



HAL
open science

Dynamique de la mémoire au cours du développement post-natal, étude chez le raton

Solène Languille

► **To cite this version:**

Solène Languille. Dynamique de la mémoire au cours du développement post-natal, étude chez le raton. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Sud - Paris XI, 2009. Français. NNT: . tel-00432171v1

HAL Id: tel-00432171

<https://theses.hal.science/tel-00432171v1>

Submitted on 14 Nov 2009 (v1), last revised 17 Dec 2009 (v2)

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.

**UNIVERSITE PARIS XI
FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD**

Année 2008-2009

N°

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XI

Spécialité Neurosciences
École doctorale Signalisations et Réseaux Intégratifs en Biologie

Présentée et soutenue publiquement par

Solène LANGUILLE

le 1^{er} octobre 2009

**Dynamique de la mémoire au cours
du développement post-natal,
étude chez le raton**

Directeur de thèse : **Pr. Bernard HARS**

JURY

M. Hervé DANIEL	Président
Mme Susan SARA	Rapporteur
M. Guillaume FERREIRA	Rapporteur
M. Jean-Marc JALLON	Examinateur
M. Gérard COUREAUD	Examinateur
M. Bernard HARS	Directeur de thèse

**UNIVERSITE PARIS XI
FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD**

Année 2008-2009

N°

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XI

Spécialité Neurosciences

École doctorale Signalisations et Réseaux Intégratifs en Biologie

Présentée et soutenue publiquement par

Solène LANGUILLE

le 1^{er} octobre 2009

**Dynamique de la mémoire au cours
du développement post-natal,
étude chez le raton**

Directeur de thèse : **Pr. Bernard HARS**

JURY

M. Hervé DANIEL	Président
Mme Susan SARA	Rapporteur
M. Guillaume FERREIRA	Rapporteur
M. Jean-Marc JALLON	Examineur
M. Gérard COUREAUD	Examineur
M. Bernard HARS	Directeur de thèse

Résumé

Les deux aspects essentiels de la mémoire sont d'une part la formation/stabilisation de la trace, et d'autre part la rétention/expression du souvenir à plus ou moins long terme. Afin de comprendre ces processus, il est intéressant d'étudier leur mise en place au cours de l'ontogenèse.

Stabilisation d'une mémoire précoce. Il est communément admis que la formation de la mémoire à long terme nécessite la synthèse de nouvelles protéines via l'activation de voies de signalisation intracellulaire (consolidation). Plusieurs données récentes ont montré que le rappel d'une mémoire implique une nouvelle vague de synthèse protéique pour être de nouveau stabilisée (reconsolidation). L'ensemble de ces données a été obtenu chez l'adulte. Notre équipe a montré que ces processus sont des caractéristiques originelles de la mémoire puisqu'on peut les mettre en évidence dès le début de la vie. Au cours de ma thèse, nous avons confirmé et précisé ces processus en montrant que la consolidation comme la reconsolidation de l'aversion gustative conditionnée requièrent la cascade des MAPK/ERK chez le raton âgé de 3 jours. De plus, nous avons observé l'activation de ERK1/2 dans l'amygdale après l'acquisition, mais pas après la réactivation (Languille et al., 2009a). Ainsi, dès le début de l'ontogenèse, les processus de stabilisation de la mémoire semblent donc impliquer des mécanismes moléculaires similaires à ceux observés chez l'adulte. Néanmoins, ces processus mnésiques chez le nouveau-né ne sont pas totalement identiques à ceux de l'adulte. En effet, l'étude des cinétiques de consolidation et de reconsolidation de l'aversion gustative à différents âges (de 3 à 18 jours post-natals) a permis de mettre en évidence une évolution de ces processus avec l'âge. Les dynamiques temporelles de la consolidation et de la reconsolidation se raccourcissent progressivement au cours du développement post-natal : la trace met de moins en moins de temps à se stabiliser (Languille et al., 2008).

Expression d'une mémoire précoce. Les ratons sont capables de former et d'exprimer une mémoire à long terme (3 jours après l'acquisition). Cependant, lorsque le délai entre le moment de l'acquisition et de la rétention est plus important, l'état de maturation du raton peut influencer sur la réponse comportementale. Dans un premier temps, nous avons étudié si la mémoire précoce dépend de l'âge de l'apprentissage ou de l'âge de la rétention. Pour cela, le conditionnement « odeur-choc » chez le raton est particulièrement intéressant car il entraîne une réponse d'approche lorsque l'acquisition est réalisée avant le 10^{ème} jour post-natal, et une réponse d'évitement après. Nous avons confirmé ces réponses, et montré que la mémoire d'approche (à 7 jours post-natals) n'est pas maintenue, mais elle est inversée en mémoire d'évitement (à 13 jours post-natals) (Languille et al., 2009b). Ainsi, l'expression de la mémoire semble être appropriée à l'âge du test et non à l'âge de l'apprentissage. Dans un second temps, nous avons analysé la résistance à l'oubli au cours du développement post-natal. L'aversion gustative acquise avant 12 jours post-natals est retenue moins de 2 semaines, alors que la mémoire d'aversion gustative formée après 15 jours est exprimée pendant plusieurs mois. De plus, la mémoire précoce « oubliée » ne semble pas avoir d'impact sur un reconditionnement à un stade jeune adulte (Languille et al., 2009c). La dynamique de la rétention à long terme se rallonge brusquement entre 12 et 15 jours post-natals.

Mots clés : Mémoire, ontogenèse, consolidation, reconsolidation, synthèse protéique, MAPK, amnésie infantile, conditionnement d'aversion gustative, conditionnement « odeur-choc », rat.

Publications & communications

PUBLICATIONS

Languille S., Gruet N., Richer P., Hars B. (2008) The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during post-natal development. **Learning and Memory** 15 : 434-442.

Languille S., Richer P., Hars B. (2009) Approach memory turns to avoidance memory with age. **Behavioral Brain Research** 202 : 278-284.

Coureaud G., Languille S., Schaal B., Hars B. (2009) Consolidation and reconsolidation processes support pheromone-induced memory in newborn rabbits. **Learning and Memory** 16 : 470-473.

Languille S., Davis S., Richer P., Alcacer C., Laroche S., Hars B. (2009) ERK activation is required for consolidation and reconsolidation of memory at an early stage of ontogenesis. **European Journal of Neuroscience**, sous presse.

Languille S., Richer P., and Hars B. Abrupt emergence of long-lasting memory in the pre-weanling rat. **Behavioral Brain Research**, sous presse.

COMMUNICATIONS AFFICHEES

Languille S., Gruet N., Richer P., Hars B. (2008) Les processus de mémorisation « s'accélèrent » au cours du développement post-natal. *Colloque annuel du GDR NeuroMem, Aussois en Vanoise, 15 au 17 décembre.*

Languille S., Richer P., Hars B. (2008) La résistance à l'oubli s'accroît au cours du développement post-natal. *Colloque annuel du GDR NeuroMem, Aussois en Vanoise, 15 au 17 décembre.*

Languille S., Richer P., Hars B. (2008) Evolution of memory processes with growth. *Colloque IFR 144 NeuroSud-Paris, Gif-sur-Yvette, 27 novembre.*

Languille S., Richer P., Hars B. (2008) Evolution of forgetting with growth. *Colloque IFR 144 NeuroSud-Paris, Gif-sur-Yvette, 27 novembre.*

Languille S., Gruet N., Richer P., Hars B. (2008) Memory accelerate during post-natal development. *4^e colloque ECBB (European Conference on Behavioural Biology), Dijon, 18 au 20 juillet.*

Languille S., Gruet N., Richer P., Hars B. (2008) Consolidation and reconsolidation accelerate with growth. *6^e colloque FENS (Forum of European Neuroscience), Genève, 12 au 16 juillet.*

Languille S., Richer P., Hars B. (2007) Inhibition of MAPK pathway blocks consolidation and reconsolidation of memory in the pup. *Colloque IFR 144 NeuroSud-Paris, Jouy en Josas, 27 juin.*

Languille S., Alcacer C., Richer P., Hars B. (2007) Inhibition of MAPK pathway blocks consolidation and reconsolidation of memory in the pup. *8^e colloque de la société des neurosciences, Montpellier, 22 au 25 mai.*

Coureaud G., Hars B., Languille S., Schaal B. (2007) Apprentissage appétitif et consolidation mnésique chez le lapin nouveau-né. *Colloque Annuel SFECA (Société Française pour l'Etude du Comportement Animal), Villetaneuse, 18 au 20 avril.*

Languille S., Richer P., Hars B. (2007) Implication de la cascade des MAPK dans la mémoire précoce chez le raton. *Colloque Annuel SFECA (Société Française pour l'Etude du Comportement Animal), Villetaneuse, 18 au 20 avril.*

Languille S., Richer P., Hars B. (2006) La consolidation et la reconsolidation passent par la voie des MAPK chez le raton. *Colloque annuel du GDR NeuroMem, Talence, 27 et 28 septembre.*

COMMUNICATIONS ORALES

Des nouveau-nés pas si masochistes ! *Colloque annuel du GDR NeuroMem, Aussois en Vanoise, 15 au 17 décembre 2008.*

The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during post-natal development. *Journée des doctorants post-doctorants de l'IBAIC, Orsay, 23 mai 2008.*

Dynamiques temporelles de la mémoire au cours du développement post-natal. *Science-club, Orsay, 21 mai 2008.*

Implication de la cascade des MAPK dans la mémoire précoce chez le raton. *Colloque Annuel SFECA (Société Française pour l'Etude du Comportement Animal), Villetaneuse, 18 au 20 avril 2007.*

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier **Susan Sara** et **Guillaume Ferreira** d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse malgré leurs charges respectives, et sacrifié leur été à sa lecture. Je suis également très reconnaissante de l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail durant ces 3 années, que ce soit dans la relecture d'articles ou lors de congrès. Je remercie tout aussi vivement **Hervé Daniel**, d'avoir volontiers accepté de présider le jury de cette thèse, et de m'avoir incitée à faire mon Master à Orsay où j'ai pu obtenir une allocation de recherche. Je suis particulièrement honorée et ravie que **Jean-Marc Jallon** ait accepté d'examiner mon travail. Je lui suis reconnaissante d'avoir pris en compte ma volonté d'étudier le comportement animal et de m'avoir dirigée vers Bernard Hars. Je tiens à remercier tout spécialement **Gérard Coureaud** pour sa participation à mon jury, et surtout pour notre collaboration. Merci Gérard pour ton écoute, ta persévérance, et ton regard d'éthologiste.

J'adresse mes sincères remerciements à :

Bernard Hars, pour m'avoir fait confiance en m'accueillant dans son équipe et pour m'avoir confié un projet de thèse si passionnant. Je lui suis reconnaissante de m'avoir toujours accordé de son temps en dépit d'un planning chargé, et de m'avoir laissé une grande autonomie. Merci pour les nombreuses séances de réflexion où nous échangeons nos points de vue ; et même si nous n'étions pas toujours d'accord, je pense que nous nous sommes toujours compris. Merci pour son immense savoir, son sens de l'humour (je n'oublierai pas la blague du sexage des animaux...), son écoute et son ouverture d'esprit (malgré son obstination à me conseiller un post-doc. à l'étranger). J'ai beaucoup appris à ses côtés. Merci pour les michokos, et pour tous les bons moments que nous avons vécus. Bonne retraite et rendez-vous dans 10 ans pour savoir si ses prédictions sur mon avenir professionnel étaient bonnes...

Paulette Richer, pour son exceptionnelle gentillesse, sa simplicité, sa disponibilité, son aide continue. J'ai beaucoup apprécié sa compagnie tout au long des manip, notamment nos discussions pendant la tétée des rats. Elle est l'une des personnes à qui j'ai pu donner toute ma confiance, que ce soit pour les manip ou pour ma vie personnelle. Je tâcherai de « donner de la vie aux années et non des années à la vie ». Un énorme merci !

Gérard Coureaud & Benoist Schaal, à qui je réitère tout le plaisir que j'ai eu à notre collaboration.

Sabrina Davis, pour les analyses western-blot et les multiples corrections d'anglais.

Serge Laroche, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour cette collaboration qui m'a beaucoup appris sur le plan humain et scientifique.

Mauricette Collado-Hilly & Jean-Claude Sulpice, pour la mise au point du marquage radioactif et pour m'avoir accordé leur confiance en me laissant manipuler dans leurs locaux.

Pascale Veyrac & Nathalie Samson, pour s'être occupées des ratons et de leurs progéniteurs.

Gérard Dutrieux & Valérie Halin-Marsaux, pour leur assistance technique.

Maryvonne Guégan & Benoît Delatour, pour m'avoir divulgué leurs petits secrets d'immunohistochimie.

Boris Gourévitch, pour ses connaissances précieuses en statistique.

Jean-Marc Edeline, pour ses petites visites bien sympathiques, ses précieux conseils, sa disponibilité, et pour m'avoir évité de venir priver mes rats le dimanche.

Cathy & Flavien, pour avoir égayé au quotidien ces 3 années de thèse, pour nos excursions dans les caves, la descente en rappel du Père Noël, nos goûters plus ou moins improvisés... Un grand merci à vous deux, et bon courage pour la dernière ligne droite ! Cathy, même si j'ai déjà perdu un pari, je crois en toi...

Stéph, pour sa bonne humeur et son humour. Parce que t'es une fille « épatée et épatante » !

Nico, pour sa sympathie et son petit côté « escro ».

Lucie & Nadia, pour leur dynamisme et tout l'intérêt qu'ils ont porté aux manipes malgré les échecs. Vous resterez mes stagiaires préférées.

Mouna, pour sa sympathie et son authenticité. Merci pour le dromadaire !

Mouch, Taz, Tigrou, Priscille, pour m'avoir toujours soutenue et encouragée. Vous comptez énormément pour moi. Attention, Madame Mouch va se marier, ça ne rigole plus ! Taz, alias « la fille aux loups », je suis très fière de toi et de ce que tu fais. Tes louveteaux sont vraiment trop mignons. Cnacuó et n'oublie pas la vodka à ton retour !

Pim, Teq, Coch, Gump, Gazou, Polly, Buffy, SM, U Corsu & Costaud, pour tout ce que nous avons vécu ensemble. Merci pour ces nombreux souvenirs...

Atchoum, Gouloum, Minipouss', Mistigris, Little, Stitch, Chocolat & Vortex, pour leurs câlins, leur malice et leur amour qui illuminent ma vie.

Jérôme, pour supporter tous les jours depuis plus de 5 ans mon « petit » caractère bien trempé, pour son soutien moral et financier, pour avoir partagé mes joies et mes peines, pour sa contribution à la survie des ours polaires, pour son moonwalk, nos délires... Merci pour tout.

Anaïs, pour sa joie, sa « folie », sa sincérité et son innocence de p'tite soeur... Merci ma choupinette de me donner l'envie d'avancer un peu plus chaque jour, pour te montrer « qu'il faut aimer la vie, et l'aimer même si le temps est assassin et emporte avec lui les rires des enfants. »

Le chien de Pavlov pense :

« L'homme est un être essentiellement éduicable. J'avais un maître fort intelligent qui m'apportait ma pâtée sitôt que je salivais. Après des conditionnements appropriés, j'arrivais, rien qu'en salivant, à lui faire jouer de la trompette »

P.Gréco.

Table des matières

Liste des principales abréviations.....	12
Liste des illustrations.....	13
INTRODUCTION.....	15
<u>I) Dynamique de la mémoire.....</u>	19
I.1) Hypothèse de la consolidation.....	19
I.1.1) Trace instable & trace stable.....	19
I.1.2) Mémoire à court terme & mémoire à long terme.....	20
I.1.3) Gradient temporel de fragilité de la trace.....	22
I.1.4) Mécanisme de la consolidation : la réverbération.....	23
I.1.5) Mécanismes moléculaires de la consolidation.....	24
I.1.6) Consolidation à très long terme (systémique).....	27
I.2) Réserves sur l'hypothèse de la consolidation.....	29
I.2.1) Récupération après amnésie.....	29
I.2.2) Amnésie dépendante d'une réactivation.....	31
I.3) Hypothèse de la reconsolidation.....	33
I.3.1) Naissance de la reconsolidation.....	33
I.3.2) Mémoire réactivée totalement ou partiellement ?	34
I.3.3) Conditions d'une reconsolidation.....	36
I.3.4) Comparaison consolidation/reconsolidation.....	40
I.3.4.1) <i>Temporalité</i>	40
I.3.4.1) <i>Mécanismes moléculaires et structures cérébrales</i>	40
I.4) Mémoire et synthèse protéique.....	46
I.4.1) Inhibiteurs de la synthèse protéique.....	46
I.4.1.1) <i>Exemple de l'anisomycine</i>	46
I.4.1.2) <i>Effet amnésiant par d'autres mécanismes d'action</i>	46
I.4.2) Implication de la synthèse protéique dans la mémoire.....	47
I.4.3) Mémoire plus ou moins stable ?	49
<u>II) Mémoire du nouveau-né.....</u>	51
II.1) Apprentissage et mémoire précoce.....	51
II.1.1) Développement post-natal du raton.....	51
II.1.2) Apprentissages précoces.....	53
II.1.2.1) « <i>Odeur-choc</i> ».....	55
II.1.2.2) <i>Aversion gustative conditionnée (CTA)</i>	57
II.1.3) Maturation de l'apprentissage.....	59
II.1.4) Développement des structures de l'aversion olfactive et gustative.....	62
II.1.4.1) <i>Structures de l'olfaction</i>	63
II.1.4.2) <i>Structures de la gustation</i>	66
II.1.4.3) <i>Structure de l'aversion conditionnée, l'amygdale</i>	67

II.2) Consolidation et reconsolidation d'une mémoire précoce.....	70
II.2.1) Mise en évidence de la consolidation de la mémoire chez le nouveau-né.....	70
II.2.2) Consolidation et reconsolidation d'une mémoire précoce de CTA.....	71
II.2.3) Comparaison des processus mnésiques chez le nouveau-né et l'adulte.....	72
II.3) Oubli d'une mémoire précoce : l'amnésie infantile.....	74
II.3.1) Observations chez l'humain.....	74
II.3.2) Études expérimentales chez l'animal.....	75
II.3.3) Hypothèses de l'amnésie infantile.....	76
II.3.3.1) <i>Hypothèses comportementales</i>	77
II.3.3.2) <i>Hypothèses neurologiques</i>	79
II.3.4) Amnésie infantile de l'aversion gustative conditionnée.....	83
III) Objectifs de ma thèse.....	87
RÉSULTATS.....	89
Chapitre 1 : Dynamique de la stabilisation de la mémoire précoce.....	89
Article 1 : ERK activation is required for consolidation and reconsolidation of memory at an early stage of ontogenesis.....	91
Article 2 : The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during postnatal development.....	93
Chapitre 2 : Dynamique de l'expression de la mémoire précoce.....	95
Article 3 : Approach memory turns to avoidance memory with age.....	97
Article 4 : Forgetting resistance increase during post-natal development.....	99
DISCUSSION.....	101
I) Similitudes entre une mémoire précoce et une mémoire d'adulte.....	103
I.1) Existence de la consolidation et de la reconsolidation.....	103
I.2) Mécanismes moléculaires de la consolidation et de la reconsolidation.....	103
I.3) Comparaison consolidation/reconsolidation.....	105
I.3.1) <i>Mécanismes moléculaires et structures cérébrales</i>	105
I.3.2) <i>Dynamique temporelle</i>	105
I.4) Mémoire à court terme et à long terme: processus parallèles ou séquentiels ?.....	106

II) Différences entre une mémoire précoce et une mémoire d'adulte	108
II.1) Évolution de la mémoire au cours du développement post-natal.....	108
II.1.1) <i>Évolution des processus de stabilisation de la mémoire</i>	108
II.1.2) <i>Évolution de l'expression de la mémoire</i>	108
II.1.3) <i>Évolution de la rétention à très long terme</i>	109
II.2) Implication de la mémoire dans l'adaptation au changement de l'environnement...	109
II.3) Évolution de la mémoire : ontogénèse et vieillissement.....	111
III) Hypothèses sur les causes de l'évolution de la mémoire	112
III.1) Maturation des capacités d'apprentissage.....	112
III.1.1) <i>Aversion gustative conditionnée</i>	112
III.1.2) <i>«Odeur-choc»</i>	112
III.2) Maturation du système nerveux entre le moment de l'acquisition et celui de la restitution.....	113
III.2.1) <i>Inversion de la mémoire : trace modifiée ?</i>	113
III.2.2) <i>Oubli : trace totalement effacée ?</i>	115
III.3) État de maturation du système nerveux au moment de l'encodage.....	117
III.3.1) <i>Modifications des mécanismes moléculaires</i>	117
III.3.2) <i>Modifications des structures cérébrales</i>	118
III.3.3) <i>Relation entre consolidation et rétention à long terme ?</i>	119
IV) Conclusions & Perspectives	122

BIBLIOGRAPHIE	123
----------------------------	-----

ANNEXES	165
----------------------	-----

Annexe 1 Effet de l'inhibiteur des MAPK (SL327) et de l'anisomycine (ANI) sur la synthèse protéique chez le raton de 3 jours post-natals.....	167
---	-----

Annexe 2 Évolution de la réponse spontanée pour une odeur aversive, la toluquinone..	169
--	-----

Annexe 3 Absence d'effet de la D-cyclosérine et de la Trichostatin A lors du conditionnement d'aversion gustative à P3 sur la rétention de la mémoire à P10 et P35...	171
---	-----

Annexe 4 (article 5) Pheromone-induced olfactory memory in newborn rabbits: Involvement of consolidation and reconsolidation processes.....	173
---	-----

Liste des principales abréviations

AMPC	adenosine monophosphate cyclique
ANI	anisomycine
BBB	barrière hémato-encéphalique (<i>blood brain barrier</i>)
BDNF	facteur neurotrophique dérivé du cerveau (<i>brain-derived neurotrophic factor</i>)
C/EBPβ	protéine liant l'amplificateur CCAAT (<i>CCAAT /enhancer binding protein</i>) beta
CRE	élément de réponse à l'AMPC (<i>cAMP-response element</i>)
CREB	protéine liant l'élément de réponse à l'AMPC (<i>cAMP-response element binding protein</i>)
CTA	aversion gustative conditionnée (<i>conditioned taste aversion</i>)
D-cyclo	D-cyclosérine
E...	jour embryonnaire...
ECS	choc électroconvulsif (<i>electro-convulsive shock</i>)
ERK	protéine kinase régulée par un signal extracellulaire (<i>extracellular signal-regulated kinases</i>)
icv	intra-cérébro-ventriculaire
ip	intra-péritonéal
JNK/SAPK	protéine kinase activant c-Jun après un stress (<i>c-Jun NH2-terminal kinases/stress-activated protein kinases</i>)
LiCl	chlorure de lithium (<i>lithium chloride</i>)
MAPK	protéine kinase activée par les mitogènes (<i>mitogen-activated protein kinases</i>)
MCT	mémoire à court terme
MEK	protéine kinase activant ERK (<i>mitogen-activated protein kinase/ ERK kinase</i>)
MLT	mémoire à long terme
NE	noradrénaline
NGFI-B	facteur de croissance neural (<i>nerve growth factor IB</i>)
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NPB	noyau parabrachial
NTS	noyau du tractus solitaire
P...	jour post-natal...
PKA	protéine kinase A
SC	stimulus conditionné
SI	stimulus inconditionné
SRE	élément de réponse au serum (<i>serum-response element</i>)
TSA	trichostatin A
2-DG	2-désoxy-glucose

Liste des illustrations

I) Dynamique de la mémoire

Figure 1	Modèle d'Atkinson & Shiffrin (1968).	p.20
Figure 2	Les formations de la mémoire à court terme et de la mémoire à long terme sont-elles des processus séquentiels ou parallèles?	p.21
Figure 3	Théorie de la double trace (Hebb, 1949).	p.24
Figure 4	Cascades moléculaires impliquées dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire.	p.28
Figure 5	Seconde réserve par rapport à la notion de consolidation : amnésie post-réactivation.	p.31
Figure 6	Modèles de stabilisation de la trace mnésique.	p.33
Figure 7	Accroissement bibliographique des travaux sur la reconsolidation.	p.34
Figure 8	Schéma de récupération des souvenirs par réactivation totale (1) ou partielle (2) de la mémoire.	p.36
Figure 9	Protocole et résultats pour l'étude de la reconsolidation et de l'extinction de la mémoire.	p.38
Figure 10	Conditions déterminant le devenir de la trace : reconsolidation ou extinction.	p.39
Tableau 1	Études montrant l'impact d'un inhibiteur de la synthèse protéique lors de la reconsolidation de la mémoire, pour diverses espèces et différents apprentissages.	p.41
Tableau 2	Molécules impliquées dans la consolidation et/ou la reconsolidation.	p.44
Tableau 3	Structures impliquées dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire en fonction de l'apprentissage.	p.45
Figure 11	Mécanisme d'action de l'anisomycine sur la synthèse protéique.	p.46
Figure 12	Modèles du substrat de la mémoire à long terme.	p.48
Tableau 4	Mise en évidence de deux vagues d'activation moléculaire suite à l'acquisition.	p.49

II) Mémoire du nouveau-né

Figure 13	Évolution générale des fonctions d'alimentation, de locomotion, de thermorégulation, et sensorielles au cours du développement post-natal.	p.52
Tableau 5	Apprentissages aversifs et appétitifs réalisables chez le nouveau-né de P0 à P12.	p.54
Figure 14	Paradigme du conditionnement « odeur-choc ».	p.55
Figure 15	Paradigme du conditionnement d'aversion gustative.	p.57
Figure 16	Évolution de l'apprentissage avec un long délai entre le SC (goût ou odeur) et le SI (malaise) en fonction de l'âge du conditionnement.	p.61
Figure 17	Circuits neuronaux principaux impliqués dans l'apprentissage « odeur-choc » et « goût-malaise » chez le rat adulte et/ou le jeune.	p.62
Figure 18	Développement du bulbe olfactif en fonction de l'âge.	p.63
Tableau 6	Activation du bulbe olfactif en fonction de l'âge et du conditionnement olfactif.	p.64
Tableau 7	Comparaison des caractéristiques physiologiques et cellulaires du locus coeruleus chez le raton.	p.66
Figure 19	Évolution du nombre total de neurones et de la densité neuronale dans l'amygdale basolatérale au cours du développement.	p.67
Tableau 8	Activation de l'amygdale et réponse comportementale en fonction de l'âge et du conditionnement olfactif.	p.69
Tableau 9	Molécules impliquées dans la consolidation de la mémoire chez le raton.	p.71
Figure 20	Développement des souvenirs de l'enfance évalués chez l'adulte	p.75
Figure 21	Influence du changement de taille sur l'amnésie infantile.	p.78
Tableau 10	Comparaison de la rétention de l'aversion gustative 25-28 jours et 60 jours après le conditionnement en fonction de l'âge de l'apprentissage.	p.83
Figure 22	Délai de rétention de l'aversion gustative conditionnée chez le raton en fonction de l'âge de l'apprentissage.	p.86

INTRODUCTION

La vie n'est pas un éternel recommencement, puisque tout être vivant est capable de se souvenir d'expériences passées afin de modifier son comportement. La mémoire est l'une des fonctions les plus importantes et l'une des propriétés les plus passionnantes du cerveau. Jusqu'au début du 20^{ème} siècle, cette fonction était considérée comme étant propre à l'individu adulte, puisque les nouveau-nés semblaient dépourvus de capacités mnésiques (James, 1890). Cependant, l'établissement de protocoles d'apprentissage réalisables chez le nouveau-né a permis de démentir cette idée : un organisme immature est capable d'acquérir des informations, de les stocker et de les retenir à plus ou moins long terme. Même si la mémoire apparaît très tôt au cours du développement (dès le stade fœtal), cela ne signifie pas que la mémoire précoce est totalement identique à la mémoire adulte.

