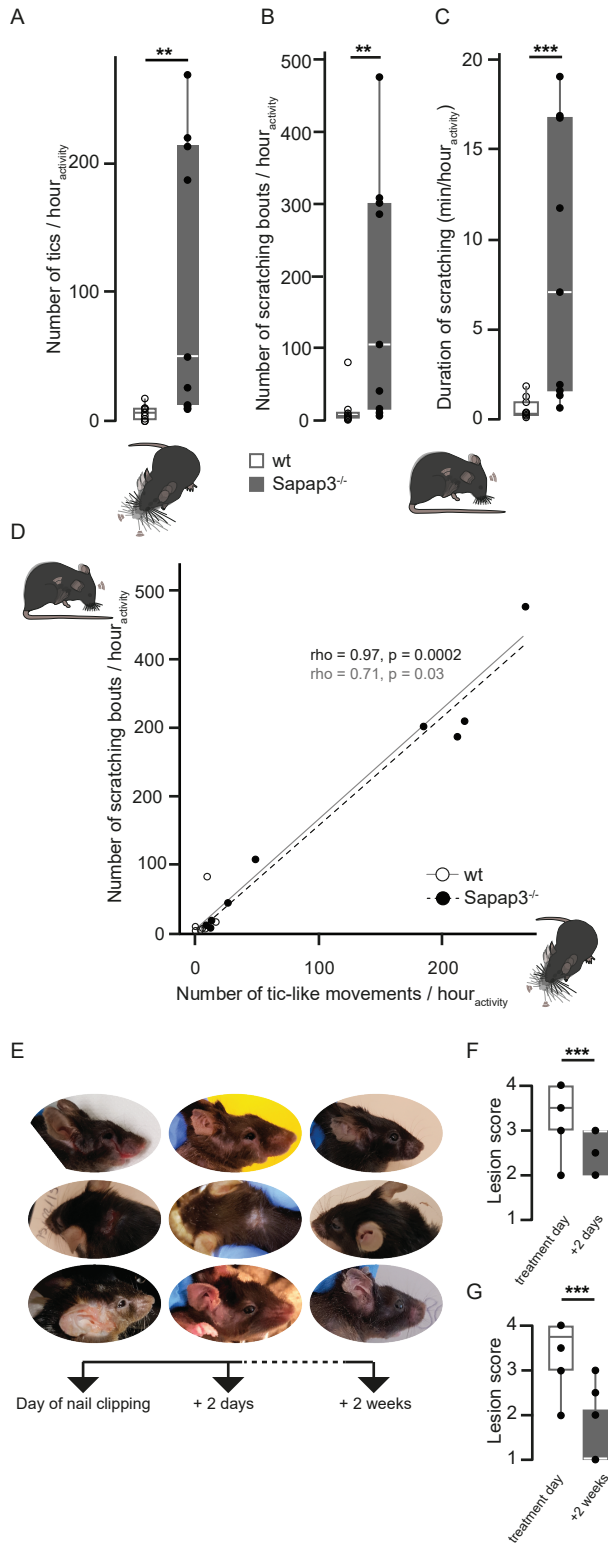


Figure 3

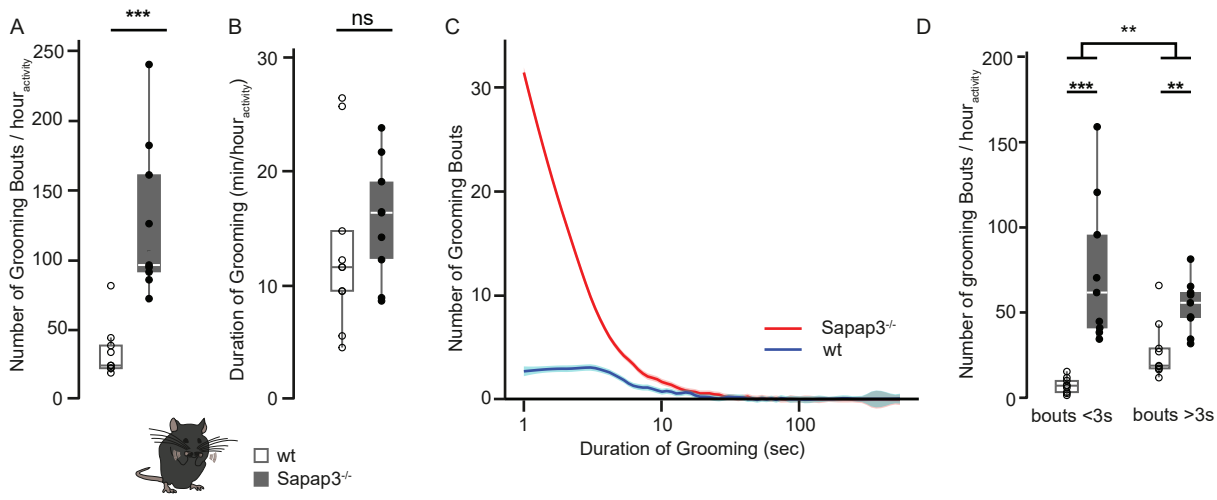


Figure 4

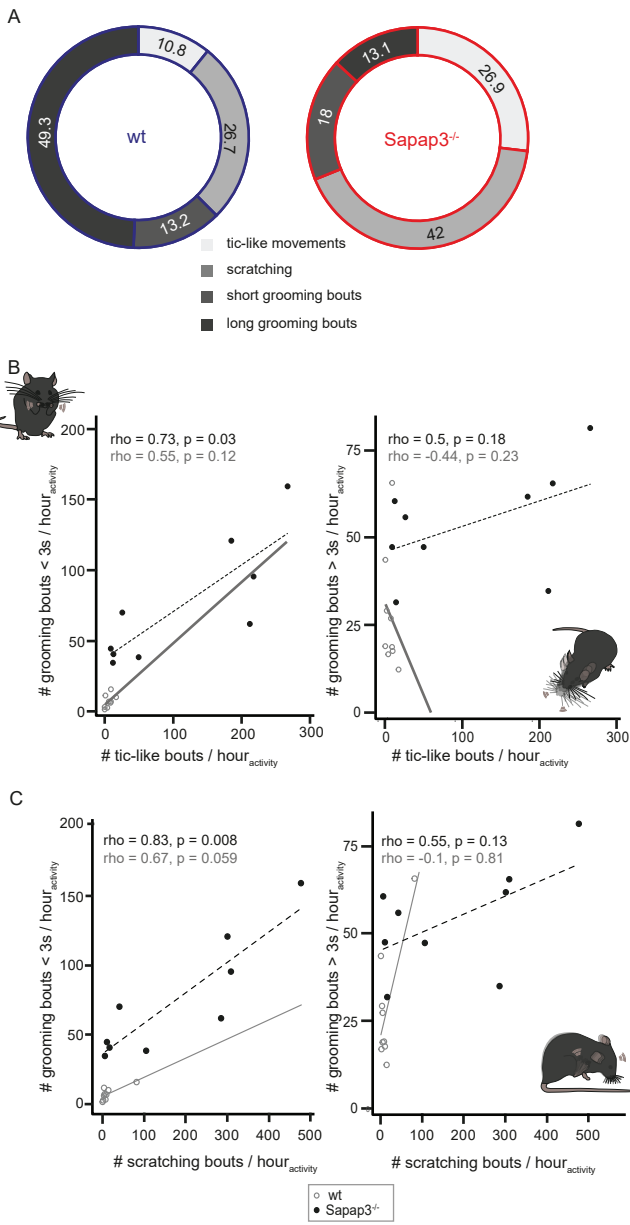
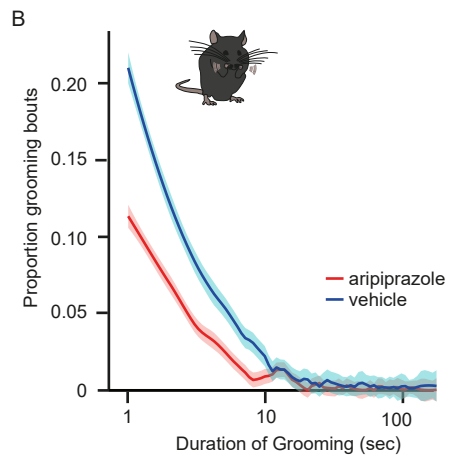