Chez l'adulte, de nombreuses données ont montré que la formation de la mémoire n'est pas instantanée, mais qu'elle nécessite du temps pour être fixée; après un apprentissage, le souvenir est fragile puis il se consolide pour se stabiliser en mémoire à long terme (McGaugh, 1966, 2000). Cette hypothèse de la consolidation a été remise en question (Lewis, 1979; Nader et al., 2000; Sara, 2000) : une mémoire consolidée n'est pas fixée de manière irréversible. En effet, suite à un rappel, la trace mnésique est susceptible d'être à nouveau perturbée, et doit être reconsolidée pour être maintenue à long terme. Notre équipe a précédemment montré que la consolidation et la reconsolidation de la mémoire existent chez le raton dès 3 jours post-natals (Gruest et al., 2004b). Ces processus de stabilisation semblent être des caractéristiques innées de la mémoire, néanmoins on ne sait pas si la consolidation et la reconsolidation chez le nouveau-né requièrent les mêmes mécanismes moléculaires que ceux de l'adulte, et s'ils évoluent au cours de la croissance.

La mise en évidence d'une mémoire implique une restitution des informations préalablement consolidées. L'expression d'une mémoire nécessite non seulement qu'elle soit stockée, mais qu'elle soit retrouvable à long terme. Plusieurs études ont montré qu'une mémoire établie précocément ne persiste pas aussi longtemps qu'une mémoire chez l'adulte. Néanmoins, peu d'études se sont intéressées à l'évolution de la résistance à l'oubli en fonction de l'âge.

Pour situer le cadre de mon travail, j'aborderai deux points principaux dans mon introduction :

- la dynamique de la mémoire chez l'adulte : la consolidation et la reconsolidation, et les mécanismes moléculaires impliqués.
- la mémoire chez le nouveau-né : les apprentissages précoces, la stabilisation de la mémoire précoce et l'amnésie infantile.

I) Dynamique de la mémoire

I.1) Hypothèse de la consolidation

I.1.1) Trace instable & trace stable

L'hypothèse de la consolidation de la mémoire réfère à la stabilisation progressive après l'acquisition de l'information en mémoire à long terme. Il a été proposé qu'un nouveau souvenir nécessite du temps pour être stabilisé. La première référence à la consolidation de la mémoire est dans « De l'institution de l'orateur » de Quintilien, rhéteur latin du 1^{er} siècle (cité par Dudai, 2004). Il y écrit que « Les idées les plus fraîches ne sont pas celles qui se retiennent le mieux. Il est étonnant, ..., combien une nuit d'intervalle affermit ces mêmes idées » et il envisage la possibilité qu' « elles acquièrent un degré de maturité et de perfection ». Ce concept d'un processus de maturation dépendant du temps, après l'apprentissage, ne trouve des bases scientifiques qu'au 19^e siècle grâce à des études cliniques et expérimentales.

En 1882, Théodule Ribot étudie l'amnésie de patients ayant subi des traumatismes cérébraux. Les sujets présentent un oubli plus important pour les événements ayant eu lieu juste avant le traumatisme que pour des événements antérieurs. À partir de ces observations, Ribot énonce la « loi de régression » selon laquelle « la destruction descend progressivement de l'instable au stable » (Ribot, 1882), indiquant le caractère fragile des souvenirs les plus récents et réciproquement la plus grande robustesse des souvenirs les plus anciens.

Le terme « consolidation » fut introduit par Georg Müller et Alfons Pilzecker dans leur étude de 1900, reportant 40 expériences d'apprentissage verbal chez des sujets humains réalisés de 1892 à 1900. Dans ces expériences (reprenant un protocole d'Ebbinghaus), ils entraînent des sujets à mémoriser une liste de paires de syllabes sans signification. Lors du test de rétention, on leur présente une syllabe, et ils doivent se rappeler de la syllabe associée. Si quelques secondes après l'apprentissage, on distrait le sujet avec une autre liste de syllabes ou avec des images, leur performance est moindre, et plus l'intervalle est long entre les deux listes, moins les performances sont affectées (Müller & Pilzecker, 1900). Ceci montre que la seconde liste a interféré de manière dépendante du temps avec la formation de la mémoire de la première liste. À partir de là, ils proposent que l'apprentissage n'induit pas instantanément une mémoire permanente, mais que cette mémoire nécessite du temps pour être fixée (ou consolidée). En effet, la mémoire est vulnérable aux perturbations (interférence rétroactive) durant une fenêtre de temps immédiatement consécutive à l'acquisition. Müller et Pilzecker suggèrent que les processus déclenchés par un apprentissage se poursuivent après l'acquisition sous la forme d'une persévération de l'activité cérébrale, hypothèse qui sera reprise plus tard par Gerard (Gerard, 1949) et Hebb

(Hebb, 1949). La période de consolidation correspond au passage d'une mémoire instable à une mémoire stable. La consolidation est souvent définie comme la transformation d'une mémoire à court terme en mémoire à long terme.

I.1.2) Mémoire à court terme & mémoire à long terme

La distinction des mémoires en fonction de leur durée fut initiée par Herman Ebbinghaus dans son travail intitulé « über das Gedächtnis » (à propos de la mémoire) (Ebbinghaus, 1885). Il considère deux formes de mémoire: la première est transitoire et dure quelques minutes, et la seconde est plus stable et dure plusieurs jours. De plus, il propose que la répétition interne de l'information est nécessaire pour transformer la mémoire à court terme en mémoire à long terme.

La distinction entre les deux formes de mémoire est aussi formulée par Williams James en 1890. Il propose une distinction entre la mémoire primaire, résultat des stimulations externes lors de l'apprentissage (formée rapidement et de brève durée : quelques minutes à quelques heures) et la mémoire secondaire, mémoire « réelle » pouvant être stockée et rappelée (de durée illimitée: semaines, années) (James, 1890).

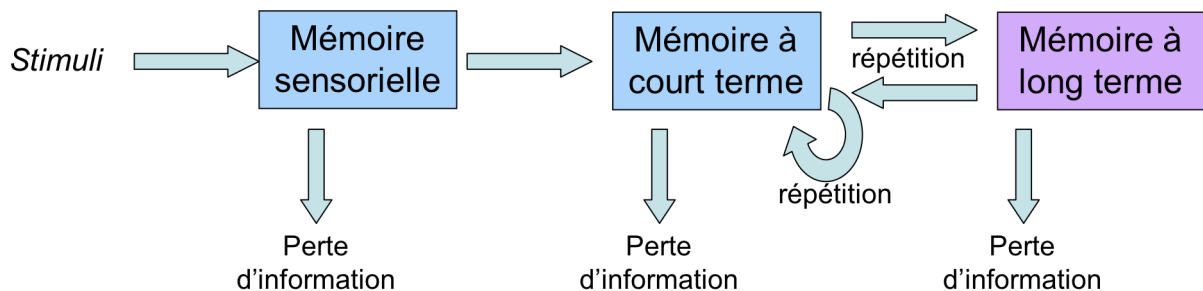
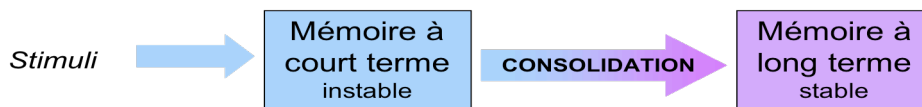


Figure 1 **Modèle d'Atkinson & Shiffrin (1968)**. La mémoire serait formée de 3 composantes: une mémoire sensorielle, une mémoire à court terme et une mémoire à long terme. La mémorisation à long terme dépend de la présence de la mémoire à court terme.

Cette notion de systèmes de mémoire multiples est reprise par Atkinson & Shiffrin qui formalisent un modèle général de la mémoire (**Fig 1**) (Atkinson & Shiffrin, 1968). Ils proposent d'organiser la mémoire en 3 modules de traitement. Dans un premier temps, l'organisme traite l'information provenant de l'environnement grâce aux différents registres sensoriels. L'information des différentes modalités sensorielles y est maintenue pendant un court laps de temps. Ces registres fournissent des informations à la seconde composante du modèle, la MCT. La capacité de la mémoire à court terme (MCT) est limitée, et la durée du stockage est brève. L'information stockée en MCT peut être transféré en mémoire à long terme (MLT). La MLT n'est pas censée avoir de limite en terme de temps ou de capacité.

Ce modèle présente la MCT et la MLT comme deux processus séquentiels, avec la MCT qui se transforme en MLT. Mais on peut également envisager, comme le suggère James McGaugh (McGaugh, 1966), deux processus parallèles : la MCT et la MLT sont initiées simultanément au moment de l'acquisition mais la MCT disparaît après une période donnée, laissant la MLT supporter la mémoire (**Fig 2**). Quelques études neuropsychologiques ont suggéré une distinction entre la MCT et la MLT qui repose sur l'observation d'une double dissociation : les deux mémoires existent indépendamment l'une de l'autre. Par exemple, les malades atteints du syndrome de Korsakoff ont une MCT intacte alors que la MLT est sévèrement perturbée. Par contre Shallice et Warrington rapportent la dissociation inverse chez le patient KF, à savoir une intégrité de la MLT et une perturbation de la MCT (Shallice & Warrington, 1970). Des études expérimentales sur la mémorisation dans différentes espèces animales semblent conforter et généraliser cette distinction entre la MCT et la MLT (revue: Sossin, 2008; Izquierdo et al., 2002; Mery et al., 2007; Sanderson et al., 2009). L'ensemble de ces travaux pose la question de l'articulation entre la MCT et la MLT : la MLT dépend-t-elle de la MCT (hypothèse séquentielle), ou bien ces deux étapes de mémoire sont-elles indépendantes (hypothèse parallèle)? Néanmoins, l'hypothèse séquentielle correspond à l'opinion dominante dans la littérature.

1) *Processus séquentiels*



2) *Processus parallèles*

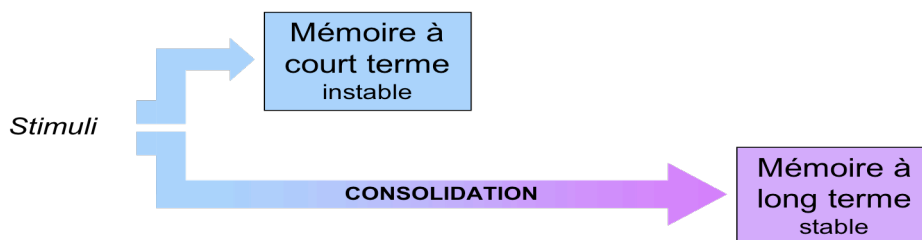


Figure 2 Les formations de la mémoire à court terme et de la mémoire à long terme sont-elles des processus séquentiels ou parallèles? Selon l'opinion dominante, ces deux processus sont séquentiels : la mémoire à court terme est transformée en mémoire à long terme. Mais on ne peut exclure qu'ils soient parallèles : la mémoire à court terme et la mémoire à long terme se forment en même temps et coexistent indépendamment l'une de l'autre.

I.1.3) Gradient temporel de fragilité de la trace

Les études de Ribot, ainsi que de nombreuses autres observations réalisées chez l'homme à la suite de traumatismes (Russel & Nathan, 1946) ou d'électrochocs (Zubin & Barrera, 1941), ont mis en évidence que l'altération de la phase de consolidation peut conduire à une perturbation du stockage à long terme. Ce qui suggère que la mémoire est initialement fragile et qu'elle se fortifie avec le temps, devenant ainsi de moins en moins vulnérable aux interférences.

Chez l'animal, on a tenté de reproduire l'amnésie rétrograde observée chez l'homme, afin de caractériser la phase de consolidation. En 1949, Carl Duncan montre qu'un choc électroconvulsif appliqué après l'apprentissage perturbe la mémoire chez le rat, et que la perturbation mnésique est corrélée à l'intervalle entre l'apprentissage et l'application du choc électroconvulsif (ECS) : une amnésie complète lorsque l'ECS est administré 20 secondes après l'acquisition, une amnésie partielle à 15 minutes et une rétention normale à 60 minutes. Il met ainsi en évidence un gradient temporel d'efficacité de l'agent amnésiant dans le cadre d'un apprentissage d'évitement actif d'une durée de l'ordre de l'heure (Duncan, 1949).

L'amnésie rétrograde a été généralisée par l'administration de traitements perturbant le fonctionnement cérébral délivrés juste après l'apprentissage, non seulement des électrochocs (Duncan, 1949; Gerard, 1949), mais aussi une hypoxie (Hayes, 1953; Thompson & Pryer, 1956), une hypothermie (Alpern & Kimble, 1967; Riccio et al., 1968b), l'administration d'anesthésiques (Leukel, 1957; Bloch et al., 1970), une stimulation électrique cérébrale (Bures & Buresova, 1963; Kesner & Doty, 1968), l'administration de tranquillisants (Doty & Doty, 1964) ou l'injection d'inhibiteurs de la synthèse protéique (Agranoff, 1968; Flexner & Flexner, 1968; Judge & Quartermain, 1982). L'ensemble de ces travaux montre que des traitements interférants administrés après l'apprentissage empêchent la formation de la mémoire à long terme. Les effets perturbateurs de ces agents amnésiants décroissent avec l'augmentation de l'intervalle temporel entre l'acquisition et le traitement. La MLT n'est pas affectée si le traitement intrusif est appliqué en dehors de cette « fenêtre » de vulnérabilité. Ceci est en accord avec l'hypothèse de la consolidation, qui considère qu'une mémoire a besoin d'un processus de stabilisation de la trace dépendant du temps juste après l'apprentissage.

Parallèlement, d'autres travaux ont montré que l'on peut faciliter les processus de rétention en appliquant certains traitements pendant cette période de labilité de la trace mnésique, comme l'administration de stimulations cérébrales légères (Bloch et al., 1966), de strychnine et de picrotoxine (McGaugh & Petrinovich, 1959; Bovet et al., 1963), d'hormones ou de neurotransmetteurs (revue : McGaugh, 1966). De manière générale, ces traitements facilitateurs agissent sur la consolidation de la mémoire en améliorant l'activité cérébrale.

L'ensemble de ces travaux a mis en évidence l'existence d'un gradient temporel d'efficacité de ces traitements modulateurs : plus le délai entre l'apprentissage et le traitement est court et plus le traitement est efficace (revue : McGaugh, 2000). Cependant, les données de ces études ne permettent pas de définir la durée de la période de consolidation. En effet, elles ont mis en évidence une grande variabilité de la durée de la labilité qui peut s'étendre de plusieurs secondes (Chorover & Schiller, 1966; McGaugh & Landfield, 1970) à quelques minutes (Duncan, 1949; Thompson & Pryer, 1956; Abt et al., 1961), voire des heures (Agranoff & Klinger, 1964; Davis & Squire, 1984; Rosenblum et al., 1993; Freeman et al., 1995; Shadmehr & Holcomb, 1997) en fonction du traitement utilisé. De plus, ces travaux ont mis en évidence que la durée de cette période varie considérablement pour un même traitement – selon son intensité et sa durée - (Ransmeier & Gerard, 1954; Thompson & Pryer, 1956; Alpern & McGaugh, 1968), mais également en fonction de l'espèce animale considérée, du type d'épreuve et de la force d'apprentissage (ex : Rabe & Gerard, 1959; Pearlman et al., 1961; Bovet et al., 1969). Ces variations ne sont pas en contradiction avec l'hypothèse de la consolidation, car toutes ces données confirment l'idée que la trace est modulable pendant une période immédiatement consécutive à l'acquisition.

I.1.4) Mécanisme de la consolidation : la réverbération

En 1949, à la lumière des données émergentes en physiologie nerveuse, Donald Hebb et Ralph Gerard suggèrent que l'activité neuronale existant lors de l'acquisition tend à produire une activation réverbérante dans les circuits neuronaux, qui induirait des changements durables de nature morphologique et/ou biochimique au niveau des synapses activées. Ces modifications dans la structure du réseau permettrait la formation d'une mémoire à long terme. Il s'agit d'une version plus explicite de l'hypothèse de la persévération de la trace proposée par Müller et Pilzecker.

Cette théorie de la double trace est basée sur des modèles postulant l'existence d'une plasticité neuronale responsable de changements d'efficacité synaptique. Hebb propose que deux neurones activés ensemble renforcent leur connexion de sorte que l'activation en sera plus facile à l'avenir (**Fig 3**). «Lorsqu'un axone A est suffisamment proche d'une cellule B pour l'exciter et participer, de manière répétée ou persistante, à sa décharge, un processus de croissance ou un changement métabolique prend place dans l'une ou l'autre cellule de sorte que l'efficacité de A, en tant qu'une des cellules susceptibles de provoquer la décharge de B, est augmentée» (Hebb, 1949). L'autre idée importante de Hebb est une sorte de généralisation des mécanismes d'association entre neurones. Des groupes de neurones qui tendent à être excités simultanément forment une « assemblée de cellules » dont l'activité peut persister à la suite du déclenchement d'un événement et peut servir à le

représenter. Une illustration expérimentale de « la synapse de Hebb » fut apportée par Tim Bliss et Terje LØmo (1973) qui mettent en évidence le phénomène de potentialisation à long terme : une brève stimulation électrique de haute fréquence des cellules pré-synaptiques entraîne une augmentation durable de l'amplitude de réponse post-synaptique.

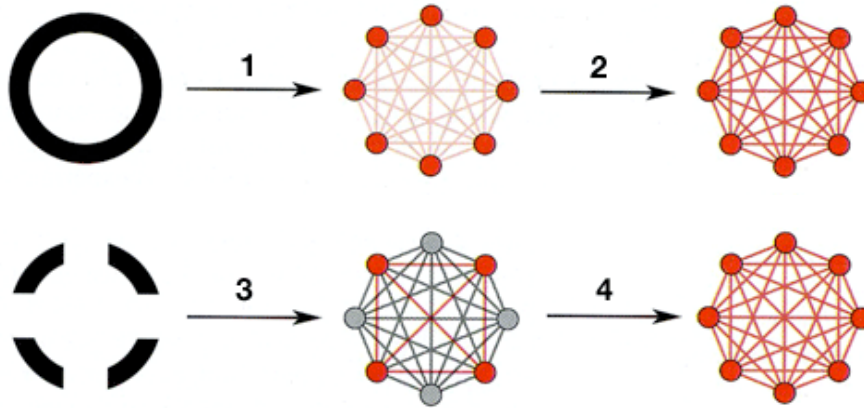


Figure 3 Théorie de la double trace (Hebb, 1949). Un stimulus (le cercle) forme une trace mnésique très brève qui provoque l'activation réverbérante de l'assemblée des neurones (1), ce qui a pour effet de renforcer leurs connexions pendant un court instant (2). Si l'activité est suffisante, ce renforcement se stabilisera de façon durable. Si ce renforcement est stabilisé, lorsqu'une seule partie du stimulus sera présentée, l'activation partielle (3) diffusera (4) et toute la trace sera révélée.

I.1.5) Mécanismes moléculaires de la consolidation

L'idée de Hebb marque un changement dans l'approche de l'étude de la consolidation de la mémoire pour étudier les événements biologiques sous-tendus par la consolidation. Par exemple, le postulat du changement structural (élargissement des contacts, mise en place de nouvelles ramifications ou augmentation du nombre de récepteurs) afin de renforcer des synapses, suggère l'implication de la synthèse de nouvelles protéines. Des données expérimentales ont renforcé cette idée en montrant la nécessité de la synthèse protéique dans la fixation de la mémoire. Dans les années 1960, Louis Flexner et ses collègues montrent en premier que l'administration d'inhibiteur de la synthèse protéique après l'apprentissage bloque la consolidation de la mémoire (MLT), mais n'affecte pas la mémoire à court terme (MCT) (Flexner et al., 1963; Agranoff & Klinger, 1964; Flexner et al., 1965; Barondes & Cohen, 1966; Flexner et al., 1967; revue : Davis & Squire, 1984). De plus, le besoin en synthèse protéique est limité dans le temps, durant et après l'apprentissage (Freeman et al., 1995; Bourtchouladze et al., 1998).

La nécessité de la synthèse protéique pour la MLT mais pas pour la MCT, et l'existence d'une fenêtre temporelle de consolidation durant laquelle la mémoire est sensible à la perturbation ont largement été démontrées et généralisées : des apprentissages simples aux complexes, de l'aversif à l'appétitif, et des invertébrés aux vertébrés (revue : Stork & Welzl, 1999). Cette généralité suggère que les mécanismes moléculaires impliqués dans la MLT ont été conservés au cours de l'évolution. Cette idée a suscité un grand nombre d'études portant sur les mécanismes cellulaires impliqués dans la mémorisation chez des espèces dont le système nerveux est relativement simple (Aplysie, Drosophile), en parallèle avec des études chez les mammifères.

Les études sur la plasticité synaptique associée à la sensibilisation chez l'Aplysie (par Eric Kandel dans les années 1970) et les analyses génétiques chez la Drosophile (par Seymour Benzer dans les années 1990) ont permis d'identifier des molécules et de nombreux gènes impliqués dans la mémorisation. Chez les mammifères, les études neuropharmacologiques, d'abord systémiques puis ciblant des aires cérébrales particulières, ont commencé à mettre en évidence des candidats moléculaires pour la machinerie cellulaire qui sous-tend la stabilisation de la mémoire (Dudai & Morris, 2000; McGaugh, 2000; Davis & Laroche, 2006). Aujourd'hui, il est admis que la première partie de la consolidation (durant des minutes à des heures après l'acquisition) dépend de cascades moléculaires entraînant des changements des propriétés des neurones.

Suite à l'activation de récepteurs ionotropiques et métabotropiques (ex : glutamatergiques), les cascades intracellulaires induites par l'apprentissage entrent en jeu. Ces cascades de signalisation intracellulaire incluent l'activation de seconds messagers, de protéines kinases, de facteurs de transcription, et des vagues de synthèse d'ARNs et de protéines. Certaines de ces protéines produisent des changements structurels et fonctionnels dans les neurones et les synapses.

Le détail des cascades intervenant dans la consolidation de la mémoire est présenté sur la **figure 4**, d'après Impey et al., 1999, Hebert et al., 2005, et Miller & Sweatt, 2006:

Le second messenger classiquement étudié pour son implication dans la consolidation de la mémoire est l'AMPc, adénosine monophosphate cyclique, produit par l'adénylate cyclase. L'AMPc va permettre d'activer des protéines kinases, enzymes modifiant des protéines et régulant leur fonction en catalysant l'addition d'un groupe phosphorylé (phosphorylation). L'activation d'un certain nombre de protéines kinases (PKA, PKC, CaMKII) induit l'activation de la cascade des MAP kinases (Mitogen-Activated Protein Kinases) incluant notamment les protéines kinases ERK (Extracellular signal-Regulated Kinases) qui induisent des changements transitoires et persistants de signaux à la surface cellulaire et des modifications de la transcription (Luscher et al., 1999; Winder et al., 1999). La cascade classique des MAPK comprend trois protéines kinases (Seger & Krebs, 1995).

La première kinase de ce module est une sérine/ thréonine kinase (Raf) capable de phosphoryler et d'activer la kinase suivante (MEK : Mitogen-activated protein kinase/ ERK kinase). MEK a la capacité de reconnaître et de phosphoryler le motif (thréonine X Tyrosine) situé dans la boucle d'activation de la MAPK (ERK : Extracellular signal-Regulated Kinase). ERK est une sérine/thréonine kinase qui agit sur des substrats divers : des facteurs de transcription, des protéines cytosoliques incluant d'autres kinases et des protéines associées au cytosquelette. Les kinases régulent l'expression de gènes par l'activation de facteurs de transcription, tels que Elk-1 ou CREB (cAMP response element binding protein). Ces cibles transcriptionnelles sont hyperphosphorylées et se lient respectivement à la séquence SRE (serum-response element) et à la séquence CRE (cAMP-response element) située dans la région promotrice de gènes d'expression précoce, tels *c-fos*, *c-jun*, *zif268*. L'activation rapide et transitoire de ces gènes précoces, qui agissent comme des commutateurs moléculaires, se traduit par la synthèse de facteurs de transcription nucléaires (ex : Fos et Jun) qui modifient l'expression (via une région régulatrice AP-1) d'autres gènes appelés gènes tardifs. Ces gènes cibles ou tardifs commandent la synthèse de protéines effectrices assurant la stabilisation des changements synaptiques et la formation de nouveaux contacts synaptiques: protéines de structure pour la construction ou le maintien des synapses, des enzymes cytoplasmiques, mais également des récepteurs membranaires, de nouvelles kinases et certains facteurs de croissance. Outre l'expression génique, les MAPK ont de nombreuses cibles, comme des molécules d'adhésion cellulaire (CAMs), des éléments du cytosquelette (MAP-2 et Tau), des canaux ioniques (canal potassique Kv4.2), et des protéines associées à la machinerie ribosomale (mTOR).

Il a été montré que toutes les étapes citées ci-dessus sont impliquées dans la formation de la mémoire à long terme, pour différentes tâches d'apprentissages et dans diverses espèces (**Tableau 2**). Plus récemment, de nombreux laboratoires ont découvert l'importance des modulations épigénétiques dans la formation de la mémoire: changement de méthylation de l'ADN, et altération structurale de la chromatine par phosphorylation, acétylation ou méthylation des histones (Alarcon et al., 2004; Korzus et al., 2004; Levenson et al., 2004; Wood et al., 2005) (Levenson et al., 2006). Ces modifications des histones sont issues de l'activation de la cascade des MAPK (Swank & Sweatt, 2001; Levenson et al., 2004; Chwang et al., 2006; Chwang et al., 2007).

La cascade des MAPK semble être une étape clé pour la consolidation de la mémoire, d'une part en engendrant la synthèse de nouvelles protéines, et d'autre part en modulant l'expression génique via les modifications épigénétiques.

I.1.6) Consolidation à très long terme (systémique)

La consolidation telle que nous l'avons envisagée jusqu'à présent se caractérise par des modifications au sein du neurone ; dans la littérature, elle est nommée consolidation cellulaire (ou synaptique). Cette consolidation cellulaire est accomplie dans les premières minutes/heures après l'acquisition, elle prend place dans des modules locaux du circuit neuronal qui encode la mémoire. Or il existe une autre forme de consolidation : la consolidation systémique qui correspond à la réorganisation au cours du temps des circuits cérébraux ou de systèmes qui supportent la mémoire. Elle commencerait également juste après l'apprentissage, mais à la différence de la consolidation cellulaire, la consolidation systémique demande quelques semaines/mois, ou même des années. Sur de longues durées, la trace peut impliquer de nouvelles aires du cerveau en étant moins dépendante de la partie du circuit qui concernait l'acquisition. Dans le cas de mémoires dépendantes de l'hippocampe, la consolidation systémique implique un dialogue entre l'hippocampe et les aires corticales (Squire & Alvarez, 1995; Dudai, 2004). Par exemple, lors d'une tâche de discrimination spatiale, Bruno Bontempi et ses collègues ont montré un engagement de l'hippocampe 5 jours après l'apprentissage, puis du cortex préfrontal médian après 21 jours (Bontempi et al., 1999). La réorganisation au niveau des structures cérébrales lors de la consolidation systémique implique également un remodelage des connectivités synaptiques, donc une consolidation cellulaire. Nous utiliserons le terme de consolidation en tant que processus de stabilisation de la trace au niveau des synapses par des événements cellulaires et moléculaires.

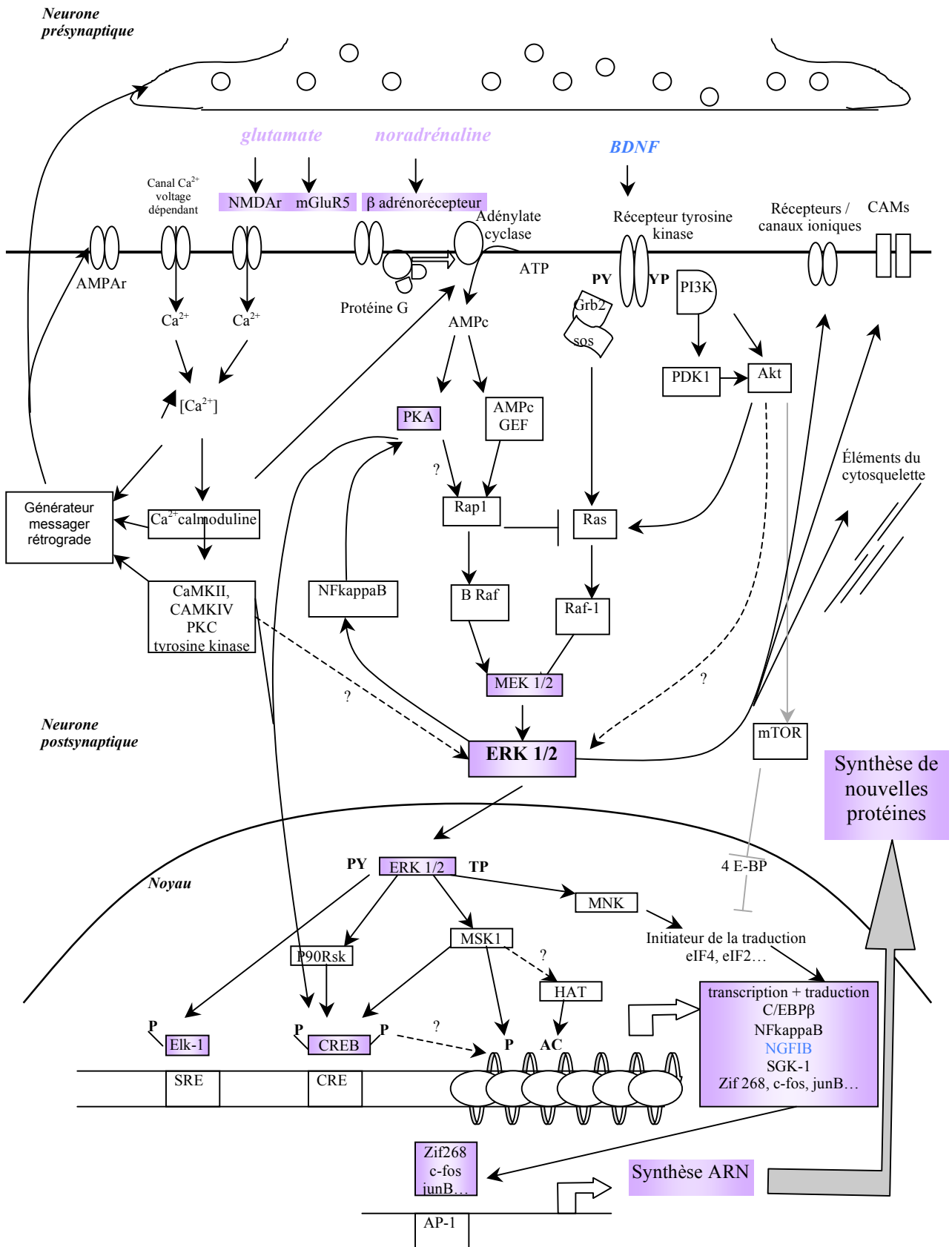


Figure 4 Cascades moléculaires impliquées dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire. Des études ont montré que les molécules présentes dans ce schéma sont impliquées dans la consolidation de la mémoire. De plus, les molécules encadrées en violet sont requises pour la consolidation et la reconsolidation de la mémoire, et les molécules en bleu semblent impliquées dans la consolidation mais pas dans la reconsolidation (voir tableau 2).

I.2) Réserves sur l'hypothèse de la consolidation

L'hypothèse de la consolidation au sens strict propose que les agents amnésiants empêchent le stockage de l'information en mémoire à long terme, ainsi l'information est définitivement perdue. De plus, cette hypothèse considère que la consolidation ne se produit qu'une seule fois, au moment de l'acquisition. Dès les années 1970, ces deux points ont soulevé des controverses.

I.2.1) Récupération après amnésie

En effet, l'amnésie rétrograde, induite par divers agents perturbateurs, peut être réversible; la récupération d'un souvenir peut être spontanée, ou suite à des traitements pharmacologiques ou après une présentation d'un indice de rappel.

Les observations chez l'homme et chez l'animal ont montré que le retrait spontané de l'amnésie n'est pas rare. Chez l'animal, un certain nombre d'auteurs estime que la mémoire peut être spontanément récupérée suite à une amnésie induite par des chocs électroconvulsifs (Cooper & Koppenaal, 1964; Miller & Springer, 1972) ou des inhibiteurs de la synthèse protéique (Quartermain et al., 1970; Squire & Barondes, 1972). Cette récupération spontanée indique que durant l'amnésie, le souvenir existe mais qu'il est inaccessible. D'autres études ont montré que les souvenirs pouvaient être récupérés avec des injections avant le test de rétention de drogues stimulantes: amphétamine (Quartermain et al., 1988), strychnine (Gordon & Spear, 1973; Sara & Remacle, 1977), piracetam (Sara & David-Remacle, 1974), d'inhibiteurs des monoamines oxydases : pargyline (Botwinick & Quartermain, 1974), et d'hormones adrénocorticotropiques (Rigter et al., 1976).

Le souvenir peut aussi redevenir accessible grâce à des indices de rappel présentés avant le test de rétention. Les indices de rappel sont des éléments qui sont associés à l'apprentissage, mais qui à eux seuls ne permettent pas un apprentissage. Warrington & Weiskrantz rapportent que des patients amnésiques peuvent se souvenir de listes de mots si on leur donne des indices (mots fragmentés) au moment de la restitution (Warrington & Weiskrantz, 1970). Chez l'animal, l'amnésie rétrograde produite par des agents amnésiants peut être annulée par une ré-exposition au contexte (Quartermain et al., 1970; Sara, 1973; Sara & David-Remacle, 1974), au stimulus conditionné (SC) seul (Quartermain et al., 1970; Devietti & Hopfer, 1974), au stimulus inconditionné (SI) (Misanin et al., 1968; Quartermain et al., 1970; Miller & Springer, 1972) ou même à des agents amnésiants (Thompson & Neely, 1970; Hinderliter et al., 1975; Bradley & Galal, 1988).

La récupération (spontanée, pharmacologique, ou par un indice de rappel) suggère que les agents amnésiants n'empêchent pas la formation de la mémoire à long terme mais qu'ils bloquent son rappel (Lewis, 1969). En d'autres termes, les déficits mnésiques (amnésie expérimentale ou oubli) ne correspondent pas à un déficit de stockage à long terme, mais plus à un défaut de rappel (Spear, 1971). Les données sur la dépendance à

l'état semblent en accord avec l'hypothèse du déficit de rappel : la récupération mnésique s'effectuerait lorsque l'individu est dans le même état physiologique et émotionnel que lors de l'apprentissage (Thompson & Neely, 1970; McGaugh, 1983; Izquierdo, 1984; revues : Miller & Matzel, 2000; Millin et al., 2001; Riccio et al., 2006). Ce rappel dépendant de l'état a été démontré pharmacologiquement : des animaux entraînés et testés sous amphétamines ou barbituriques présentent une meilleure rétention que ceux recevant la drogue lors de l'acquisition, mais pas lors du test (Overton, 1974). Cette interprétation a été reprise dans des situations d'apprentissage aversif : un déficit de rétention suite à une amnésie expérimentale ou un oubli peut être compensé par l'administration d'hormones de stress: hormone adrenocorticotrophique (ACTH) (Mactutus et al., 1980), opioïdes (Izquierdo, 1984), adrénaline (Izquierdo & McGaugh, 1987) et vasopressin (Sara & Deweer, 1982; de Almeida & Izquierdo, 1984). L'état induit par la drogue servirait d'indice de rappel, ce qui pourrait expliquer la récupération mnésique par des agents pharmacologiques. D'autre part, la dépendance à l'état ne semble pas généralisable à toutes les drogues, puisque l'administration avant le test de rétention de l'agent amnésiant, utilisé pour bloquer la consolidation, n'entraîne pas systématiquement une récupération du souvenir (Xu & Davis, 1992; Schulz et al., 2002; Lee et al., 2004; Sevelinges et al., 2009a).

L'interprétation en terme de déficit de rappel a été combattue par les tenants de l'hypothèse de la consolidation (au sens strict). Ils proposent que les agents amnésiants agissent bien sur la consolidation, mais qu'ils la bloquent partiellement, laissant ainsi une partie du souvenir intacte qui sera complétée lors de la présentation de l'indice de rappel servant comme un complément d'apprentissage (Cherkin, 1972). Ce serait donc bien le stockage de l'information et non son rappel qui aurait été altéré par l'agent amnésiant. Dans une étude récente, l'équipe de Karim Nader soutient ce point de vue. Leur paradigme est basé sur le fait que les récepteurs NMDA sont requis dans l'hippocampe lorsque la peur conditionnée au contexte est apprise pour la première fois, mais pas pour la seconde fois (Sanders & Fanselow, 2003). Nader et ses collègues montrent qu'après la perturbation d'une première mémoire par l'anisomycine (inhibiteur de la synthèse protéique), l'administration d'un antagoniste des récepteurs NMDA (AP5) bloque le second apprentissage de peur au contexte (Hardt et al., 2009). Le second apprentissage semble se réaliser comme s'il n'y avait pas eu de premier apprentissage. Ce résultat suggère que l'anisomycine induit une amnésie en perturbant la consolidation et non le rappel de la mémoire; car dans le cas d'un déficit de rappel, l'antagoniste AP5 n'aurait pas dû bloquer le second apprentissage chez les animaux amnésiques,

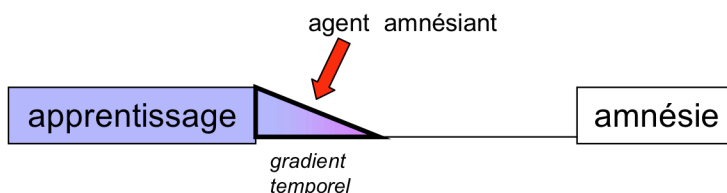
En conclusion, cette question sur les déficits de stockage ou de rappel de l'amnésie a été récemment discutée dans un numéro spécial sur l'amnésie du journal *Learning & Memory* (Miller & Sweatt, 2006; Miller & Matzel, 2006; Nader & Wang, 2006; Riccio et al.,

2006; Squire, 2006). Ce sujet, qui est débattu depuis 40 ans, reste irrésolu ; mais peut-il être résolu ? En effet, l'absence de récupération du souvenir ne signifie pas que la trace est totalement effacée ; il peut être objecté que les conditions de récupération ne sont pas optimales.

1.2.2) Amnésie dépendante d'une réactivation

La présentation d'indices de rappel permet de compenser des déficits mnésiques de différents types, mais elle permet également de rendre la trace à nouveau labile. L'hypothèse de la consolidation stipule que ce processus est un événement unique immédiatement consécutif à l'apprentissage et une fois que la mémoire est consolidée, la trace mnésique est présumée stable (McGaugh, 1966). Cette idée que la trace n'est labile que dans la période post-apprentissage a été contestée à partir de données expérimentales montrant que la labilité de la trace peut être rétablie, dans certaines conditions. En effet, une amnésie rétrograde peut être obtenue pour un souvenir qui est réactivé juste avant le traitement amnésiant (**Fig 5**). La durée entre la dernière activation et le traitement amnésiant (et non entre l'apprentissage et le traitement amnésiant) semble être un facteur déterminant pour perturber la mémoire. Ainsi, un agent amnésiant peut redevenir efficace, bien au-delà de son gradient temporel d'efficacité.

Notion de consolidation: processus unique post-acquisition



Amnésie dépendante de la réactivation

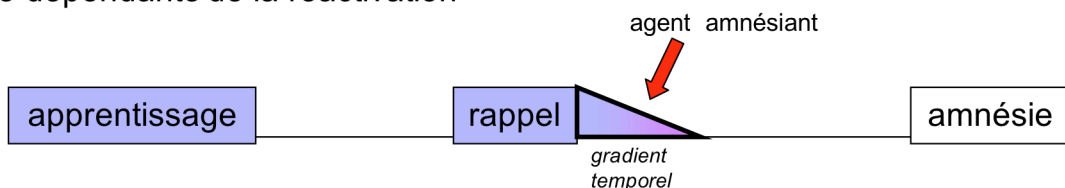


Figure 5 Seconde réserve par rapport à la notion de consolidation : amnésie post-réactivation

Le débat sur la consolidation de la mémoire a été initié par l'équipe de Donald Lewis à la fin des années 1960. Misanin et ses collègues montrent que la mémoire de peur conditionnée bien consolidée peut redevenir vulnérable aux perturbations par des chocs électroconvulsifs (ECS) chez le rat. Cette perturbation est observable 24 heures après le

conditionnement d'évitement passif lorsque la mémoire est « réactivée » peu de temps avant les ECS en présentant le SC (son) utilisé lors de l'apprentissage (Misanin et al., 1968).

De même, Schneider & Sherman rapportent, dans la même tâche, que les rats deviennent amnésiques si l'ECS est administré immédiatement après la présentation du SI même s'il est donné 6 heures après l'apprentissage, délai où la mémoire est normalement résistante à l'ECS (Schneider & Sherman, 1968).

D'autres expériences sont venues confirmer ce phénomène dans d'autres tâches (Lewis et al., 1972), avec d'autres agents amnésiants (Davis & Klinger, 1969; Mactutus et al., 1979; Judge & Quartermain, 1982; Richardson et al., 1982) et chez d'autres espèces (Davis & Klinger, 1969). Dans toutes ces études, les contrôles montrent que l'effet amnésiant observé est spécifique à la présence de l'indice de rappel (à la « réactivation »), puisque l'administration de l'agent amnésiant n'a pas d'effet perturbateur s'il n'est pas précédé de l'indice de rappel. Notons qu'ici, l'agent amnésiant seul ne semble pas susciter un rappel susceptible d'entraîner une perturbation de la mémoire. De plus, certains chercheurs ont montré que l'effet amnésiant est d'autant plus faible qu'il a été donné plus tardivement après la réactivation, mettant ainsi en évidence un gradient temporel d'efficacité de l'agent amnésiant post-réactivation (DeVietti & Kirkpatrick, 1976; Judge & Quartermain, 1982). Outre sa sensibilité à des agents perturbateurs, la mémoire réactivée est sensible à des agents facilitateurs pendant une fenêtre de temps limitée (Devietti et al., 1977; Gordon, 1977).

Lewis introduit le terme d'amnésie dépendante de l'indice de rappel (contexte, SC ou SI). Son interprétation est que l'indice ramène le souvenir à un état actif qui le rend sensible à l'agent amnésiant, comme il est juste après l'acquisition (Lewis, 1979). Il fait la distinction entre une mémoire active (durant et immédiatement après l'apprentissage original et lorsque le souvenir est rappelé) et une mémoire inactive. La trace active (réactivée) peut être perturbée, mais également facilitée, et la trace à l'état inactif est insensible aux agents modulateurs. Après la réactivation, la trace active devra être consolidée de nouveau pour repasser dans un état stable, inactif, c'est la reconsolidation, proposition développée pour la première fois à la fin des années 1990 (Przybylski & Sara, 1997; Sara, 2000).

I.3) Hypothèse de la reconsolidation

I.3.1) Naissance de la reconsolidation

L'idée qu'une trace consolidée puisse redevenir sensible à des agents amnésiants est apparue, il y a environ 40 ans (Misanin et al., 1968; Schneider & Sherman, 1968). Cependant, ce phénomène est resté occulté par l'hypothèse dominante dans la littérature qui était que la consolidation se produisait immédiatement après l'acquisition et n'avait lieu qu'une fois. En 2000, Susan Sara réalise une revue de questions sur ce sujet, suggérant que l'hypothèse de la reconsolidation ne doit pas être négligée (Sara, 2000). Quasiment au même moment, Nader et ses collègues retrouvent des résultats similaires à ceux de Judge et Quartermain (Judge & Quartermain, 1982) mais en réalisant des injections locales d'anisomycine (inhibiteur de la synthèse protéique) dans l'amygdale basolatérale. Ils montrent que l'injection d'anisomycine après la présentation d'un indice de rappel produit une amnésie de la mémoire de peur conditionnée réalisée 1 ou 14 jours auparavant. L'administration d'anisomycine sans rappel de la mémoire laisse la mémoire intacte ; ainsi, la mémoire doit être réactivée pour que l'anisomycine ait un effet amnésiant. De plus, l'injection de l'inhibiteur de la synthèse protéique 6 heures après le rappel laisse la mémoire intacte ; il semble donc que la mémoire de peur redevient temporairement labile après son rappel. Enfin ils montrent que l'anisomycine perturbe la mémoire à long terme mais pas la mémoire à court terme post-réactivation. Ces résultats (Nader et al., 2000) relancent l'idée qu'une mémoire bien consolidée peut retourner à un état labile lorsqu'elle est réactivée.

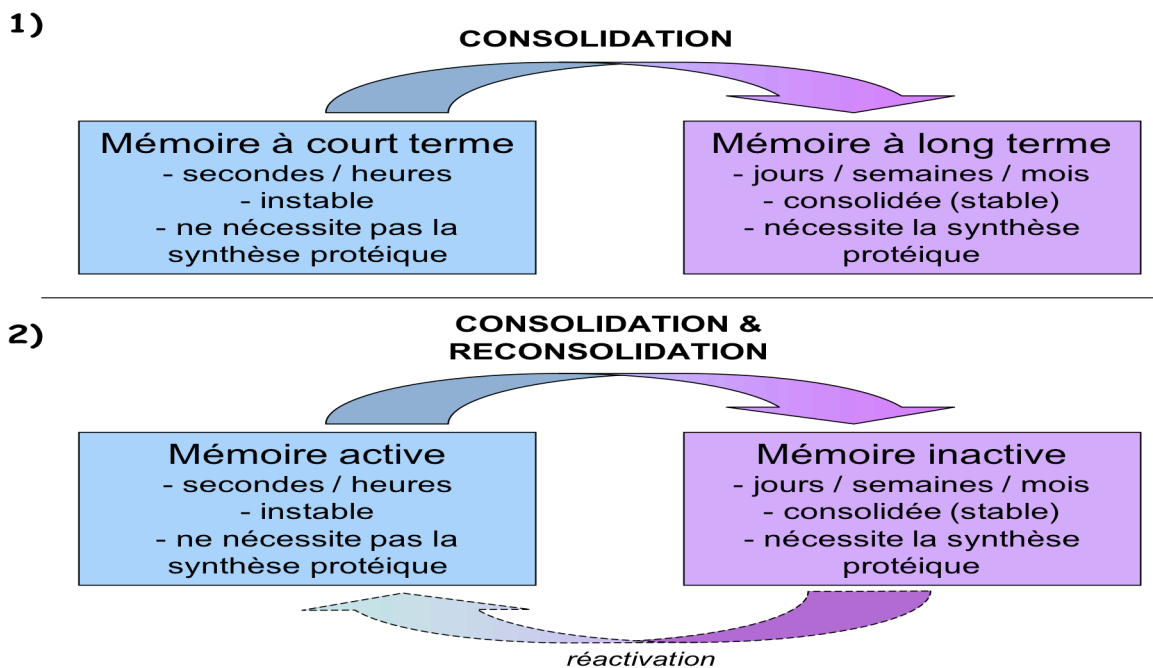


Figure 6 Modèles de stabilisation de la trace mnésique 1) Théorie classique de la consolidation et 2) modèle de Lewis (repris de Nader 2003)

Nader propose alors qu'une mémoire rappelée retourne dans un état actif qui nécessite la synthèse de nouvelles protéines pour retourner dans un état inactif et stable (**Fig 6**) (Nader, 2003).

C'est à partir de ces résultats que de nombreux travaux se sont intéressés à la reconsolidation de la mémoire (Dudai & Eisenberg, 2004; Alberini et al., 2006; Dudai, 2006; Sara & Hars, 2006; Tronson & Taylor, 2007). Les données accumulées depuis ces dernières années (environ 200 articles) (**Fig 7**) ont confirmé le phénomène de labilité post-réactivation pour une grande variété d'apprentissages et d'espèces. De récentes études ont décrit ce processus chez l'Homme (Walker et al., 2003; Forcato et al., 2007; Hubbach et al., 2007). Même si les interprétations sur l'hypothèse de la reconsolidation restent discutées, ces études ont permis d'identifier les conditions de la reconsolidation, d'étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués, et d'entrevoir d'éventuelles applications thérapeutiques.