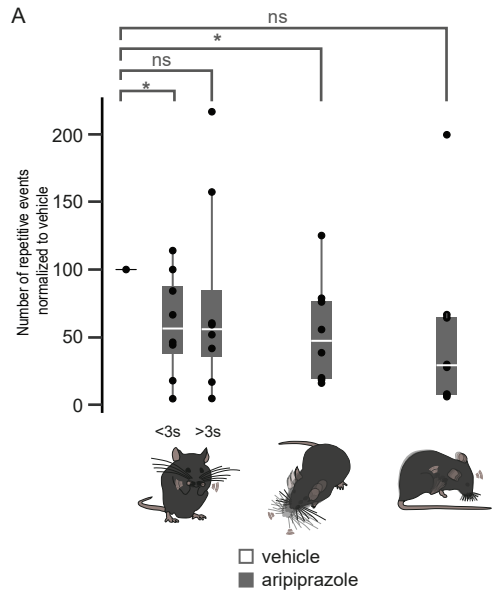
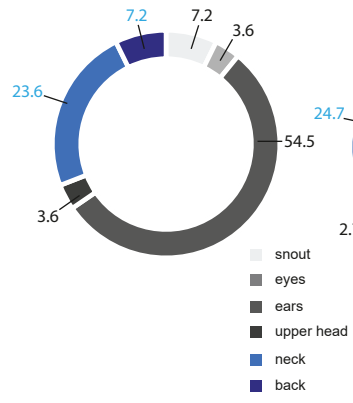


Figure 5

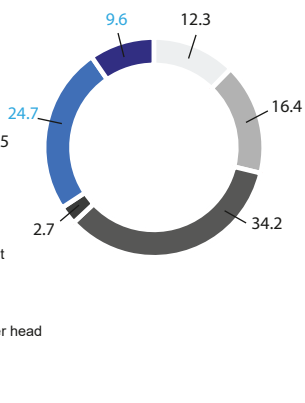


Supplementary Figure 1

A



B



Supplementary Figure 2