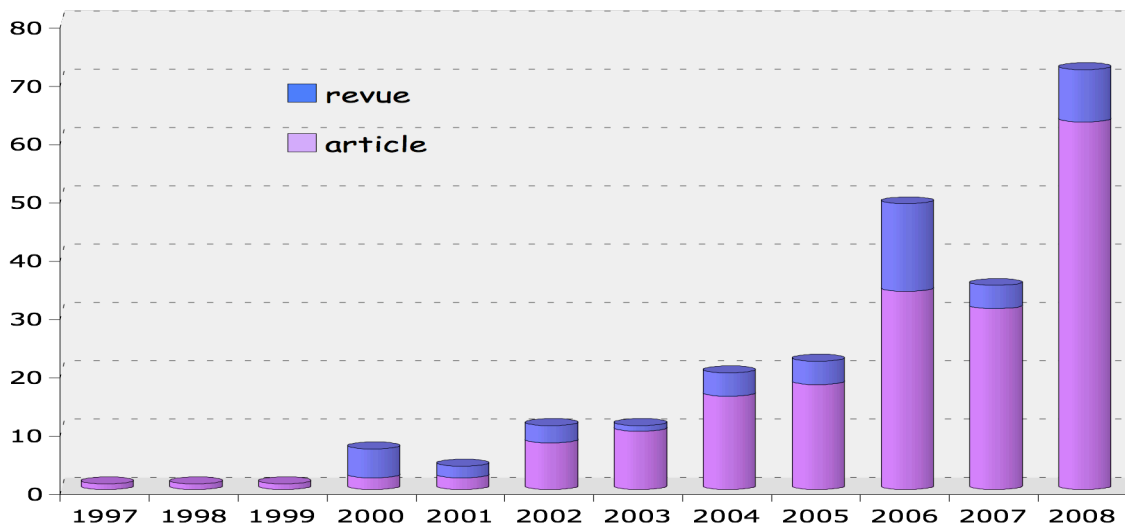


Figure 7 Accroissement bibliographique des travaux sur la reconsolidation

1.3.2) Mémoire réactivée totalement ou partiellement ?

L'hypothèse de la reconsolidation propose que la réactivation rend la trace originale labile, mais deux interprétations restent débattues : est-ce que la labilité concerne la trace originale en totalité, ou bien seulement en partie ?

L'observation de récupération des souvenirs après une amnésie rétrograde induite post-réactivation semble aller à l'encontre d'une perturbation totale de la trace originelle. La plupart des études montrant une récupération de l'amnésie post-réactivation utilisent de l'anisomycine injecté après réactivation, que ce soit chez le rat (Power et al., 2006), la souris (Judge & Quartermain, 1982; Lattal & Abel, 2004), le poussin (Litvin & Anokhin, 2000;

Anokhin et al., 2002; Salinska et al., 2004), ou le poisson (Eisenberg & Dudai, 2004). Cependant d'autres études ont montré une amnésie persistante pendant plusieurs semaines après l'administration post-réactivation d'un agent amnésiant, dont l'anisomycine (Nader et al., 2000; Debiec & Ledoux, 2004; Duvarci & Nader, 2004; Boccia et al., 2005; Miller & Marshall, 2005; Milekic et al., 2006; Valjent et al., 2006a; Solntseva et al., 2007). Des résultats contradictoires ont donc été obtenus en utilisant le même agent amnésiant.

Il est à noter qu'aucune des études où il y a récupération n'a évalué le degré d'inhibition de la synthèse protéique par l'anisomycine ; or une inhibition partielle de la synthèse protéique durant la consolidation ou la reconsolidation engendre une amnésie temporaire (Milekic et al., 2006). De plus Solntseva et ses collègues ont mis en évidence une corrélation entre le degré d'inhibition et la durée de l'amnésie (Solntseva et al., 2007). Ainsi, la récupération des souvenirs (dans certaines conditions) pourrait être due à la présence d'une partie de la trace échappant à l'agent amnésiant.

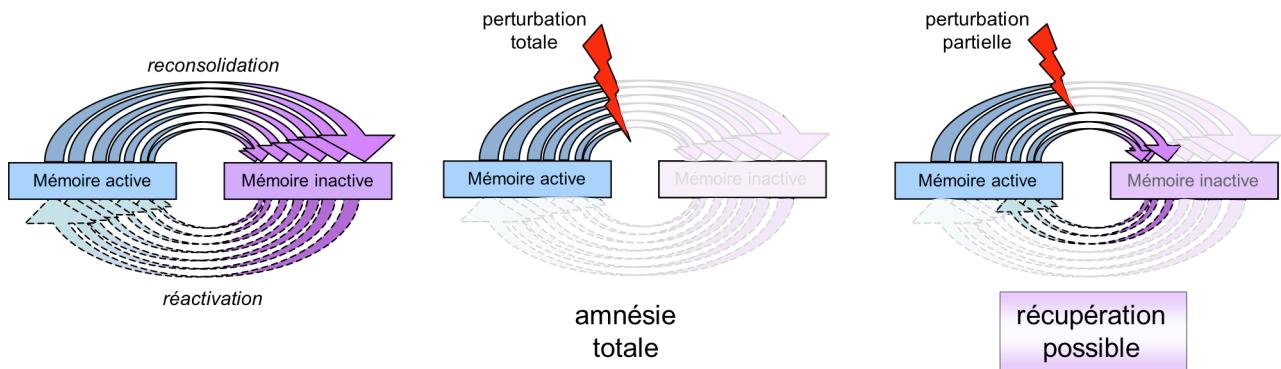
Ces données montrent que la récupération de la mémoire suite à une amnésie post-réactivation peut s'expliquer soit par une réactivation partielle de la trace, soit par une efficacité partielle de l'agent amnésiant (dose insuffisante de l'inhibiteur de la synthèse protéique) (**Fig 8**).

Récemment, un argument en faveur d'une réactivation partielle semble être apparu : une étude utilisant un conditionnement de peur de second ordre (son1+choc puis son2+son1) indique que seules les associations directement réactivées (son2 réactive le second conditionnement), mais pas celles indirectement réactivées (son2 ne réactive pas le premier conditionnement) sont reconsolidées dans l'amygdale (Debiec et al., 2006). Ainsi, il semble que seule une partie de la trace peut être modifiée, alors que la trace originelle reste intacte. Dans ce cas, l'indice de rappel utilisé ne concerne qu'une composante de la trace (le second apprentissage), et non une trace entière.

La question d'une réactivation partielle ou totale de la trace reste donc posée. Il serait intéressant de voir si une récupération spontanée peut être observé avec des inhibiteurs de cascades moléculaires dont on contrôle couramment le degré d'inhibition, comme le proposent Miller et Sweatt (Miller & Sweatt, 2006).

La récupération mnésique après amnésie post-réactivation peut également être interprétée comme un défaut de rappel, comme pour la récupération post-acquisition (cf chapitre 1.2.1. *Récupération après amnésie*). Ce défaut de rappel est parfois justifié par la dépendance à l'état post-réactivation, comme post-acquisition (Millin et al., 2001; Riccio et al., 2006). Lorsqu'on administre un agent amnésiant après une réactivation, la mémoire réactivée serait liée au nouveau contexte interne et ainsi la trace mnésique ne pourrait pas être rappelée lorsqu'on teste la rétention en l'absence de ce traitement.

1) Réactivation totale



2) Réactivation partielle

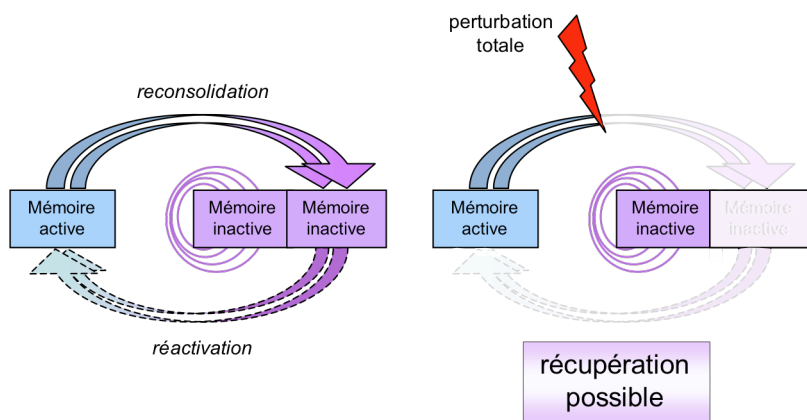


Figure 8 Schéma de récupération des souvenirs par réactivation totale (1) ou partielle (2) de la mémoire. 1) L'agent amnésiant ne bloque qu'une partie de la trace, ce qui en subsiste suffira pour permettre une récupération du souvenir. 2) La mémoire non réactivée permettra la récupération lors d'un test ultérieur.

1.3.3) Conditions d'une reconsolidation

Malgré la généralisation du processus de reconsolidation, l'administration d'agent amnésiant post-réactivation ne semble pas systématiquement perturber la mémoire (Dawson & McGaugh, 1969; Gold & King, 1972; Squire et al., 1976; Biedenkapp & Rudy, 2004; Cammarota et al., 2004; Hernandez & Kelley, 2004; Blaiss & Janak, 2007). L'absence de démonstration de la reconsolidation peut être liée à :

- l'agent amnésiant ; soit parce que la dose est trop faible, soit parce que la cible moléculaire de l'agent amnésiant n'est pas impliquée dans ce processus, ou bien parce que la structure ciblée n'est pas requise (lors d'injections locales) (voir **tableau 3**).

- l'inefficacité de l'indice de rappel ; soit parce que la présentation est trop courte donc insuffisante pour réactiver la trace (Suzuki et al., 2004), soit parce que l'indice n'est pas ou plus pertinent. En ce qui concerne la pertinence de l'indice de rappel, des études chez le rat

et l'Homme ont montré que la reconsolidation peut ne pas être induite en présentant le SC seul : le SC doit être présenté dans l'environnement de l'apprentissage (ex : DeVietti & Holliday, 1972; Hupbach et al., 2008). De plus, l'efficacité d'un indice peut évoluer avec la maturité du souvenir. Pascale Gisquet-Verrier et ses collègues ont étudié l'effet de plusieurs indices de rappel (lumière, choc, contexte expérimental) sur la rétention à différents délais d'une tâche d'évitement de discrimination lumineuse. Ils montrent que le stimulus discriminatif (la lumière) est efficace à 1 heure mais plus dès 3 jours, alors que le contexte expérimental qui n'était pas efficace à 3 jours le devient à 21 jours (Gisquet-Verrier et al., 1989).

- La discordance entre ce que l'animal attend et ce qui arrive. Maria Pedreira et al. ont étudié l'effet d'un inhibiteur de la synthèse protéique après réactivation d'une mémoire de peur au contexte (association entre un contexte et un stimulus visuel de danger; 15 essais) chez le crabe. Lors du rappel, la moitié des animaux est remise dans le contexte d'apprentissage et reçoit le SI (1 essai), tandis que l'autre moitié est juste exposée au contexte (SC). L'agent amnésiant perturbe la mémoire de peur lorsqu'il est administré après la présentation du contexte seul, mais pas après la présentation SC-SI (Pedreira et al., 2004). Ces résultats suggèrent que la reconsolidation est induite lorsqu'on présente un indice mais pas tous les stimuli présents lors de l'apprentissage. Si le renforcement attendu est présenté après le SC, alors le processus de reconsolidation n'aurait pas lieu. Cette observation semble être généralisable : dans une autre tâche, la reconsolidation n'apparaît que si la situation de rappel diffère quelque peu de celle de l'acquisition (Winters et al., 2009). Le processus de reconsolidation ne semble donc se produire que lorsque de nouvelles informations sont présentes lors du rappel.

L'efficacité du SC pour induire une réactivation n'est cependant pas sans ambiguïté. En effet, dans une expérience typique de réactivation, le stimulus conditionné (SC) est présenté sans le renforcement. Opérationnellement, ceci constitue un essai d'extinction : nouvel apprentissage durant lequel l'animal commence à apprendre que le stimulus inconditionné ne suit plus le SC. L'extinction entraîne une atténuation, et non une augmentation de la réponse (**Fig 9**). Ainsi, lorsqu'on perturbe le processus d'extinction, on empêche l'atténuation de la mémoire. L'administration d'agent perturbateur suite à un rappel peut entraîner soit une amnésie (perturbation de la reconsolidation), soit un maintien de la mémoire (perturbation de l'extinction) (Berman & Dudai, 2001; Vianna et al., 2001). Il semble donc y avoir une compétition entre ces deux processus. Or il a été montré que ces deux processus ne dépendent ni des mêmes circuits neuronaux (Bahar et al., 2004; Mamiya et al., 2009) ni des mêmes mécanismes moléculaires (Suzuki et al., 2004; Tronson et al., 2006), et qu'ils sont exclusifs l'un de l'autre.

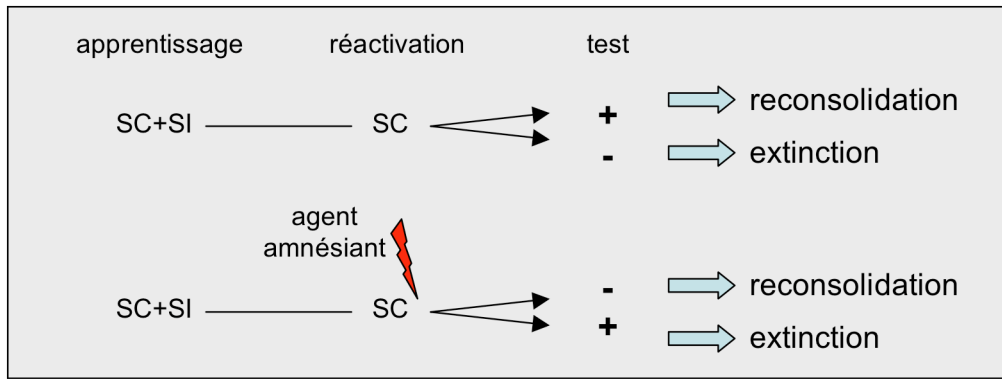


Figure 9 Protocole et résultats pour l'étude de la reconsolidation et de l'extinction de la mémoire. (+ : expression de la mémoire originelle, - : perturbation de la mémoire)

Les conditions qui semblent être déterminantes pour le devenir de la trace sont les suivantes (**Fig 10**):

- La durée et la répétition de l'épisode de rappel (Pedreira & Maldonado, 2003; Suzuki et al., 2004). Par exemple, dans le conditionnement de peur au contexte, l'administration d'anisomycine lors d'une brève présentation au contexte (3min) perturbe l'expression de la peur conditionnée, tandis que l'injection d'anisomycine après une présentation prolongée (30min) augmente les performances lors du test de rétention (Suzuki et al., 2004). Une brève présentation du SC semble donc aboutir à une reconsolidation de la mémoire, alors qu'une présentation prolongée conduit à une extinction de la trace mnésique.

- La force et l'âge de la trace. L'équipe de Yadin Dudai a montré que l'anisomycine administrée après le rappel (SC) d'une aversion gustative conditionnée perturbe la mémoire (blocage de la reconsolidation) lorsque la trace provient d'un apprentissage en deux essais (fort souvenir). À l'inverse, lorsque la mémoire est issue d'un apprentissage en un seul essai (faible souvenir), l'injection d'anisomycine post-rappel entraîne une résistance à l'extinction (Eisenberg et al., 2003). Il semble donc que la réactivation d'un souvenir fort entraînera une reconsolidation, alors qu'une extinction résultera de la réactivation d'un souvenir faible. Outre la force de la trace, plusieurs travaux ont montré que l'âge de la trace était déterminant pour observer une reconsolidation (Litvin & Anokhin, 2000; Milekic & Alberini, 2002; Eisenberg & Dudai, 2004; Suzuki et al., 2004; Tronel et al., 2005; Boccia et al., 2006; Frankland et al., 2006). Par exemple, Maria Milekic et Cristina Alberini ont étudié l'effet de l'anisomycine après un rappel réalisé à différents délais post-acquisition. Elles montrent que la mémoire est perturbée lorsque le traitement (rappel + anisomycine) est fait 7 jours après l'apprentissage, mais pas 14 jours plus tard (Milekic & Alberini, 2002), indiquant qu'une mémoire plus ancienne est moins sensible à la perturbation post-réactivation. Étant donné que la mémoire semble de plus en plus stable au fil des jours, il est proposé que le phénomène de reconsolidation reflète un état fragile de la mémoire qui n'a pas été

totallement consolidé, malgré la phase initiale dépendante de la synthèse protéique. La reconsolidation correspondrait alors au prolongement de la consolidation de la mémoire (Dudai & Eisenberg, 2004; Alberini et al., 2006).

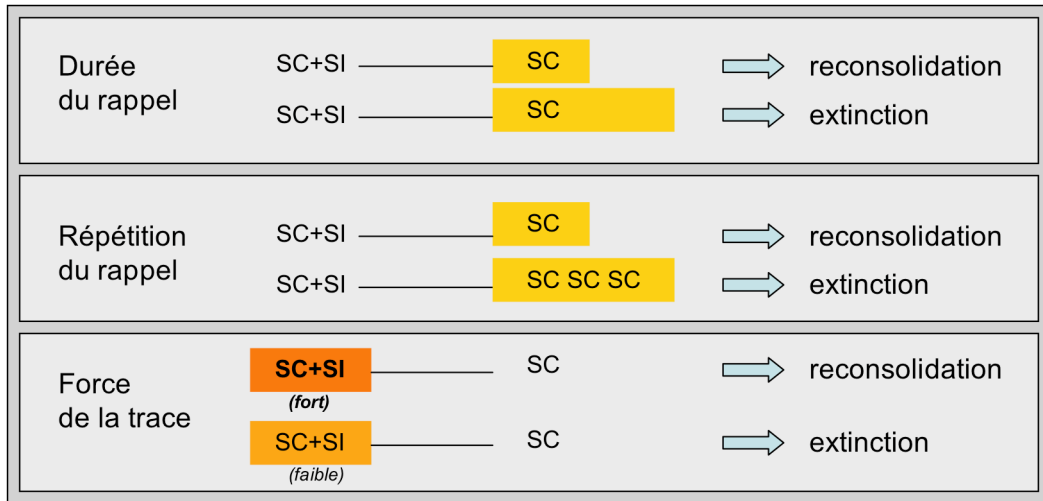


Figure 10 Conditions déterminant le devenir de la trace : reconsolidation ou extinction.

Néanmoins, comme le soulignent Nader et Hardt (Nader & Hardt, 2009), ces données sur les conditions de la reconsolidation restent controversées puisque d'autres études n'ont pu montrer les mêmes limites de la reconsolidation: une trace ancienne peut être reconsolidée (Nader et al., 2000; Debiec et al., 2002; Lee et al., 2005; Diergaarde et al., 2006; Wang et al., 2009), la répétition des essais de rappel peut engager un processus de reconsolidation (Stollhoff et al., 2005) et la présence de tous les éléments de l'apprentissage peut entraîner une réactivation (Pedreira et al., 2002; Bozon et al., 2003a; Sangha et al., 2003; Valjent et al., 2006b).

Même si le rappel de la mémoire n'aboutit pas toujours à un processus de reconsolidation, il semble néanmoins que ce phénomène soit généralisable; reste à trouver les conditions optimales permettant une reconsolidation de la mémoire (Dudai, 2006; Nader & Wang, 2006; Sara & Hars, 2006; Tronson & Taylor, 2007).

I.3.4) Comparaison consolidation/reconsolidation

La consolidation et la reconsolidation sont deux processus de stabilisation de la mémoire, mis en évidence par une sensibilité de la trace à des agents modulateurs (perturbateurs ou facilitateurs) post-acquisition et post-réactivation. Dans les deux cas, les agents amnésiants affectent la mémoire à long terme, mais pas la mémoire à court terme (Nader et al., 2000; Anokhin et al., 2002; Debiec et al., 2002; Kida et al., 2002; Pedreira et al., 2002; Lee et al., 2004). De plus, l'agent perturbateur présente un gradient temporel d'efficacité post-acquisition et post-réactivation : plus le délai entre l'essai et l'administration de l'agent amnésiant est long, moins il a d'effet (Milekic & Alberini, 2002; Eisenberg & Dudai, 2004; Suzuki et al., 2004; Boccia et al., 2006; Frankland et al., 2006).

Par ces points communs, la consolidation et la reconsolidation sont similaires. Mais comme indiqué ci-dessous, ils ne semblent pas identiques, notamment par leurs caractéristiques temporelles et par leurs supports moléculaires et structurels.

I.3.4.1) Temporalité

Les agents modulateurs agissant sur la consolidation et la reconsolidation présentent un gradient temporel d'efficacité, mais ce gradient ne semble pas identique post-acquisition et post-réactivation. Le gradient induit par un agent facilitateur (Gordon, 1977) ou par un agent amnésiant (Judge & Quartermain, 1982; Anokhin et al., 2002; Salinska et al., 2004) est plus court post-réactivation que post-acquisition. Ces résultats indiquent que la durée des procédés est plus courte après la réactivation qu'après l'acquisition. La reconsolidation apparaît donc plus rapide que la consolidation, ce qui serait en accord avec l'idée que les modifications structurales réalisées lors de la consolidation ne sont pas totalement répliquées lors de la reconsolidation.

I.3.4.2) Mécanismes moléculaires et structures cérébrales

Les agents amnésiants les plus utilisés sont les inhibiteurs de la synthèse protéique, comme l'anisomycine (cf chapitre *I.4.1. Inhibiteurs de la synthèse protéique*). Les effets perturbateurs post-acquisition et post-réactivation de ces inhibiteurs ont fortement suggéré que la synthèse de nouvelles protéines est requise pour la consolidation et la reconsolidation de la mémoire, pour différents types d'apprentissages et diverses espèces (**Tableau 1**). L'implication de la synthèse de nouvelles protéines dans les deux cas suggère que la consolidation et la reconsolidation ont des mécanismes communs, mais sont-ils identiques ?

Synthèse protéique & reconsolidation

Espèces	Apprentissages	Références
Rat	Peur au son	Judge & Quartermain, 1982; Nader et al., 2000
	Peur au contexte	Debiec et al., 2002
	Peur de trace	Runyan & Dash, 2005
	Évitement passif	Milekic & Alberini, 2002; Taubenfeld et al., 2001
	Aversion gustative	Eisenberg et al., 2003; Flint & Marino, 2007
	Spatial	Flint et al., 2007; Rodriguez-Ortiz et al., 2008; Rossato et al., 2006
	Reconnaissance d'objets	Akirav & Maroun, 2006; Rossato et al., 2007
	Préférence de place	Bernardi et al., 2007; Milekic et al., 2006
Raton	Aversion gustative	Gruest et al., 2004
Souris	Peur au contexte	Fischer et al., 2004; Lattal & Abel, 2004; Suzuki et al., 2004
	Réflexe palpébral	Inda et al., 2005
	Spatial	Artinian et al., 2007; Artinian et al., 2008; Suzuki et al., 2004
Brebis	Reconnaissance sociale	Perrin et al., 2007
Poussin	Évitement passif	Anokhin et al., 2002; Litvin & Anokhin, 2000
Poisson	Peur au contexte	Eisenberg et al., 2003
Drosophile	Aversion olfactive	Lagasse et al., 2009
Abeille	Odeur renforcée	Stollhoff et al., 2008, 2005
Crabe	Peur au contexte	Pedreira & Maldonado, 2003; Pedreira et al., 2002
Escargot	Peur au contexte	Gainutdinova et al., 2005
	Aversion alimentaire	Solntseva et al., 2007
Lymnée	Inhibition respiratoire	Sangha et al., 2003
	Odeur-sucrose	Kemenes et al., 2006
Hermisenda	Peur à la lumière	Child et al., 2003

Tableau 1. Études montrant l'impact d'un inhibiteur de la synthèse protéique lors de la reconsolidation de la mémoire, pour diverses espèces et différents apprentissages.

La synthèse de nouvelles protéines lors de la reconsolidation se fait-elle à partir des ARNm pré-existants, ou bien nécessite-t-elle la synthèse de nouveaux ARNm via l'activation de cascades moléculaires? Plusieurs études ont montré l'implication de facteurs de transcription : CREB (Hall et al., 2001a; Kida et al., 2002), C/EBP β (Milekic et al., 2007), ELK1 (Miller & Marshall, 2005), JunB (Strekalova et al., 2003), c-Fos (Hall et al., 2001a; Tronel & Sara, 2002), Zif268 (Hall et al., 2001b; Bozon et al., 2003b), ainsi que des protéines kinases agissant en amont : PKA (Koh & Bernstein, 2003; Kemenes et al., 2006; Tronson et al., 2006) et MAPK (Kelly et al., 2003; Kelleher et al., 2004; Duvarci et al., 2005; Valjent et al., 2006a). Ces résultats supportent l'idée que la reconsolidation requière la transcription génique, et que les cascades moléculaires impliquées dans la consolidation sont réactivées (au moins en partie) lors de la reconsolidation.

Des études sur les mécanismes moléculaires et sur les structures cérébrales impliqués dans la consolidation et la reconsolidation ont permis de comparer plus en détail ces deux processus (revues : Dudai & Eisenberg, 2004; Alberini et al., 2006; Tronson &

Taylor, 2007). Quelques différences laissent penser que la reconsolidation n'est pas complètement identique à la consolidation :

- Sur les 45 études sur les mécanismes moléculaires de la reconsolidation, seulement 6 d'entre elles ont révélé une différence entre la consolidation et la reconsolidation au niveau moléculaire (**Tableau 2**). Parmi celles-ci, 3 ont montré que certaines molécules sont impliquées dans la reconsolidation mais pas dans la consolidation de la mémoire de peur conditionnée (Debiec & Ledoux, 2004; Lee et al., 2004; Brown et al., 2009). Cependant ces mêmes molécules semblent être impliquées dans la consolidation et la reconsolidation d'autres mémoires. Les 3 autres études indiquant une différence entre la consolidation et la reconsolidation suggèrent que des mécanismes moléculaires sont spécifiques à la consolidation (Lee et al., 2004; von Herten & Giese, 2005; Colon-Cesario et al., 2006). Jonathan Lee et ses collègues ont montré une double dissociation : le facteur neurotrophique BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) est impliqué dans la consolidation mais pas dans la reconsolidation d'une peur conditionnée, alors que zif268 est requis pour la reconsolidation mais pas pour la consolidation de cette mémoire (Lee et al., 2004). Deux autres études ont montré une différence dans les mécanismes moléculaires : contrairement à la consolidation, la reconsolidation ne nécessite pas l'activation de facteur de croissance neuronale NGFI-B (Nerve Growth factor IB) (von Herten & Giese, 2005) et de recombinaison d'ADN (Colon-Cesario et al., 2006). L'ensemble de ces données ne montre que de maigres différences entre la consolidation et la reconsolidation au niveau des mécanismes moléculaires. Néanmoins, toutes les molécules identifiées comme étant impliquées dans la consolidation n'ont pas été étudiées pour la reconsolidation.

- En ce qui concerne les structures impliquées, il y a autant d'études montrant des différences (14/27 études) que des similitudes (13/27 études) entre la consolidation et la reconsolidation (**Tableau 3**). L'implication des mêmes structures post-acquisition et post-réactivation semble dépendre des paradigmes d'apprentissages utilisés (Taubenfeld et al., 2001; Vianna et al., 2001; Tronel & Sara, 2002; Bahar et al., 2004; Salinska et al., 2004). Une double dissociation est suggérée par deux études complémentaires sur la mémoire d'évitement passif: le facteur de transcription C/EBP β (CCAAT/enhancer binding protein, beta) de l'hippocampe est impliqué dans la consolidation mais pas dans la reconsolidation (Taubenfeld et al., 2001), alors que C/EBP β de l'amygdale est requis pour la reconsolidation mais pas pour la consolidation (Tronel et al., 2005).

Ces différences entre consolidation et reconsolidation peuvent s'expliquer par le fait que :

- les protocoles utilisés pour les étudier sont différents : le renforcement est présent lors de la consolidation, mais absent lors de la reconsolidation. Il est donc probable que les conséquences physiologiques de ces deux situations soient différentes, et par suite que les processus cellulaires impliqués ne soient pas identiques (Nader, 2003).

- Introduction -

- la plasticité synaptique pourrait être réduite lors de la reconsolidation, car de nombreuses modifications structurales et fonctionnelles ont déjà été faites lors de la consolidation. La reconsolidation consisterait, non pas à créer une nouvelle trace, mais à renforcer, prolonger ou à modifier une trace mnésique afin de l'adapter à de nouvelles informations (Lewis, 1979; Sara, 2000; Frenkel et al., 2005; Rodriguez-Ortiz et al., 2005; Morris et al., 2006; Tronson et al., 2006; Hupbach et al., 2007; Lukowiak et al., 2007; Tronson & Taylor, 2007).

- Introduction -

Molécules	Apprentissages	CONSOLIDATION	RECONSOLIDATION	Références
récepteur NMDA	Peur au contexte		O	Suzuki et al., 2004
	Peur au son		O	Lee et al., 2006
	Évitement (Poussin)	O (Rickard et al., 1994)	O	Summers et al., 1997
	Évitement (Crabe)	O (Troncoso & Maldonado, 2002)	O	Pedreira et al., 2002
	Spatial - labyrinthe radial		O	Przybyslawski & Sara, 1997
	Reconnaissance d'objets	O	O	Akirav & Maroun, 2006
	Odeur renforcée	O (Tronel & Sara, 2003)	O	Torras-Garcia et al., 2005
	Instrumental		O	Lee & Everitt, 2008
récepteur mGluR5	Évitement (Poussin)	O	O	Salinska, 2006
récepteur βadrénergique	Peur au son	N O (Roosendaal et al., 2006)	O	Debiec & Ledoux, 2004
	Évitement	O (Roosendaal et al., 1999)	O	Przybyslawski et al., 1999
	Spatial - labyrinthe radial	O (Cahill et al., 2000)	O	Roulet & Sara, 1998
	Instrumental		O	Diergaarde et al., 2006; Milton et al., 2008
CDK5	Évitement (Poussin)	O	O	Sherry & Crowe, 2008
BDNF	Peur au contexte	O	N	Lee et al., 2004
PKA	Aversion gustative	O (Koh et al., 2002)	O	Koh & Bernstein, 2003
	Peur au son	O (Schafe et al., 1999)	O	Tronson et al., 2006
	Appétitif (Lymnée)		O	Kemenes et al., 2006
ERK1/ERK2	Peur au son	O (Schafe et al., 1999)	O	Duvarci et al., 2005
	Reconnaissance d'objets	O	O	Kelly et al., 2003
	Préférence de place morphine/cocaine	O (Valjent et al., 2000)	O	Miller & Marshall, 2005; Valjent et al., 2006
ERK2	Peur au son	O (Sato et al., 2007)	O	Cestari et al., 2006
Elk 1	Préférence de place cocaïne		O	Miller & Marshall, 2005
C/EBP beta	Évitement	O	N	Taubenfeld et al., 2001
		N	O	Tronel et al., 2005
CREB (transgénique et activation)	Peur au contexte	O	O	Kida et al., 2002
	Peur au son	O (Impey et al., 1998)	O	Hall et al., 2001b
	Préférence de place cocaïne		O	Miller & Marshall, 2005
NFkappaB	Évitement	O (Freudenthal et al., 2005)	O	Boccia et al., 2007
	Évitement (Crabe)	O (Merlo et al., 2002)	O	Merlo et al., 2005
Zif268 (transgénique et activation)	Peur au contexte		O	Hall et al., 2001a
		N	O	Lee et al., 2004
	Peur au son		O	Hall et al., 2001a
c-fos (activation)	Reconnaissance d'objets	O	O	Bozon et al., 2003
	Peur au contexte	O (Stanciu et al., 2001)	O	Strelakova et al., 2003
	Peur au son		O	Hall et al., 2001b
NGFI-B	Odeur renforcée	O	O	Tronel & Sara, 2002
		O	N	von Herten & Giese, 2005
		O	O	von Herten & Giese, 2005
SGK-3	Peur au contexte	O	O	Blundell et al., 2008
mTOR	Peur au contexte	O	O	Brown et al., 2009
Matrice métalloprotéinase	Peur au son	N	O	Brown et al., 2007
	Préférence de place cocaïne	O	O	Brown et al., 2007
Recombinaison ADN	Peur au contexte	O	N	Colon-Cesario et al., 2006
Synthèse ARN	Peur au son	O	N	Parsons et al., 2006
	Peur au son	O	O	Duvarci et al., 2008
	Peur (Hermisenda)	O	O	Child et al., 2003
	Inhibition de la respiration (Lymnée)	O	O	Sangha et al., 2003
	Spatial - piscine Morris	O	O	Da Silva et al., 2008
Dégradation protéique	Spatial - piscine Morris	O	O	Artinian et al., 2008
Synthèse protéique	Différents apprentissages & diverses espèces	O	O	Voir tableau 1

Tableau 2 Molécules impliquées dans la consolidation et/ou la reconsolidation. Les molécules surlignées semblent être impliquées dans la consolidation, mais pas dans la reconsolidation.

- Introduction -

Apprentissages	Structures (et mécanismes ciblés)	CONSOLIDATION	RECONSOLIDATION	Références
Aversion gustative	Cortex insulaire (synthèse protéique)	O	O	Eisenberg et al., 2003
	Cortex insulaire (stimulation électrique intracrânienne)	O	O	Stehberg et al., 2009
	Amygdale (PKA)	O	O	Koh & Bernstein, 2003
	Amygdale (CREB)	O	N	Lamprecht et al., 1997
	Amygdale (synthèse protéique)	O	N	Bahar et al., 2004
Peur contexte	Hippocampe (synthèse protéique)	O	O	Debiec et al., 2002
	Hippocampe (BDNF)	O	N	Lee et al., 2004
	Hippocampe (zif268)	N	O	
Peur son	Amygdale (récepteur NMDA)		O	Lee et al., 2006
	Amygdale (récepteur noradrénergique)	N O (Rooszendaal et al., 2006)	O	Debiec & Ledoux, 2004
	Amygdale (PKA)	O (Schafe et al., 2000)	O	Tronson et al., 2006
	Amygdale (MAPK)	O (Schafe et al., 2000)	O	Duvarci et al., 2005
	Amygdale (CREB, c-fos)		O	Hall et al., 2001
	Amygdale (synthèse ARNs)	O	O	Duvarci et al., 2008
		O	N	Parsons et al., 2006
Amygdale (synthèse protéique)	O	O	Nader et al., 2000	
Evitement	Amygdale (C/EBPbeta)	N	O	Tronel et al., 2005
	Hippocampe (NFkappaB)	O (Freudenthal et al., 2005)	O	Boccia et al., 2007
	Hippocampe (C/EBPbeta, synthèse protéique)	O	N	Taubenfeld et al., 2001
	Hippocampe (synthèse protéique)	O	N	Vianna et al., 2001
Evitement passif (Poussin)	IMHV gauche (c-fos, 2-[(14)C]-déoxyglucose)	O	N	Salinska et al., 2004
	LPO bilatéral (c-fos, 2-[(14)C]-déoxyglucose)	N	O	
Inhibition de la respiration (Lymnée)	Soma du ganglion pédal dorsal droit 1	O	O	Sangha et al., 2003
Discrimination du son (Gerbille)	Cortex auditif (synthèse protéique)	O	N	Kraus et al., 2002
Reconnaissance d'objets	Hippocampe - Gyrus denté (MAPK)	O	N	Kelly et al., 2003
	Hippocampe - CA1 (MAPK)	N	O	
	Cortex entorhinal (MAPK)	O	O	
	Cortex entorhinal (synthèse protéique)	O	N	Lima et al., 2009
	Cortex préfrontal ventromédian (récepteur NMDA)	O	O	Akirav & Maroun, 2006
	Cortex préfrontal ventromédian (MAPK)	O	O	Maroun & Akirav, 2009
	Cortex préfrontal ventromédian (synthèse protéique)	O	O	Akirav & Maroun, 2006
Odeur renforcée	Cortex frontal, amygdale basolatéral (c-fos)	O	N	Tronel & Sara, 2002
	Habenula latéral (c-fos)	N	O	
Préférence de place - morphine	Amygdale (synthèse protéique)	O	N	Yim et al., 2006

Tableau 3 Structures impliquées dans la consolidation et la reconsolidation de la mémoire en fonction de l'apprentissage

I.4) Mémoire et synthèse protéique

I.4.1) Inhibiteurs de la synthèse protéique

I.4.1.1) *Exemple de l'anisomycine*

L'utilisation de l'anisomycine, inhibiteur de la synthèse protéique, dans la recherche sur la mémoire a commencé dans les années 1960. L'anisomycine ($C_{14}H_{19}NO_4$, PM = 265.3) est un antibiotique, isolé à partir de nombreuses espèces de *Streptomyces*. Cette ribotoxine se lie à la sous-unité ribosomale 60S et inhibe la liaison de l'aminocyl-ARNt au site accepteur du centre de transfert peptidique, empêchant la formation de liaisons entre les peptides et donc la synthèse de nouvelles protéines (**Fig 11**) (Pestka, 1971; Vasquez, 1979).

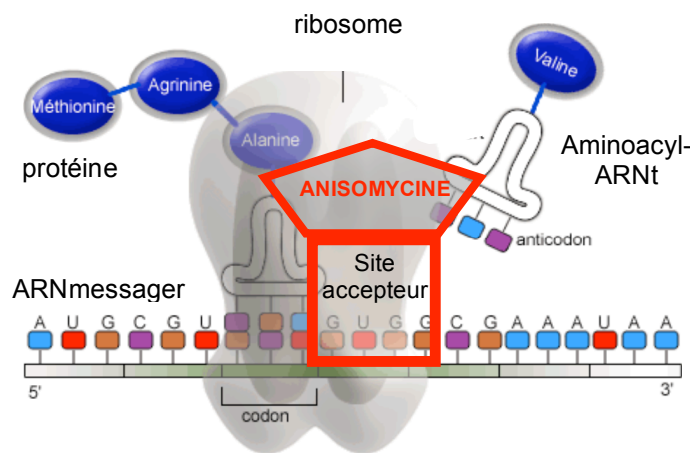


Figure 11 Mécanisme d'action de l'anisomycine sur la synthèse protéique

I.4.1.2) *Effet amnésiant par d'autres mécanismes d'action*

L'implication de la synthèse protéique dans la mémorisation est une histoire à rebondissement. Les inhibiteurs de la synthèse protéique ont joué un rôle primordial pour les théories de la consolidation et de la reconsolidation ; ils ont largement participé à la mise en évidence de la labilité de la trace mnésique après l'acquisition, comme après la réactivation. De plus, l'effet amnésiant des inhibiteurs de la synthèse protéique suggère que la stabilisation de la trace nécessite la synthèse de nouvelles protéines. En 1984, une revue de la littérature est réalisée par Hasker Davis et Larry Squire et propose que la synthèse protéique est requise pour la mémorisation (Davis & Squire, 1984). Depuis, la majorité des études s'est centrée sur ce dogme général et a étudié les mécanismes de la stabilisation de la mémoire. En 2008, le journal *Neurobiology of Learning and Memory* a fait un numéro spécial sur le rôle de la synthèse protéique dans la mémoire où est relaté les effets collatéraux des inhibiteurs de la synthèse protéique.

Les critiques faites par rapport aux inhibiteurs, dont l'anisomycine, sont de deux types :

- effets non spécifiques sur le comportement. L'injection d'anisomycine rendrait les animaux malades : diarrhée, diminution de la prise de nourriture et de boisson (Squire & Barondes, 1974; Davis et al., 1980; Hernandez & Kelley, 2004), et diminution de l'activité locomotrice durant les premières heures (Squire & Barondes, 1974). Ces symptômes de malaise n'apparaissent que plusieurs heures après le traitement, ainsi il est peu probable que le malaise interfère avec l'apprentissage. De plus, lorsque l'anisomycine est administrée longtemps après l'apprentissage ou juste avant le test de rétention, l'expression de la mémoire n'est pas perturbée. Il semble donc que l'effet amnésiant de l'anisomycine administrée lors de l'acquisition ne soit pas dû à des effets non spécifiques liés à un malaise.

- effets collatéraux par rapport aux mécanismes d'action :

- ▲ interférence avec les mécanismes de neuromodulation (Gold, 2008), en entraînant une forte augmentation puis une diminution de la libération de catécholamines (noradrénaline et dopamine) due à l'inhibition de la tyrosine hydroxylase et l'acétyl cholinestérase (Flexner & Goodman, 1975; Canal et al., 2007). Cette proposition est renforcée par le fait que l'injection d'une forte dose de noradrénaline est suffisante pour entraîner une amnésie (Canal et al., 2007).

- ▲ dérèglement des voies de signalisations et de l'expression génique (Radulovic & Tronson, 2008), notamment par l'activation de Elk-1, CREB, p38 MAPK, JNK/SAPK (cJun NH2-terminal kinases/stress-activated protein kinases) (Eriksson et al., 2007) et l'induction de gènes précoces c-fos, fosB, c-jun, junB, junD (Zinck et al., 1995; Hazzalin et al., 1997; Konishi et al., 2004). Ces modifications peuvent être à l'origine de l'induction de la mort cellulaire (Iordanov et al., 1997; Iordanov & Magun, 1998), mais également de la neuroprotection (Lopez-Mascaraque & Price, 1997; Torocsik & Szeberenyi, 2000). L'effet pro-apoptotique ou anti-apoptotique des inhibiteurs de la synthèse protéique semble dépendre de la dose et du type d'inhibiteurs utilisé.

L'anisomycine pourrait avoir un effet amnésiant via ces effets collatéraux : dérèglements des neuromodulateurs et/ou des cascades moléculaires. Ces changements neurochimiques interféreraient avec la formation de la mémoire, en perturbant le fonctionnement neuronal.

1.4.2) Implication de la synthèse protéique dans la mémoire

Outre les effets collatéraux des inhibiteurs de la synthèse protéique, deux autres types de données expérimentales s'opposent à l'implication de la synthèse protéique :

- une mémoire perturbée par l'administration d'un inhibiteur de la synthèse protéique peut être restaurée (Flexner & Flexner, 1967; Quartermain et al., 1970; Squire & Barondes, 1972), comme nous l'avons précédemment discuté (cf chapitre 1.2.1 *Récupération après amnésie*).

- un fort degré d'inhibition de la synthèse des protéines (90%) n'empêche pas systématiquement la formation de la mémoire à long terme ; en présence de stimulants

(nicotine, caféine, D-amphétamine) (Serota et al., 1972; Flood et al., 1978), ou dans le cas de la mémoire (ARM ; anesthesia-resistant memory) formée après un conditionnement massé chez la Drosophile et l'Abeille (Wittstock et al., 1993; Wittstock & Menzel, 1994 ; revues : Tully et al., 1994; Menzel et al., 2001).

La nécessité de la synthèse protéique dans la stabilisation de la mémoire semble donc être remise en cause. Cependant, l'utilisation d'outils plus précis, permettant de cibler des facteurs de transcription et de traduction ont montré que la synthèse protéique était nécessaire à la stabilisation de la mémoire post-acquisition et post-réactivation (Colombo, 2004; Alberini, 2009; Costa-Mattioli et al., 2009). En 2005, Aryeh Routtenberg et Jerome Rekart proposent un modèle alternatif à l'implication de la synthèse protéique dans la mémorisation : le modèle de modifications post-traductionnelles (**Fig 12**) (Routtenberg & Rekart, 2005). Ce modèle stipule que les modifications post-traductionnelles (ex : phosphorylation, glycosylation, acétylation) de protéines déjà synthétisées et déjà présentes à la synapse sont suffisantes pour former la mémoire à long terme ; et la synthèse protéique ne servirait qu'à remplacer les protéines indépendamment de la formation de la trace.

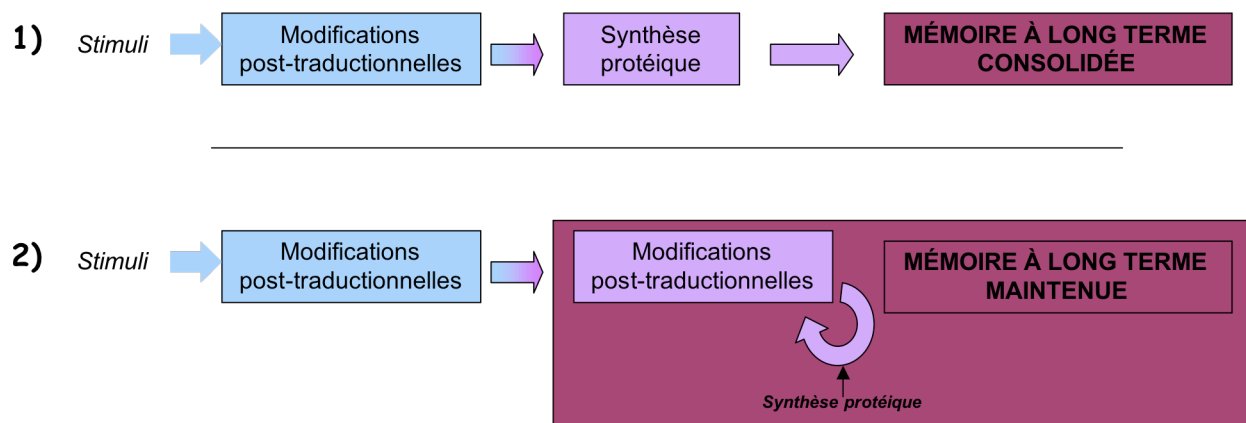


Figure 12 Modèles du substrat de la mémoire à long terme. 1) Modèle courant de la formation de la MLT dépendant de la synthèse protéique : les souvenirs sont stabilisés par la synthèse de nouvelles protéines. Les inhibiteurs de la synthèse protéique agissent donc sur la formation de la mémoire à long terme. 2) Modèle dépendant de modifications post-traductionnelles proposé par Routtenberg & Rekart (2005) : les modifications post-traductionnelles de protéines pré-synthétisées sont suffisantes pour former et maintenir la mémoire à long terme. Les inhibiteurs de la synthèse protéique perturbent la mémoire indirectement, en empêchant le renouvellement des protéines nécessaires au maintien de la trace.

1.4.3) Mémoire plus ou moins stable ?

Joe Tsien et ses collègues ont proposé que la formation de la MLT nécessite une activation moléculaire répétée (Shimizu et al., 2000; Wang et al., 2003; Cui et al., 2005). En effet, plusieurs expériences ont montré que la mémoire peut être perturbée en administrant un agent amnésiant en dehors de la fenêtre temporelle immédiatement consécutive à l'apprentissage.

Des études ont analysé l'effet d'un agent amnésiant à différents délais de 0 à 24 heures après l'acquisition. Ces travaux ont permis de mettre en évidence deux fenêtres temporelles de sensibilité à l'agent amnésiant : la première étant juste après l'acquisition (0-1 h) et la seconde ayant une temporalité plus variable de 3-4 h à 24 h après l'acquisition (**Tableau 4**). Notons qu'une autre vague d'activation neuronale présente lors du sommeil semble être impliquée dans la consolidation de la mémoire (Hennevin et al., 1995; Maquet, 2001; Marshall & Born, 2007; Walker, 2008).

Molécules	Délai après acquisition (heures)														Références
	0 -.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	12	20	24		
mTOR (activation)	O	N	N	O											Belelovsky et al., 2009
NCAM (inhibition)	O	N		N	N		O		O		N				Scholey et al., 1995
ERK1/2, CREB (activation)	O	O		N			N			O	O			N	Trifilieff et al., 2006
BDNF (inhibition)	O									N	O			N	Bekinschtein et al., 2007
Arc (activation)	O	O	O	N	N		N		O					O	Ramirez-Amaya et al., 2005
NFkappaB (activation)	O			N					O		N			N	Freudenthal & Romano, 2000
Synthèse protéique (inhibition)	O	O		N	O		O								Grecksch & Matthies, 1980
	O	O	N	N	O	O	N								Freeman et al., 1995
	O	N	N	O	O	N	N	N			N	N	N		Tiunova et al., 1998
	O			O						N	O			N	Bekinschtein et al., 2007
	O		N		O		N								Artinian et al., 2008
	O		N				O				O				Peng & Li, 2009

Tableau 4 Mise en évidence de deux vagues d'activation moléculaire suite à l'acquisition. Pour chaque délai, le sigle O indique que la molécule est requise pour la formation de la mémoire, alors que le sigle N indique qu'elle n'est pas nécessaire.

Ainsi, la mémoire à long terme semble se consolider grâce à des vagues (au moins 2) d'activation des molécules : mTOR (Belelovsky et al., 2006), molécules d'adhésion cellulaire neuronale (N-CAM) (Scholey et al., 1995), ERK1/2, CREB (Trifilieff et al., 2006), BDNF (Bekinschtein et al., 2007), facteurs de transcription NFkappaB (Freudenthal & Romano, 2000), et protéines nouvellement synthétisées (Grecksch & Matthies, 1980; Freeman et al., 1995; Tiunova et al., 1998; Ramirez-Amaya et al., 2005; Bekinschtein et al., 2007; Artinian et al., 2008; Peng & Li, 2009). Ces travaux ne remettent pas en question l'hypothèse de consolidation, puisqu'ils montrent que la MLT est sensible aux agents amnésiants durant ces fenêtres de temps limitées. La formation de la MLT nécessite donc du temps pour que la trace soit stable.

Il est à noter que tous ces travaux impliquent des tâches dépendantes de l'hippocampe (exception avec des habiletés motrices (Peng & Li, 2009), et un apprentissage gustatif (Belelovsky et al., 2009)) et que cette activation répétée semble être en accord avec l'hypothèse de la consolidation systémique. En effet, l'activation répétée au niveau de l'hippocampe permettrait le maintien de l'information au niveau de l'hippocampe, ainsi que son transfert vers le cortex. Au bout de quelques semaines, le dialogue entre l'hippocampe et le cortex aboutirait à la stabilisation de la trace mnésique.

Cette activation moléculaire répétée ne semble pas persister au cours du temps. Néanmoins, quelques travaux ont montré que l'administration d'agents pharmacologiques plusieurs semaines après l'acquisition pouvait perturber la mémoire. Notons que l'amnésie observée ne semble pas être due à une éventuelle réactivation de la trace. Un tel effet a été observé pour des inhibiteurs des récepteurs NMDA (Shimizu et al., 2000; Cui et al., 2005), des protéines kinases CAMKII (Wang et al., 2003) et PKMzeta (Pastalkova et al., 2006; Shema et al., 2007; Shema et al., 2009). L'activation continue de ces molécules semble persister pendant plusieurs semaines/mois, et serait indispensable au maintien de la trace à long terme. Dans cette hypothèse d'activité persistente, la trace ne serait jamais dans un état complètement stable. Les hypothèses de consolidation et de reconsolidation semblent donc à nouveau être remises en question : il ne semble pas y avoir d'état inactif, mais un état plus ou moins actif. L'état le plus actif correspondant à la période post-acquisition et post-réactivation. Nous retrouvons ici un support de l'hypothèse de Routtenberg & Rekart : les protéines activées de manière répétée permettraient le maintien de la mémoire à long terme, par des modifications post-traductionnelles. De plus, au vue de l'existence des vagues d'activation de la synthèse protéique, il est probable que le renouvellement des PKMzeta se fasse par cycles plus ou moins espacés dans le temps.

II) Mémoire du nouveau-né

Selon les espèces animales, les nouveau-nés naissent avec une maturité plus ou moins importante. Certains nouveau-nés possèdent la majorité des aptitudes cognitives et motrices qui leur permettront de collecter et d'apprendre rapidement de nouvelles informations (ex : cobaye). D'autres en revanche, trop immatures à la naissance, semblent développer leurs capacités cognitives progressivement au cours du développement post-natal (ex : bébé, lapereau, raton). Ces derniers sont entièrement dépendants de leurs parents (nutrition, soin, protection) pendant une longue période (jusqu'au sevrage); néanmoins cette période permet aux nouveau-nés de faire leurs premiers apprentissages afin d'acquérir leur autonomie. Par son immaturité, le raton est un modèle particulièrement intéressant pour étudier la mise en place d'une fonction comme la mémoire. De plus, sa croissance étant relativement rapide, il offre la possibilité de suivre l'évolution de ses capacités cognitives et de ses corrélats biologiques sur une période de temps relativement courte. C'est donc chez le raton que nous avons investigué les apprentissages associatifs et la mémoire précoce.

II.1) Apprentissage et mémoire précoce

II.1.1) Développement post-natal du raton (Fig 13)

À la naissance, les ratons sont aveugles, sourds et dépourvus de poils, ils dépendent de leur mère pour toutes les fonctions vitales (nutrition, excrétion et thermorégulation). Vers le troisième jour post-natal (P3), ils commencent à se mouvoir, mais ils se déplacent très difficilement en rampant sur le ventre et tournent souvent en rond. La locomotion, les postures et les mouvements évoluent progressivement au cours du développement post-natal (Altman & Sudarshan, 1975). Vers P10, les oreilles se décollent, un léger duvet apparaît et leur locomotion ressemble de plus en plus à de la marche coordonnée (Bolles & Woods, 1965). Au terme de la deuxième semaine post-natale (vers P13), les oreilles (méats auditifs) et les yeux s'ouvrent. Une fois les yeux ouverts, tout s'accélère, les ratons sont beaucoup plus vifs, explorent leur environnement et commencent à goûter à la nourriture que prend la mère (P15). Mais ils restent dépendant du lait maternel jusqu'au sevrage (les ratons quittent le nid de la mère), que nous réalisons à P21-P22 au laboratoire. Ces ratons autonomes continuent leur croissance et deviennent matures sexuellement vers P35- P45.

Notons que les ratons dès P2 sont capables d'émettre des vocalisations ultrasoniques (30-70 kHz) lorsqu'ils sont séparés de leur mère (Noirot, 1968; Rychlik, 1990; Takahashi, 1992a; Takahashi, 1992b). Ces cris permettent d'attirer l'attention de la mère afin qu'elle les recherche et les ramène au nid (Allin & Banks, 1972; Noirot, 1972). Le taux de vocalisations décroît graduellement de P9-11 jusqu'à P16-18 (Noirot, 1972). Cette disparition

progressive d'émission d'ultrasons semble être liée au développement du système de thermorégulation qui permet aux rats d'être indépendants quelques jours avant le sevrage (Allin & Banks, 1971; Blumberg & Alberts, 1990).

La perception de l'environnement évolue avec l'apparition successive des fonctions sensorielles au cours du développement. La vue et l'ouïe ne semblent pas fonctionnelles avant P13-14, âge où les yeux et les oreilles s'ouvrent. Or la maturation des organes auditifs se fait plus précocement et progressivement: les cellules ciliées commencent leur différenciation morphologique avant la naissance (vers 16-17 jours embryonnaires), les premiers potentiels cochléaires apparaissent vers P8-P10, et la maturation cochléaire est terminée vers P16-P20 (Pujol & Hilding, 1973). Ainsi, même si le canal auditif n'est pas ouvert, il est probable que les rats puissent percevoir les stimuli auditifs, de manière floue. La vue et l'ouïe sont les deux derniers sens à être mis en place au stade post-natal, alors que le toucher et les sens chimiques apparaissent dès le stade fœtal, facilitant la relation entre la mère et le jeune dès la naissance.

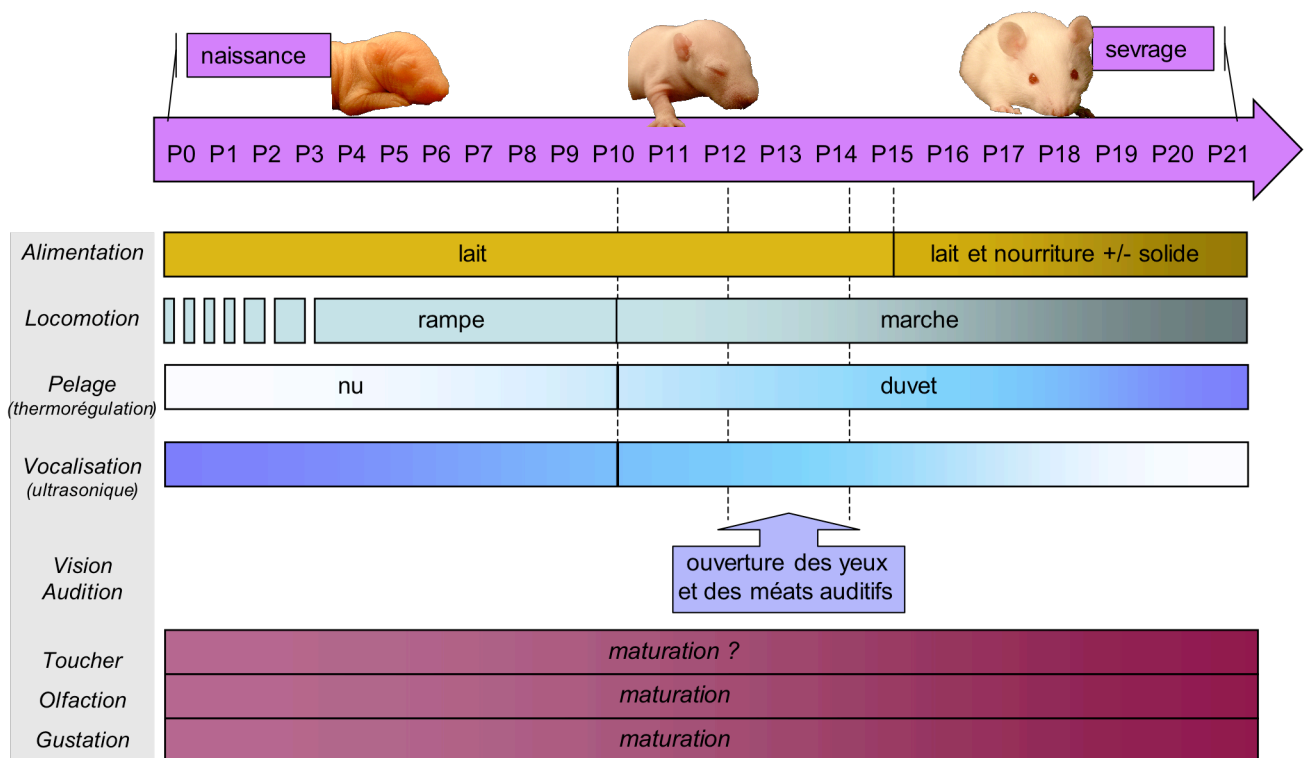


Figure 13 Évolution générale des fonctions d'alimentation, de locomotion, de thermorégulation, et sensorielles au cours du développement post-natal.

Durant la première semaine post-natale, les rats utilisent principalement des indices olfactifs pour s'orienter vers leur nid (Cornwell-Jones & Sobrian, 1977), la mère et la fratrie (Hepper, 1986), mais également pour localiser les tétines de leur mère (Singh &

Tobach, 1975). Elliott Blass et ses collaborateurs ont mesuré le comportement de tétée sur des mères anesthésiées, dans différentes conditions : altérations thermiques (mère refroidie), tactiles (mère rasée), olfactives (mère lavée). Les deux premières conditions (thermique et tactile) n'ont qu'un faible effet sur l'attachement des ratons aux tétines, alors que l'élimination des indices olfactifs supprime la tétée des ratons à P3-4. De plus, la ré-application de l'odeur présente initialement ou de la salive de ratons sur les tétines lavées rétablit le comportement (Blass et al., 1977).

De plus, il a été observé que ces stimuli thermotactiles et chimiosensoriels, impliqués dans l'interaction du nouveau-né avec sa mère, peuvent être associés à d'autres éléments afin d'induire des apprentissages appétitifs ou aversifs chez le nouveau-né.

II.1.2) Apprentissages précoces

En prenant en compte le répertoire comportemental du nouveau-né, divers apprentissages associatifs aversifs et appétitifs ont été observés très précocement (**Tableau 5**).

La majorité des conditionnements associatifs réalisables chez le raton sont de type classique : l'animal apprend à associer 2 stimuli, un stimulus neutre (SC, stimulus conditionné) qui ne produit pas ou peu de réponses chez l'animal naïf, et un stimulus hautement efficace (SI, stimulus inconditionné) qui produit une réponse réflexe non apprise ; après couplage, l'animal développe une réponse vis-à-vis du SC.

Notons qu'un faible nombre d'études a pu mettre en évidence un conditionnement opérant où le jeune raton apprend que son action (ex : mouvement de tête) a une incidence sur l'arrivée du renforcement (Johanson & Hall, 1979; Moran et al., 1981; Guenaire et al., 1982; Flory et al., 1997; Arias et al., 2007). Tous les conditionnements opérants réalisables avant P12 sont appétitifs. Les apprentissages opérants aversifs, évitement passif ou actif, semblent apparaître plus tardivement au cours du développement (entre P10 et P17), tout comme le conditionnement de peur au contexte (Stanton, 2000).

Quel que soit le type de conditionnement, les apprentissages chez le raton avant P12 impliquent les modalités sensorielles thermiques (Guenaire et al., 1982; Hoffmann et al., 1990), tactiles (Gemberling & Domjan, 1982; Pedersen et al., 1982; Sullivan et al., 1986; Camp & Rudy, 1988; Molina et al., 1996), gustatives et/ou olfactives.

- Introduction -

	SC	SI	Age du conditionnement	Références	
Apprentissages aversifs	Vibrotactile	Choc électrique	1h	Caldwell & Werboff, 1962	
	Texture	Choc électrique (1mA)	1	Gemberling & Domjan, 1982	
	Texture	Éthanol (2g/kg)	10-11	Molina et al., 1996	
	Chaleur	LiCl	5	Hoffmann et al., 1990	
	Goût	LiCl		10	Campbell & Alberts, 1979
				1	Gemberling & Domjan, 1982
				3	Gruest et al., 2004b
				5	Kehoe & Blass, 1986
				6	Kraemer et al., 1988
			Choc (1mA) ou LiCl	5	Hoffmann et al., 1990
	Odeur	Quinine		3-5h	Nizhnikov et al., 2002
		LiCl		2	Rudy & Cheatle, 1977
		LiCl ou choc intraperitonéal		2, 4, 6, 8, 10, 12	Haroutunian & Campbell, 1979
		Choc (1.6mA)		6	Kucharski & Spear, 1984
Choc (0.1-0.5mA)			12	Camp & Rudy, 1988	
			10	Sullivan et al., 2000	
	LiCl, et conditionnement de second ordre : texture + odeur		4, 8	Miller et al., 1990	
conditionnement opérant	Lève la tête	Bouffée d'air chaud	1	Guenaire et al., 1982	
	Tourne la tête	Plaque chauffante	1	Flory et al., 1997	
	Touche le détecteur	Infusion de lait	5-6	Arias et al., 2007	
	Pousse morceau de coton odorisé	Infusion de lait	1	Johanson & Hall, 1979	
	Pousse un objet	Stimulation cérébrale	3	Moran et al., 1981	
	Parcourt une allée	Tétine sans lait	10	Amsel et al., 1976	
	Parcourt un labyrinthe en Y	Tétine sans lait	7	Kenny & Blass, 1977	
	Parcourt un labyrinthe en T	Mère nonlactante anesthésiée	10-11	Smith & Croft, 1985	
Apprentissages appétitifs	Odeur	Sucrose ou graisse	6	Shide & Blass, 1991	
		Infusion de lait	3-5h	Cheslock et al., 2000	
		Infusion de lait, de sucrose	3	Johanson & Teicher, 1980	
		Infusion de lait ou brossage	6	Sullivan & Hall, 1988	
		Brossage	3	Pedersen et al., 1982	
		Salive de la mère ou brossage ou pincement de queue	3, 6	Sullivan et al., 1986	
		Brossage ou Injection d'isoproterenol	6	McLean et al., 1999	
		Tétine (sans lait)	2 (lapereaux)	Hudson et al., 2002	
		Phéromone	2 (lapereaux)	Coureaud et al., 2006	
		Stimulation MFB/LH	12	Wilson & Sullivan, 1990	
		Choc (0.1-0.5mA)	6	Camp & Rudy, 1988	
			9	Sullivan et al., 2000	
		Morphine	5	Kehoe & Blass, 1989	
		Éthanol (0.25 à 0.75 g/kg)	3-4h	Nizhnikov et al., 2006	
		D-Amphétamine	3	Pedersen et al., 1982	
		Isoproterenol (agonistes des récepteurs β -adrénergiques)	1	Bordner & Spear, 2006 (Sullivan et al., 1989)	
Agonistes des récepteurs adrénergiques (α 1 et β 1)	6	Harley et al., 2006			
Saccharine (tétée)	Morphine	5	Kehoe & Blass, 1986		

Tableau 5 Apprentissages aversifs et appétitifs réalisables chez le nouveau-né de P0 à P12.

Pour chaque apprentissage, seuls les travaux ayant mis au point le paradigme sont référencés. Les apprentissages sont essentiellement olfactifs. Les paradigmes d'apprentissages appétitifs sont plus nombreux (24) que ceux d'apprentissages aversifs (11). L'apprentissage « odeur-choc » peut être aversif ou appétitif en fonction de l'âge du conditionnement (*en bleu*). L'un des apprentissages aversifs le plus utilisé est le conditionnement d'aversion gustative (*en violet*).

Les paradigmes d'apprentissages olfactifs sont variés. En effet, une odeur (SC) peut être associée à des renforcements négatifs ou positifs de différentes natures : un malaise gastrique induit par du chlorure de lithium, LiCl (Rudy & Cheatle, 1977; Haroutunian & Campbell, 1979; Miller et al., 1990), un choc électrique (Kucharski & Spear, 1984; Camp & Rudy, 1988), un goût repoussant (Nizhnikov et al., 2002), de la chaleur (Guenaire et al., 1982; Flory et al., 1997), des stimulations intracrâniées (Wilson & Sullivan, 1990), des stimulations tactiles de type brossage (Pedersen et al., 1982; Sullivan et al., 1986; Sullivan & Hall, 1988; McLean et al., 1999), une tétée sans lait (Hudson et al., 2002), du lait (Johanson & Hall, 1979; Johanson & Teicher, 1980; Sullivan & Hall, 1988; Cheslock et al., 2000; Arias et al., 2007), la salive de la mère (Sullivan et al., 1986), une phéromone (Coureaud et al., 2006), de l'éthanol (Nizhnikov et al., 2006), une injection de morphine (Kehoe & Blass, 1989), et d'agents noradrénergiques (Pedersen et al., 1982; Sullivan et al., 1989; Bordner & Spear, 2006; Harley et al., 2006).

II.1.2.1) « odeur-choc »

Parmi les apprentissages précoces, le conditionnement « odeur-choc » est particulier, puisqu'il peut correspondre soit à un apprentissage appétitif, soit à un apprentissage aversif en fonction de l'âge du conditionnement. Le paradigme « odeur-choc » consiste à réaliser plusieurs essais d'association entre une odeur et un choc électrique (sur la queue ou sur les pattes de l'animal), et lors du test de rétention, les rats sont placés dans un labyrinthe à 2 branches ou une enceinte où ils ont la possibilité d'aller vers l'odeur conditionnée ou de l'éviter (**Fig 14**).

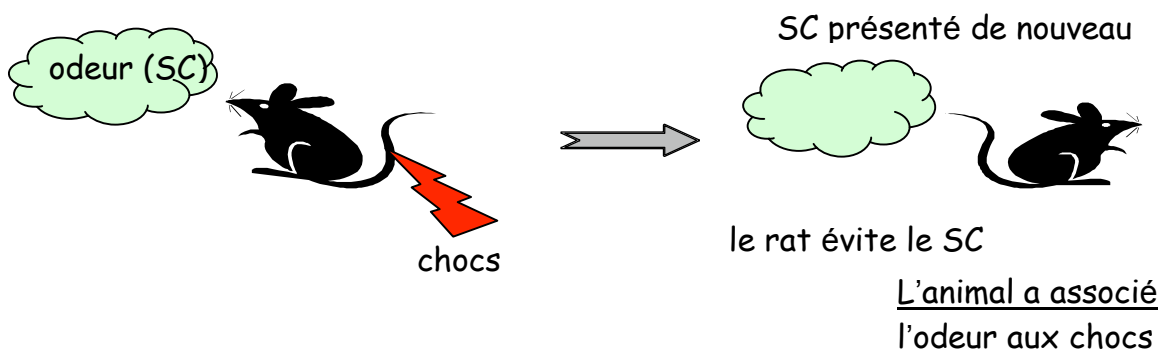


Figure 14 Paradigme du conditionnement « odeur-choc »

Les premiers travaux sur l'aversion olfactive conditionnée suggéraient une différence ontogénique entre les contrôles intéroceptif et extéroceptif du comportement: alors que les stimuli intéroceptifs (LiCl, choc intrapéritonéal) sont efficaces dès la première semaine post-natale, les stimuli extéroceptifs (choc périphérique) ne permettent un évitement conditionné que pour des rats de plus de 10 jours (Haroutunian & Campbell, 1979). Une dizaine d'années plus tard, Laurel Camp et Jerry Rudy montrent que lorsque le conditionnement « odeur-choc périphérique » est réalisé à P6, les rats présentent une réponse paradoxale d'approche pour l'odeur précédemment associée aux chocs électriques, mais si le conditionnement est réalisé à P12, les rats évitent l'odeur (Camp & Rudy, 1988), comme chez l'adulte (Otto et al., 1997). Ces résultats surprenants sont confirmés par Régina Sullivan et ses collègues qui mettent en évidence une période sensible vers P9-P10 où l'apprentissage change de valeur (Sullivan et al., 2000a) : appétitif avant P10, et aversif après P10. Ces travaux, montrant une réponse d'approche, ont utilisé un choc « modéré » de 0.5 mA (intensité similaire à celle utilisée pour les expériences chez l'adulte). Chez le nouveau-né, ce choc « modéré » provoque des vocalisations (White et al., 1992) et des tentatives de fuite (Emerich et al., 1985) indicatives de la douleur, de plus les seuils de détection du choc ne semblent pas varier avec l'âge (Stehouwer & Campbell, 1978). Donc le choc est bien ressenti comme un stimulus aversif, mais il n'entraîne pas pour autant un évitement conditionné. Néanmoins, les rats à P6 peuvent acquérir un évitement olfactif, mais seulement avec un choc de plus forte intensité (1-1.6 mA) (Kucharski & Spear, 1984; Sullivan & Wilson, 1995). Si on considère la suggestion de Haroutunian et Campbell sur le développement de la perception des stimuli intéroceptifs et extéroceptifs, on peut supposer qu'un choc périphérique (extéroceptif) intense agisse sur le système sensoriel interne (comme un choc intéroceptif) et entraîne donc une aversion conditionnée.

Depuis l'an 2000, Sullivan et ses collègues se sont intéressés aux circuits impliqués dans l'association « odeur-choc » qui évolue avec l'âge auquel est réalisé le conditionnement (Sullivan et al., 2000a; Roth & Sullivan, 2001; Sullivan, 2001; Roth & Sullivan, 2003; Moriceau & Sullivan, 2004b, 2006; Moriceau et al., 2006; Roth et al., 2006; Shionoya et al., 2007; Thompson et al., 2008; Raineki et al., 2009). La capacité des rats à apprendre un évitement conditionné suite au conditionnement « odeur-choc » semble liée à l'émergence de circuits neuronaux fonctionnels vers P10, notamment à la maturation de l'amygdale (*cf chapitre «développement des structures cérébrales»*).

Les travaux sur cet apprentissage particulier se sont centrés sur l'étude de ses supports neuronaux (molécules et structures), mais aucun n'a étudié le devenir de cette mémoire. *Que devient la trace mnésique acquise à P6 lorsqu'on la teste à P13 ; Est-ce que la réponse comportementale correspond à l'âge du conditionnement (préférence) ou bien à l'âge du test (aversion) ?*

II.1.2.2) Aversion gustative conditionnée (CTA)

L'aversion gustative conditionnée (CTA = conditioned taste aversion) est quasiment le seul protocole utilisé pour les conditionnements gustatifs chez le nouveau-né. La CTA consiste à associer un goût nouveau (SC) et un malaise gastro-intestinal (SI) induit par une injection de chlorure de lithium (LiCl) (**Fig 15**). Cela engendre ultérieurement une aversion (évitement ou réduction de la préférence) lorsque ce goût est à nouveau présenté.

Les études de la CTA chez l'adulte ont mis en évidence les particularités de cet apprentissage, certaines de ces caractéristiques présentent de remarquables opportunités pour étudier la mémoire chez les nouveau-nés :

- La CTA peut être acquise en un seul essai (Garcia & Koelling, 1967; Bermudez-Rattoni et al., 1988), ce qui permet d'intervenir à des moments précis par rapport au processus de consolidation de la mémoire.
- L'acquisition de la CTA tolère un délai de plusieurs minutes voire heures (jusqu'à 12 heures chez l'adulte) entre le SC et le SI (Garcia et al., 1966; Nachman, 1970; Revusky & Garcia, 1970). Cependant, en augmentant fortement la durée du délai SC-SI, l'aversion diminue graduellement.
- La CTA est robuste, elle peut se maintenir sur plusieurs semaines (Revusky & Garcia, 1970; Garcia et al., 1985), voire plusieurs mois : 2-3 mois chez le rat (Martin & Timmins, 1980), le mouton (Burritt & Provenza, 1990) et le singe (Matsuzawa et al., 1983) et une étude a mis en évidence une rétention de la CTA à 6 mois chez le rat (Houpt et al., 1996).
- La CTA est relativement indépendante du comportement moteur.

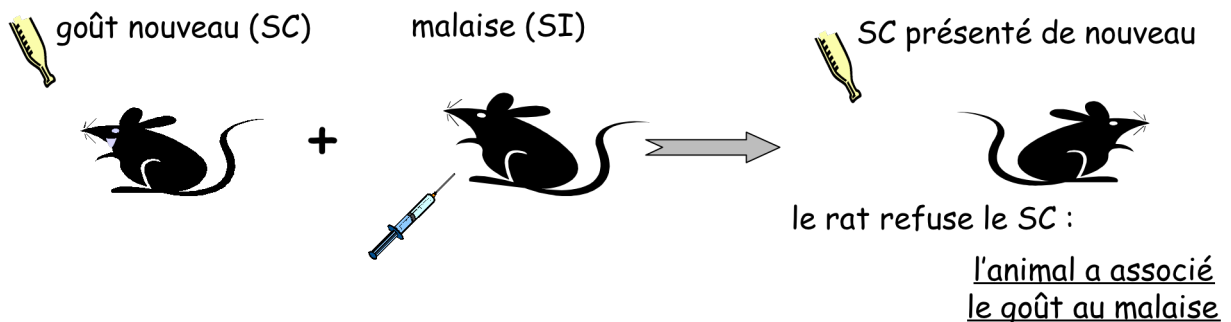


Figure 15 Paradigme du conditionnement d'aversion gustative

La capacité des rats à associer un goût avec un malaise semble émerger précocement. Les premières mises en évidence de la CTA chez le nouveau-né, dès l'âge de 1 jour, furent réalisées en administrant le goût par infusion intra-orale à l'aide d'une canule implantée dans la bouche du raton (Gregg et al., 1978; Gemberling et al., 1980; Gemberling & Domjan, 1982). Néanmoins Vogt et Rudy, n'ayant pas pu mettre en évidence une CTA vis-

à-vis du sucrose, ont suggéré qu'un tel conditionnement ne pouvait pas s'établir avant P12 (Vogt & Rudy, 1984). Or quelques années plus tard, Hoffmann et ses collègues montrent que des rats de 5 et 9 jours sont capables d'acquiescer une aversion conditionnée sur le sucrose (Hoffmann et al., 1987). Ces résultats contradictoires entre Vogt/ Rudy et Hoffmann semblent être dû à la différence de délai entre la canulation et le conditionnement : 10 minutes (Vogt & Rudy, 1984) contre 6 heures (Hoffmann et al., 1987). Dans le protocole de Vogt et Rudy, il est fort probable que la canulation ait interféré avec l'apprentissage, puisque la canulation est réalisée peu de temps avant le conditionnement.

Parallèlement, Martin et Alberts montrent que des rats recevant le SC (saccharine) par une canule acquiescent une CTA hors du comportement de tétée, mais pas lors de la tétée avec la mère (Martin & Alberts, 1979). Contrairement à cette étude, Kehoe et Blass montrent que des rats à P5 sont capables d'acquiescer une CTA dans les mêmes conditions de tétée avec leur mère (Kehoe & Blass, 1986a). La différence de protocole semble encore être à l'origine de ces résultats discordants : les rats canulés qui tètent une mère délivrant du lait n'établissent pas d'aversion conditionnée (Martin & Alberts, 1979), alors que ceux qui sont autorisés à s'accrocher à une mamelle de la femelle anesthésiée (ne délivrant pas de lait) présentent une CTA (Kehoe & Blass, 1986a). Ainsi, lorsque l'association goût-malaise n'est pas perturbée par la présence du lait, les rats sont capables d'apprendre une aversion gustative lors du comportement de tétée.

L'ensemble de ces travaux met en évidence l'importance des conditions expérimentales utilisées, car le changement d'un facteur peut aboutir à des résultats contradictoires. Un échec dans la mise en évidence d'un apprentissage peut être dû à des conditions inappropriées lors de l'acquisition ou de la rétention, mais il n'est pas forcément dû à une impossibilité de la part de l'animal à apprendre et à retenir cet apprentissage.

Dans les années 1980, la méthode de canulation est la plus souvent utilisée pour l'administration du SC lors d'un conditionnement d'aversion gustative (Gregg et al., 1978; Martin & Alberts, 1979; Gemberling et al., 1980; Gemberling & Domjan, 1982; Kehoe & Blass, 1986a; Hoffmann et al., 1987; Kraemer et al., 1988). Or la canulation n'est pas une intervention bénigne : elle implique une anesthésie, une chirurgie, et des risques de biais sur les réponses comportementales. Quelque soit la technique de canulation intraorale (antérieure, postérieure ou au niveau de la joue), cette procédure entraîne un stress pour le raton (Spear et al., 1989). L'une des alternatives à la canulation est l'administration du SC par une seringue introduite dans la bouche du raton (Campbell & Alberts, 1979; Schweitzer & Green, 1982). Étant donné que la seringue est imposée de force au raton, il est fort probable que cette méthode entraîne également un stress.

À la fin des années 1990, l'équipe de William Smotherman met au point un procédé utilisant une tétine artificielle rappelant la mamelle de la mère. Cette technique permet au raton, sans expérience préalable de tétée et dès l'âge embryonnaire de 20 jours, d'ingérer

un goût particulier par un comportement actif d'accrochage à la tétine (Petrov et al., 1997; Smotherman et al., 1997a; Petrov et al., 2000). Lors du test, la mesure du temps d'accrochage spontané du raton à la tétine donne des informations sur les préférences gustatives de l'animal (Smotherman et al., 1997b; Bacher et al., 2001). Par exemple, ils montrent que le raton passe plus de temps accroché à une tétine délivrant du lait qu'à une tétine délivrant une solution saline ou de l'eau. L'utilisation d'une tétine artificielle permet l'étude des capacités d'apprentissage précoce dans un contexte adapté à l'écologie d'un raton âgé de quelques jours.



En effet, l'équipe de Norman Spear a montré que 3h après la naissance, les ratons sont capables d'acquérir des apprentissages olfactifs appétitifs (Cheslock et al., 2000) ou aversifs (Nizhnikov et al., 2002). Et notre équipe a mis en évidence l'acquisition d'une aversion olfactive/gustative conditionnée chez des ratons à P3, à l'aide d'un paradigme de CTA (Gruest et al., 2004b). L'utilisation de cet apprentissage permet donc d'étudier les processus mnésiques chez le très jeune raton.

II.1.3) Maturation de l'apprentissage

Une palette d'apprentissage semble réalisable dès le plus jeune âge, néanmoins l'établissement de ces apprentissages peut évoluer au cours du développement en fonction du SI et du délai SC-SI.

Afin d'établir un apprentissage associatif, chez l'adulte ou le jeune, il est important de bien choisir le renforcement : type, durée, intensité. Pour les apprentissages précoces, une autre contrainte vient s'ajouter : l'évolution de la valeur du renforcement en fonction de l'âge. Comme nous l'avons vu précédemment dans le cas du conditionnement « odeur-choc », le choc périphérique pourrait changer de valeur en entraînant une préférence olfactive puis une aversion vers P10 (Camp & Rudy, 1988; Sullivan et al., 2000a). D'autres renforcements, essentiellement liés à la mère, comme le brossage du raton équivalant au léchage par la

mère (Roth et al., 2004) et la phéromone mammaire chez le lapereau (Coureaud et al., 2006), perdent leur valeur au cours du développement. Néanmoins, certains renforcements, comme la satisfaction de la prise de lait ou le malaise induit par le chlorure de lithium (LiCl), gardent leur valeur au cours du développement. Le fait que le LiCl conserve une valeur négative au cours du développement permet une étude comparée de la CTA à différents âges.

En ce qui concerne l'aversion gustative conditionnée, l'une des découvertes les plus provocantes chez l'adulte est la possibilité d'établir un apprentissage avec un long délai entre le goût et le malaise (Revusky & Garcia, 1970; Revusky, 1971). Taukulis a montré que cet apprentissage à long délai peut être également observé lorsqu'une stimulation olfactive distale (odeur présentée à proximité de l'embout délivrant de l'eau) précède le malaise (au moins 4h) (Taukulis, 1974). Ceci a largement été démontré chez l'adulte, cependant les études réalisées chez le nouveau-né suggèrent une maturation progressive de cet apprentissage à long délai au cours du développement post-natal (**Fig 15**). Par exemple, Gregg et ses collègues ont étudié l'aversion gustative conditionnée à P12 et P15 en associant de la saccharine avec une injection de LiCl 30min ou 2h plus tard. Les ratons à P12 présentent une aversion gustative avec un délai SC-SI de 30min, mais pas de 2h, alors que les ratons à P15 sont capables d'apprendre une CTA dans les deux conditions (Gregg et al., 1978). Les autres études sur l'importance du délai SC-SI dans l'établissement de l'aversion gustative n'ont été réalisées qu'à un seul âge. Alors que la CTA est possible avec un bref délai, les ratons à P1 n'apprennent pas avec un délai SC-SI de 30min (Gemberling & Domjan, 1982), les ratons à P8 n'apprennent pas avec un délai SC-SI de 45min (Miller et al., 1990), les ratons à P15 n'apprennent pas avec un délai SC-SI de 4h (Balcom et al., 1981), alors que les ratons à P23 apprennent avec un délai SC-SI de 5h (Martin & Timmins, 1980).

En ce qui concerne l'aversion olfactive, Jerry Rudy et Martin Cheattle ont étudié l'ontogenèse de cet apprentissage. L'exposition à une odeur de citron pendant 30min suivie d'une injection de LiCl 5min après le début de la présentation de l'odeur chez des ratons à P2 (superposition entre le SC et le SI) entraîne une aversion pour l'odeur à P8. De plus, Rudy et Cheattle montrent que des ratons P2 ne présentent pas d'aversion si le SC et le SI sont séparés de 15 sec, alors que les ratons P4 apprennent avec un délai de 15sec, mais pas de 15min. Et les ratons P8 apprennent avec un délai SC-SI de 15min et de 90min, mais pas de 240min. Les ratons de 2 jours post-nataux ont donc les capacités associatives nécessaires pour apprendre une aversion olfactive lorsque l'odeur et le malaise ont une forte proximité temporelle, mais ne semblent pas capables d'apprendre une aversion lorsqu'un bref délai (15 sec) sépare les deux stimuli. L'apprentissage associatif avec un long délai se développe progressivement avec l'âge (Rudy & Cheattle, 1979).

Le schéma ci-joint (**Fig 16**) résume ces travaux sur l'apprentissage avec un long délai chez le nouveau-né, et montre l'établissement ou non de l'apprentissage au cours du

développement en fonction du délai entre le SC (goût ou odeur) et le SI (malaise). Le facteur « délai SC-SI » semble être déterminant pour l'apprentissage, mais ces études ont parfois des conditions différentes qui peuvent agir sur l'efficacité de l'apprentissage : le SC (concentration, durée de présentation...), la dose de LiCl et le délai entre le conditionnement et le test. Par exemple, des rats à P23 ne peuvent pas établir d'aversion avec un délai de 1h entre la saccharine (0.1%) et le LiCl (0.3M), alors que la CTA est établie avec un délai de 2h30 entre la saccharine (1%) et le LiCl (0.6M) (Martin & Timmins, 1980).

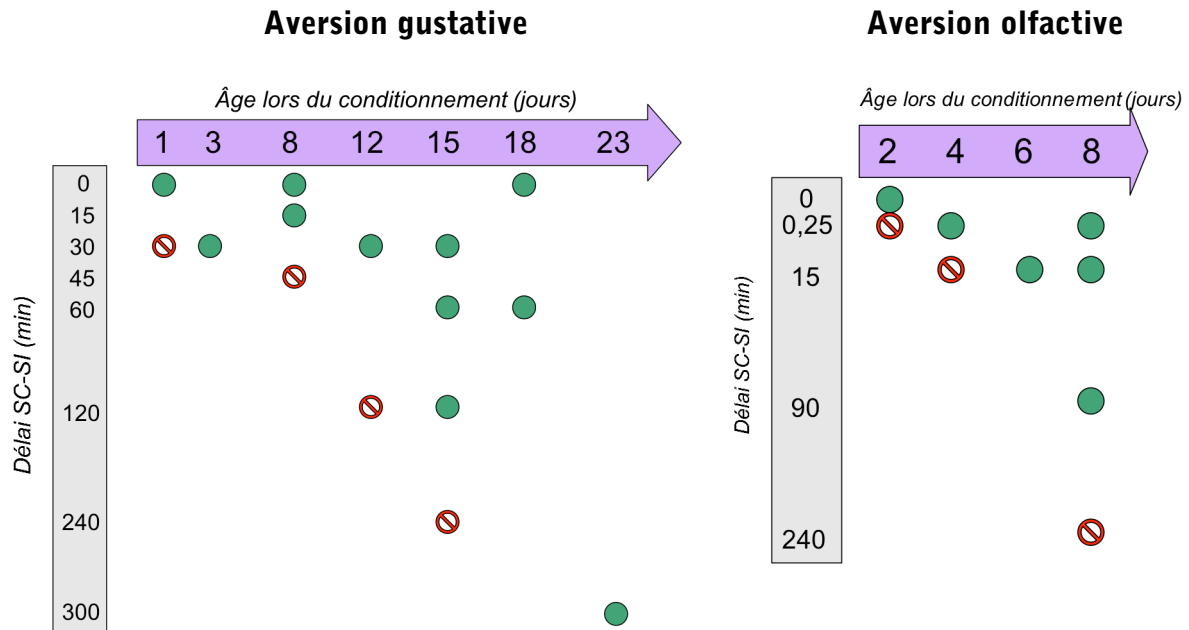


Figure 16 Evolution de l'apprentissage avec un long délai entre le SC (goût ou odeur) et le SI (malaise) en fonction de l'âge du conditionnement. Le cercle vert indique que l'aversion conditionnée est exprimée, alors que le sigle rouge indique que l'aversion n'est pas observable dans ces conditions. D'après les travaux de Gregg et al. 1978, Rudy & Cheatle 1979, Steinert et al. 1979, Martin & Timmins 1980, Balcom et al. 1981, Gemberling & Domjan 1982, Miller et al. 1990, Gruest et al. 2004b.

L'émergence des capacités à intégrer des évènements séparés temporellement pourrait refléter une maturation des processus de mémorisation, car le stimulus olfactif/gustatif doit être retenu pendant un certain délai pour être associé au malaise. Ces processus continuent leur maturation pendant une grande période (au moins jusqu'au sevrage), alors que les processus associatifs de base sont fonctionnels dès le stade prénatal.

Cette évolution de l'apprentissage précoce (principalement du délai SC-SI) avec l'âge du raton peut s'expliquer par des modifications des systèmes sensoriels et neuronaux au cours du développement post-natal.

II.1.4) Développement des structures cérébrales de l'évitement olfactif et de l'aversion gustative

Chez l'adulte, les structures cérébrales impliquées dans le conditionnement « odeur-choc » (Otto et al., 2000; Davis, 2004) et « goût-malaise » (Chang & Scott, 1984; Yamamoto, 1993; Ferreira et al., 2006) sont relativement bien connues grâce à des études de lésions, de pharmacologies, et d'activations neuronales par électrophysiologie, autoradiographie au 2-DG, immunoréactivité au c-fos (**Fig 17**). À notre connaissance, il n'y a pas d'études sur les mécanismes cellulaires et moléculaires de la CTA chez le nouveau-né. Néanmoins, de nombreux travaux ont mis en évidence les circuits impliqués dans les apprentissages olfactifs aversifs chez le nouveau-né. Nous relatons ici le développement des supports neuronaux de ces apprentissages au cours du développement.

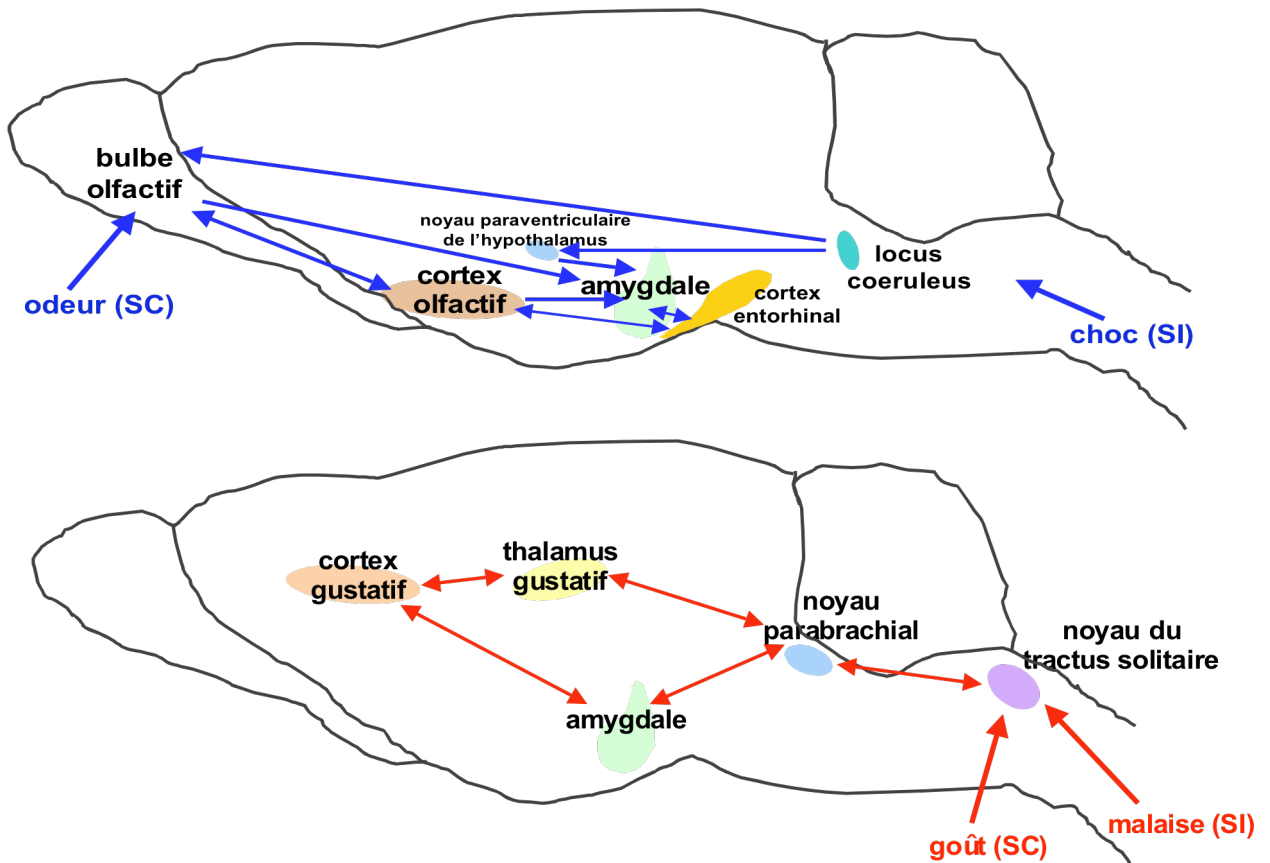


Figure 17 Circuits neuronaux principaux impliqués dans l'apprentissage « odeur-choc » (bleu) et « goût-malaise » (rouge) chez le rat adulte et/ou le jeune.

II.1.4.1) Structures de l'olfaction

Le fait que le comportement de tétée soit médié par des indices olfactifs, et que les aversions et les préférences olfactives puissent être conditionnées chez le nouveau-né indique que le système olfactif est fonctionnel et capable d'apprentissage à ce stade précoce du développement.

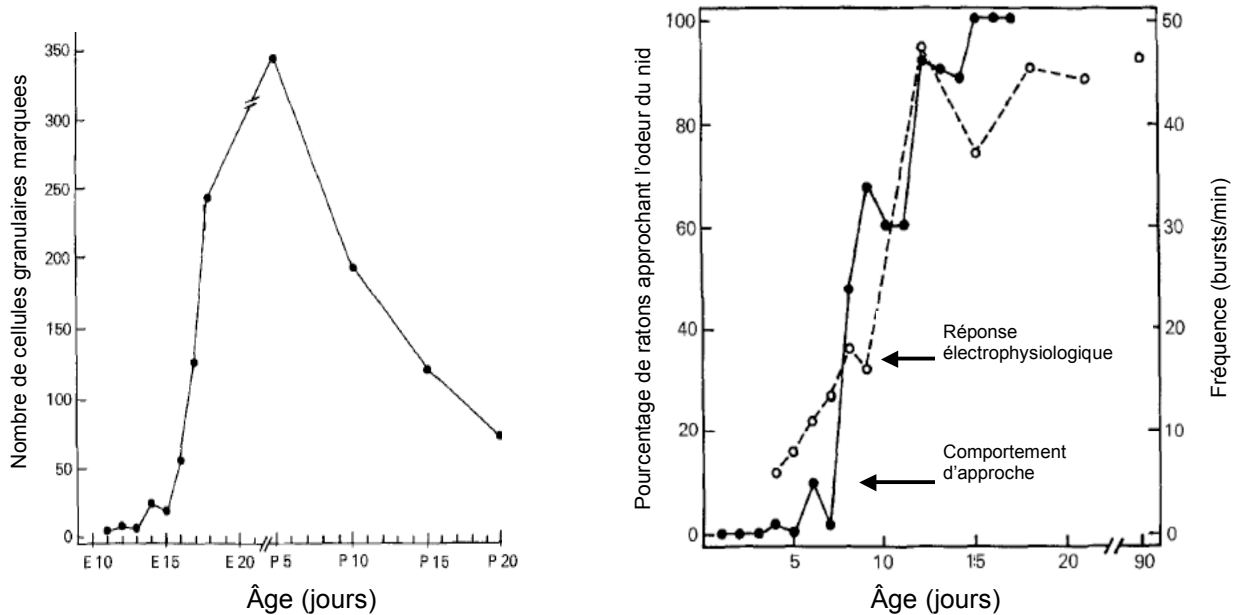


Figure 18 Développement du bulbe olfactif en fonction de l'âge. A) Prolifération des cellules granulaires du bulbe olfactif en fonction de l'âge embryonnaire (E) et postnatal (P) ; B) Relation entre le développement des réponses évoquées enregistrées en EEG dans le bulbe olfactif et le comportement d'approche pour l'odeur du nid chez le raton. Issues de Doty, 1986.

Cependant, même si les stimuli olfactifs sont perçus dès la naissance (et même dès le stade embryonnaire, voir revues : Lecanuet & Schaal, 1996; Schaal et al., 2004), la perception de ces signaux semble évoluer au cours du développement. Ce n'est que vers P14 que l'organisation du bulbe olfactif correspond à celui de l'adulte (Leon et al., 1984). Le marquage de l'ADN à la thymidine-H3 révèle que les cellules granulaires et périglomérulaires du bulbe olfactif prolifèrent jusqu'à la deuxième semaine post-natale (**Fig 18A**), alors que les cellules mitrales (neurones glutamatergiques) sont matures dès la naissance (Bayer et al., 1993). Les axones des cellules mitrales atteignent leurs cibles durant les premiers jours (P2-P4), incluant le noyau cortical de l'amygdale et le cortex olfactif (Schwob & Price, 1984). Les afférences noradrénergique, cholinergique et sérotonergique du bulbe olfactif sont présentes dès la naissance et augmentent en densité durant la période pré-sevrage (McLean & Shipley, 1987, 1991).

Dès la naissance, des groupes de glomérules (regroupement des axones des récepteurs olfactifs et des terminaisons synaptiques de neurones olfactifs) semblent être

métaboliquement actifs (Greer et al., 1982). De plus, les mesures de la captation du 2-deoxyglucose des couches glomérulaires (Astic & Saucier, 1981) et les enregistrements unitaires des cellules mitrales (Mair & Gesteland, 1982) indiquent que le bulbe olfactif répond à des odeurs durant la première semaine post-natale. Néanmoins, les études électrophysiologiques et comportementales montrent que le système olfactif du rat subit des changements durant les premières semaines de vie. Les réponses bulbaires évoquées enregistrées par électro-encéphalogramme sont détectées à P3, mais atteignent leur maximum vers P11-P12 (Salas et al., 1969). Comme l'a indiqué Jeffrey Alberts, une correspondance stricte existe entre le développement de l'activité électrique du bulbe olfactif et le développement du comportement de recherche du nid au cours des premières semaines de vie du raton (**Fig 18B**) (Alberts, 1976). De même le comportement de reniflement, également présent à P3, devient prééminent vers P11, âge où la recherche du nid est intense.

Cette évolution des réponses bulbaires à une odeur nouvelle est confirmée par des études d'activation neuronale du bulbe olfactif suite à un apprentissage olfactif. La technique de marquage de l'activation neuronale par autoradiographie au 2-DG suggère que le bulbe olfactif est impliqué différemment en fonction de l'âge, mais également en fonction du type d'apprentissage. Les conditionnements olfactifs aversif (odeur-LiCl) et appétitif (odeur-choc 0.5mA) de rats à P7-P8 engendrent une modification des réponses du bulbe olfactif (Moriceau & Sullivan, 2004a; Shionoya et al., 2006). Le profil d'activation du bulbe olfactif est modifié à P12 suite à un conditionnement « odeur-LiCl » (Shionoya et al., 2006) mais pas pour un conditionnement odeur-choc 0.5mA (aversif) (Moriceau & Sullivan, 2004a). L'apprentissage olfactif aversif réalisé à P23 n'évoque pas de modifications de l'activité du bulbe olfactif (Shionoya et al., 2006). Ces données montrent que l'activation du bulbe olfactif lors de l'acquisition décroît avec l'âge (**Tableau 6**).

	odeur + LiCl (Shionoya et al., 2006)	odeur + Choc (Moriceau & Sullivan, 2004)
P7-8	O	O
P12	O	N
P23	N	?

Tableau 6 Activation du bulbe olfactif en fonction de l'âge et du conditionnement olfactif. Les sigles O et N correspondent respectivement à une mise en évidence ou non de l'activation du bulbe olfactif lors de l'acquisition.

Les informations provenant des récepteurs olfactifs sont transmises via le bulbe olfactif au cortex olfactif primaire : le cortex piriforme principalement. Même si l'ontogenèse du cortex piriforme est peu connu, il semble fonctionnel dès la première semaine post-natale : le cortex piriforme, comme le bulbe olfactif (Sullivan & Leon, 1987; Sullivan & Wilson, 1995), présente une augmentation de la captation du 2-DG suite à la présentation d'une odeur apprise à P6 (Hall, 1987). De plus, le cortex piriforme est impliqué dans les apprentissages olfactifs dès le plus jeune âge, comme chez l'adulte (Litaudon et al., 1997; Barkai & Saar, 2001; Mouly et al., 2001; Tronel & Sara, 2002). Toutefois, contrairement aux données chez l'adulte, les régions antérieures ou postérieures du cortex piriforme semblent avoir des rôles distincts chez le nouveau-né. Le cortex piriforme antérieur, influencé principalement par les afférences du bulbe olfactif, est activé lors de conditionnements appétitifs (odeur-choc 0.5mA pour des rats de P6) (Roth & Sullivan, 2005; Moriceau et al., 2006; Roth et al., 2006; Raineki et al., 2009), tandis que le cortex piriforme postérieur, influencé principalement par les afférences des structures limbiques incluant l'amygdale, semble être impliqué dans les conditionnements aversifs (odeur-choc 0.5mA pour des rats de plus de 10 jours, odeur-choc 1.2mA et odeur-LiCl dès P6) (Moriceau et al., 2006; Raineki et al., 2009).

Il faut mentionner le locus coeruleus (noyau du tronc cérébral) qui a un rôle modulateur noradrénergique sur un grand nombre de structures antérieures. Les projections noradrénergiques du locus coeruleus au bulbe olfactif sont nécessaires à l'acquisition des apprentissages olfactifs chez le nouveau-né (Sullivan et al., 1992; Sullivan et al., 1994; Langdon et al., 1997; Sullivan et al., 2000b; Moriceau & Sullivan, 2004b). Les caractéristiques physiologiques et cellulaires du locus coeruleus chez le nouveau-né ne sont pas identiques à celles de l'adulte ; le locus coeruleus commence à prendre les caractéristiques de l'adulte vers P10 (Nakamura & Sakaguchi, 1990; Marshall et al., 1991) (**Tableau 7** issu de Roth et al., 2004). Chez le nouveau-né, le locus coeruleus libère plus de noradrénaline et pendant une plus longue durée que chez l'adulte (Nakamura & Sakaguchi, 1990; Rangel & Leon, 1995), ce qui est lié à l'absence d'autorécepteurs inhibiteurs (Nakamura & Sakaguchi, 1990). Ces particularités du locus coeruleus chez le nouveau-né semblent être en partie responsable de l'apprentissage olfactif appétitif suite à l'association odeur-choc jusqu'à P10, puis la maturation du locus coeruleus entraîne la fin de la période sensible permettant l'établissement de l'aversion olfactive (Sullivan, 2001; Roth et al., 2004).

Physiological and cellular characteristic	Infant LC	Adult LC	Ref.
Response to sensory stimuli	More responsive to sensory stimuli, including both noxious and nonnoxious stimuli	Less responsive, particularly to nonnoxious stimuli	Aston-Jones and Bloom (1981); Aston-Jones <i>et al.</i> (1994, 1999); Harley and Sara (1992); Kimura and Nakamura (1985); Nakamura and Sakaguchi (1990); Sara <i>et al.</i> (1995)
Response to repeated sensory stimulation	Fails to habituate	Habituates	Kimura and Nakamura (1985); Nakamura and Sakaguchi (1990); Vankov <i>et al.</i> (1995)
Response to sensory stimulation	20 to 30-s response	Few millisecond response	Kimura and Nakamura (1985); Nakamura and Sakaguchi (1990)
	Electronically coupled LC	Less electronically coupled LC	Christie and Jelinek (1993); Marshall <i>et al.</i> (1991)
	Large output of NE due to excitatory autoreceptors	Smaller output of NE due to emergence of inhibitory autoreceptors	Kimura and Nakamura (1985); Nakamura and Sakaguchi (1990)
	Produces 200–300% increase in olfactory bulb NE levels	Produces no increase in NE olfactory bulb levels	Rangel and Leon (1995)
Tyrosine hydroxylase levels	Greater levels, with a transient peak on postnatal day 10	Decreased levels	Bezin <i>et al.</i> (1994a,b)

Abbreviations: LC, locus coeruleus; NE, norepinephrine.

Tableau 7 Comparaison des caractéristiques physiologiques et cellulaires du locus coeruleus chez le nouveau-né et l'adulte (Roth et al., 2004).

II.1.4.2) Structures de la gustation

Comme pour le système olfactif, de nombreuses modifications se poursuivent au cours du développement dans les structures supportant la gustation. Les axones et les terminaisons axonales du nerf VII (facial) et du nerf IX (glossopharyngien), innervant les cellules gustatives, se développent respectivement de P1 à P25, et de P9 à P45 (Lasiter, 1992). Ces fibres se terminent sur les neurones du noyau du tractus solitaire (NTS) dont les différenciations morphologiques continuent jusqu'à P20, et s'accompagnent de modifications fonctionnelles : les neurones augmentent la fréquence de réponses et répondent à de plus faibles concentrations de stimuli (Mistretta, 1991). Les neurones du NTS projettent leurs axones dans le noyau parabrachial (NPB), les connections entre NTS et NPB s'établissent principalement entre P7 et P45-P60 (Lasiter, 1992). L'association entre le goût (SC) et le malaise (SI) est possible au niveau de ces deux structures, car le NTS et le NPB sont des sites recevant les afférences gustatives et viscérales (Yamamoto & Sawa, 2000). Les informations sensorielles liées au goût sont ensuite relayées par le thalamus gustatif (noyau ventral postéro-médian) avant d'aller vers le cortex gustatif. L'organisation corticale varie au cours du développement postnatal. En effet, les afférences gustatives des aires granulaires (provenant du thalamus et de l'amygdale) et agranulaires (provenant du NTS et du NPB) du cortex insulaire diffèrent avec l'âge, l'aire granulaire augmente avec l'âge et surpasse l'aire

agranulaire après P50. De plus, les neurones du goût de l'aire granulaire sont localisés dans des couches plus profondes avec l'âge : couche 2-3 entre P14 et P20, puis dans la couche 5 chez l'adulte (Ogawa et al., 1991).

II.1.4.3) Structure de l'aversion conditionnée, l'amygdale

L'amygdale est une structure limbique impliquée dans les comportements défensifs par rapport aux signaux environnementaux de danger (Davis, 1994), dans la peur conditionnée comme le conditionnement odeur-choc (Cahill et al., 1999; LeDoux, 2000; Fanselow & Gale, 2003; Maren, 2003), et dans la CTA (Yamamoto et al., 1994; Lamprecht & Dudai, 1996; Ferreira et al., 2006; Bernstein & Koh, 2007) chez l'adulte. Le complexe amygdalien peut être distingué vers le stade embryonnaire 17 (E17), mais il n'est pas totalement mature. Les derniers neurones générés atteignent l'amygdale vers P7 (Bayer, 1980; Bayer et al., 1993), et après le nombre total de neurones ne varie plus, excepté pour une partie du noyau latéral où le nombre de neurones décroît de 30% entre P7 et P14. Cependant la densité neuronale de l'amygdale diminue rapidement entre E20 et P14, ce qui peut être expliqué par une augmentation considérable du volume de l'amygdale (Berdel et al., 1997). Basé sur ces changements de densité neuronale et de nombre total de neurones, Berdel a proposé 3 phases du développement de l'amygdale : - phase I (E20-P7) caractérisée par une augmentation du nombre total de neurones et une diminution de la densité cellulaire. - phase II (P7-P14) : densité et nombre total de neurones décroissent. - phase III : les deux paramètres sont stables (Fig 19) (Berdel et al., 1997).

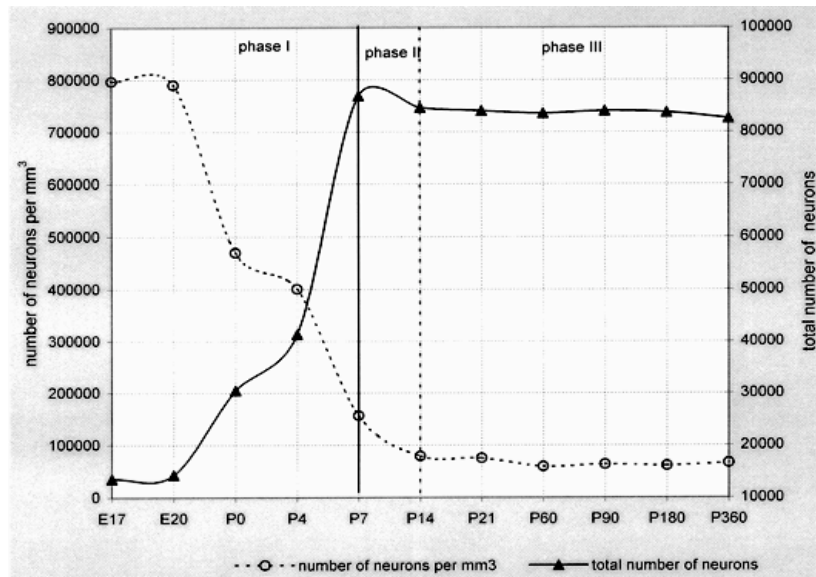


Figure 19 Evolution du nombre total de neurones et de la densité neuronale dans l'amygdale basolatérale au cours du développement. (Issu de Berdel 1997)

De même, la taille des neurones et de leurs noyaux augmente de E17 à P14, pour

enfin se stabiliser et ressembler aux caractéristiques de l'adulte. Les changements cytoarchitectoniques de l'amygdale sont liés au développement de ses connexions avec les autres structures cérébrales, et en particulier avec les structures sensorielles. Les fibres afférentes du bulbe olfactif et du cortex piriforme sont présentes dans le noyau cortical de l'amygdale dès la naissance (Schwob & Price, 1984). Cependant leurs terminaisons synaptiques commencent à se développer vers P5, avec une augmentation importante entre P10 et P20 et un niveau équivalent à celui de l'adulte vers P30 (Mizukawa et al., 1989). L'ensemble de ces données révèle une maturation progressive de l'amygdale au cours du développement post-natal.

L'équipe de Régina Sullivan s'est intéressée à l'implication de l'amygdale dans les apprentissages précoces. Plusieurs de ces études suggèrent que la difficulté des ratons à apprendre et à exprimer une peur est due à l'absence d'amygdale fonctionnelle durant la période néonatale de P1 à P9-10 (Moriceau et al., 2004; Moriceau & Sullivan, 2004b; Moriceau et al., 2006; Roth et al., 2006; Thompson et al., 2008). Premièrement, certains comportements (appris ou spontanés) associés au fonctionnement de l'amygdale ne semblent pas émerger avant P10: l'évitement passif et actif (revue (Myslivecek, 1997)), la peur à une odeur de prédateur : odeur de rat mâle adulte (Takahashi, 1994; Wiedenmayer & Barr, 1998). Deuxièmement, l'amygdale ne semble pas être activée lors de l'apprentissage appétitif « odeur-choc » à P8 (Sullivan et al., 2000a). Cependant, l'amygdale est activée à P12, lorsque le conditionnement « odeur-choc » entraîne un évitement olfactif. Ces résultats suggèrent que lorsque l'évitement n'est pas appris (avant P10), l'amygdale n'est pas impliquée.

Néanmoins, des comportements basés sur l'amygdale peuvent émerger avant P10, en manipulant le taux de corticostérone (Moriceau & Sullivan, 2004a). La période néonatale de P1 à P10 est caractérisée par une hypo-réponse au stress (Levine, 2001): le taux de corticostérone est faible à l'état basal et n'est pas augmenté par certains stimuli stressants, comme un choc (Levine, 1962). L'augmentation du taux de corticostérone par des injections intrapéritonéales permet aux ratons de 8 jours d'exprimer une peur en réponse à une odeur de prédateur (Takahashi & Kim, 1994; Moriceau et al., 2004) et d'apprendre une peur conditionnée (Moriceau & Sullivan, 2004a). Plus précisément, l'injection de corticostérone dans l'amygdale permet d'apprendre une aversion olfactive, et entraîne une activation de l'amygdale lors du conditionnement odeur-choc à P8 (Moriceau & Sullivan, 2004a; Moriceau et al., 2006) ainsi que lors de la réponse de peur à l'odeur de prédateur (Moriceau et al., 2004). De plus, les ratons à P12 déplétés en corticostérone (par adrénalectomie) continuent à apprendre une préférence olfactive suite au conditionnement odeur-choc, alors que les ratons normaux apprennent un évitement à cet âge. Mais le rétablissement en corticostérone chez ces ratons adrénalectomisés leur permet d'apprendre une aversion olfactive. Les ratons déplétés ne présentent pas d'activation de l'amygdale après l'apprentissage,

contrairement aux rats normaux (Moriceau & Sullivan, 2004a; Moriceau et al., 2006). L'ensemble de ces travaux indique que la corticostérone est capable de modifier l'émergence de la peur conditionnée et spontanée, et que l'amygdale peut être fonctionnelle dès P8. Notons qu'une autre étude a montré l'implication de l'amygdale dans un apprentissage dès P6 : des lésions électrolytiques bilatérales de l'amygdale affectent la réponse d'approche suite à un conditionnement « odeur-brossage » (Sullivan & Wilson, 1993).

Même si les études sur l'apprentissage « odeur-choc » suggèrent que l'établissement d'une aversion est corrélé avec l'activation de l'amygdale, cette corrélation ne semble pas parfaite. L'association « odeur-LiCl » entraîne une aversion olfactive dès P2 (Rudy & Cheate, 1977; Haroutunian & Campbell, 1979), cependant l'étude de la captation du 2-DG révèle que l'amygdale n'est pas impliquée ni à P7, ni à P12, mais qu'elle est activée à P23 suite au conditionnement (Shionoya et al., 2006). Ainsi l'ontogenèse de l'implication de l'amygdale dans les apprentissages précoces semble varier en fonction du type de conditionnement (**Tableau 8**): à P6 pour le conditionnement appétitif « odeur-brossage » (Sullivan & Wilson, 1993), à P12 pour l'évitement olfactif (odeur-choc) (Sullivan et al., 2000a), et à P23 pour l'aversion olfactive (odeur-LiCl) (Shionoya et al., 2006).

	odeur+brossage (Sullivan & Wilson, 1993)	odeur+LiCl (Shionoya et al., 2006)	odeur+choc (Sullivan et al., 2000)	odeur+choc + corticostérone (Moriceau & Sullivan, 2004a; Moriceau et al., 2006)	odeur+choc - corticostérone
P6, P7, P8	O <i>approche</i>	N <i>aversion</i>	N <i>approche</i>	O <i>évitement</i>	?
P12	?	N <i>aversion</i>	O <i>évitement</i>	?	N <i>approche</i>
P23	?	O <i>aversion</i>	?	?	?

Tableau 8 Activation de l'amygdale et réponse comportementale en fonction de l'âge et du conditionnement olfactif. Les sigles O et N correspondent respectivement à une mise en évidence ou non de l'activation de l'amygdale. La réponse comportementale est testée 24h après le conditionnement.

Il est clair qu'aucun système neuronal est instantanément à maturité: « il existe un processus de développement prolongé durant lequel on passe d'un état non fonctionnel puis par une variété d'états intermédiaires afin d'aboutir à un système nerveux mature. Un système partiellement développé est néanmoins capable de fonctionner dans certaines conditions pour produire des comportements plus ou moins appropriés à chaque étape particulière du développement » (Spear, 1979).

II.2) Consolidation et reconsolidation d'une mémoire précoce

La mise en évidence des capacités d'apprentissage des nouveau-nés implique un processus d'acquisition des informations et aussi de conservation à long terme. Plusieurs études ont observé une rétention de plusieurs jours d'un apprentissage aversif (Rudy & Cheattle, 1977; Campbell & Alberts, 1979; Haroutunian & Campbell, 1979; Gemberling & Domjan, 1982; Stickrod et al., 1982; Kehoe & Blass, 1986a; Miller et al., 1990; Gruet et al., 2004b) et appétitif (Johanson et al., 1984; Kehoe & Blass, 1989; McLean et al., 2005; Coureaud et al., 2006; Arias et al., 2007). Chez l'adulte, il est largement démontré qu'une mémoire à long terme (de plus de 24h) nécessite un processus de consolidation (cf chapitre consolidation). Cette caractéristique de la mémoire existe-t-elle dès le plus jeune âge?

II.2.1) Mise en évidence de la consolidation de la mémoire chez le nouveau-né

Les premières études sur la consolidation de la mémoire chez le nouveau-né concernent essentiellement la mémoire d'évitement passif chez le poussin de 1 jour (Cherkin, 1969; Bull et al., 1976). Puis au début des années 1990, Hudson et ses collègues montrent l'effet amnésiant d'une hypothermie juste après un apprentissage olfactif (association odeur-tétée sur la mère) chez le lapereau à P2, alors que ce traitement quand il est réalisé 4 heures après l'apprentissage n'altère pas la mémoire testée 24 heures plus tard (Kindermann et al., 1991). Cette étude semble être l'une des premières démonstrations du processus de consolidation de la mémoire chez le nouveau-né mammifère. Quelques travaux sur la consolidation de la mémoire olfactive chez le raton ont suivi ; de plus, l'utilisation d'agents pharmacologiques post-acquisition a permis d'identifier des mécanismes moléculaires impliqués pour la consolidation d'une mémoire précoce (**Tableau 9**).

Divers neurotransmetteurs sont impliqués dans la consolidation de la mémoire précoce. En effet, la mémoire de préférence olfactive du nouveau-né (P5-P8) est perturbée par l'administration post-acquisition d'antagonistes des récepteurs glutamatergique NMDA (Weldon et al., 1997), dopaminergique D1 (Weldon et al., 1991), noradrénergique β -NE (Wilson et al., 1994) ou opioïde (Roth & Sullivan, 2001, 2003; Roth et al., 2006; Roth & Sullivan, 2006).

Comme chez l'adulte (cf chapitre consolidation), la voie cAMP-CREB est indispensable à la consolidation de la mémoire chez le nouveau-né. Les analyses biochimiques ont montré une augmentation du nombre de molécules cAMP (Cui et al., 2007) et de CREB phosphorylées dans le bulbe olfactif suite à des apprentissages olfactifs appétitif à P6 (McLean et al., 1999; Yuan et al., 2000) et aversif à P11 (Zhang et al., 2003a). De plus, le blocage de CREB dans le bulbe olfactif suite au conditionnement « odeur-choc » à P11 perturbe la mémoire à long terme (MLT testée à 24h), mais laisse la mémoire à court terme (MCT testée à 1h) intacte (Zhang et al., 2003a). En procédant de la même manière que pour

CREB, Zhang et al. montrent que les MAPK du bulbe olfactif sont activées après l'apprentissage à P11, et que l'injection intrabulbaire d'un inhibiteur des MAPK perturbe la MLT, mais pas la MCT (Zhang et al., 2003b).

Les travaux de l'équipe de John McLean confirment l'implication de la voie cAMP-CREB lors de l'apprentissage olfactif appétitif (odeur-brossage et odeur-isoprotérénol) à P6, et montrent que l'équilibre entre l'activation de la voie cAMP-CREB d'une part et le taux en noradrénaline (soit libérée après la présentation du stimulus inconditionné, soit administrée comme SI) d'autre part détermine l'établissement ou non de la préférence olfactive (Yuan et al., 2003; McLean et al., 2005; Christie-Fougere et al., 2009). De plus, l'activation de l'AMPc, via l'inhibition de la phosphodiesterase ou de la calcineurine, lors du conditionnement « odeur-isoprotérénol » à P6 entraîne une potentialisation de la préférence olfactive et un prolongement de la mémoire de 24h (sans activation de l'AMPc) à 96h (avec activation de l'AMPc) (McLean et al., 2005; Christie-Fougere et al., 2009). La voie cAMP-CREB semble donc être impliquée dans la consolidation d'une mémoire précoce.

Molécules	Apprentissages	Âge (jours)	Références
Récepteur dopaminergique D1	odeur+brossage	6	Weldon et al., 1991
Récepteur glutamatergique NMDA	odeur+brossage	6	Weldon et al., 1997
Récepteur β -noradrénergique	odeur+lait	5	Wilson et al., 1994
Récepteur opioïdes	odeur+brossage	7-8	Roth & Sullivan, 2006
	odeur+choc	7-8 (mais pas 12-13)	Roth & Sullivan, 2001, 2003
CREB	odeur+choc	11	Zhang et al., 2003a
	odeur+brossage	6	McLean et al., 1999
	odeur-isoprotérénol	6	Yuan et al., 2000
MAPK	odeur+choc	11	Zhang et al., 2003b
Synthèse protéique	goût+LiCl	3	Gruet et al., 2004

Tableau 9 Molécules impliquées dans la consolidation de la mémoire chez le raton.

II.2.2) Consolidation et reconsolidation d'une mémoire précoce de CTA

Toutes ces études ont montré que les mémoires olfactives (appétitives et aversives) requièrent un processus de consolidation, dès le plus jeune âge (P6). En 2004, notre équipe a étendu cette observation en mettant en évidence la consolidation de la mémoire de l'aversion gustative chez des ratons à P3 (Gruet et al., 2004b). Le conditionnement consiste

à présenter du lait aromatisé à la pêche (SC) pendant 10min via une tétine artificielle, puis d'injecter du chlorure de lithium (induisant un malaise, SI) 30min plus tard. L'administration d'anisomycine (inhibiteur de la synthèse protéique) juste après l'acquisition entraîne une perturbation de la mémoire d'aversion lors du test à P6. De plus, l'injection à différents délais post-acquisition révèle un gradient temporel d'efficacité de l'agent amnésiant de l'ordre de l'heure. Ces résultats suggèrent que la consolidation de l'aversion gustative à P3 nécessite la synthèse de nouvelles protéines. Outre la consolidation de la CTA, Gruet et al. ont montré pour la première fois l'existence du processus de reconsolidation de la mémoire chez le nouveau-né. L'administration d'anisomycine pendant une période limitée après un épisode de réactivation (brève présentation du SC) à P5 perturbe la mémoire de la CTA acquise à P3. Ainsi, les processus de consolidation et de reconsolidation de la mémoire sont présents dès l'âge de 3 jours, et requièrent la synthèse de nouvelles protéines pendant une durée de l'ordre de l'heure.

Notons qu'à ce jour, aucun autre travail n'a étudié et donc mis en évidence la reconsolidation d'une mémoire précoce chez le mammifère. Il est donc intéressant d'étudier si ce phénomène de reconsolidation existe dans d'autres types d'apprentissages précoces, notamment pour des tâches appétitives (**voir annexe 4**).

Dès P3, l'aversion gustative conditionnée nécessite la synthèse de nouvelles protéines pour être consolidé et reconsolidé (Gruet et al., 2004b). Mais les mécanismes moléculaires de la consolidation et de la reconsolidation sont-ils identiques chez le nouveau-né et l'adulte ? *Plus précisément, la cascade des MAPK est-elle requise lors de la consolidation et de la reconsolidation d'une CTA à P3 ?*

II.2.3) Comparaison des processus mnésiques chez le nouveau-né et l'adulte

L'ensemble de ces données montre que les propriétés dynamiques et les mécanismes moléculaires de la mémoire, présents chez l'adulte, émergent très précocement au cours du développement. Malgré ces similitudes, quelques différences semblent exister entre la consolidation de la mémoire chez le nouveau-né et chez l'adulte :

- Les opioïdes semblent moduler différemment la consolidation de la mémoire en fonction de l'âge. Les opioïdes sont nécessaires pour la consolidation de l'apprentissage « odeur-choc » chez le raton de 7-8 jours : l'injection post-conditionnement à P7-8 d'un antagoniste des récepteurs opioïdes (naltrexone) à faible dose perturbe la consolidation d'une mémoire appétitive (Roth & Sullivan, 2001, 2003) et à forte dose entraîne la consolidation d'une mémoire aversive (Roth et al., 2006). Or le naltrexone n'affecte pas la mémoire aversive à P12-13 (Roth & Sullivan, 2003). De plus les travaux chez l'adulte montrent que les antagonistes aux opioïdes facilitent généralement la consolidation. Cette facilitation mnésique en bloquant les opioïdes est due à une modification de l'activité noradrénergique : les

antagonistes faciliteraient la consolidation en augmentant la libération noradrenergique, à l'inverse les agonistes perturberaient la mémoire en diminuant la transmission noradrénergique (McGaugh et al., 1993).

- Chez l'adulte, l'existence d'un gradient temporel d'efficacité pour l'anisomycine post-acquisition a largement été démontrée. Cependant, les études sur le conditionnement d'aversion gustative n'ont jamais mis en évidence un tel gradient. L'effet amnésiant de l'inhibiteur de la synthèse protéique est toujours obtenu en administrant le traitement avant ou pendant l'apprentissage, mais jamais en post-essai (Tucker & Oei, 1982; Rosenblum et al., 1993; Houpt & Berlin, 1999; Berman & Dudai, 2001). Or chez le raton de 3 jours, le gradient temporel d'efficacité de l'anisomycine est de l'ordre de l'heure (Gruest et al., 2004b). La comparaison des délais d'efficacité de l'agent amnésiant chez le nouveau-né et l'adulte suggère une différence des caractéristiques temporelles : la consolidation chez le raton semble nécessiter plus de temps que chez l'adulte. *Les processus de consolidation et de reconsolidation évoluent-ils au cours du développement ? Et s'ils évoluent, est-ce brusquement ou bien progressivement avec l'âge ?*

II.3) Oubli d'une mémoire précoce : l'amnésie infantile

Les nouveau-nés sont capables d'apprendre et de former une mémoire à long terme (plusieurs jours), néanmoins les souvenirs consolidés à un âge précoce ne semblent pas persister aussi longtemps que ceux établis chez l'adulte. Ce déficit de rétention des événements précoces, décrit comme un oubli rapide chez le jeune individu, est appelé « amnésie infantile » (Schachtel, 1947; Campbell & Spear, 1972; Pillemer & White, 1989).

II.3.1) Observations chez l'humain

Le terme « amnésie infantile » fut introduit au début du 20^e siècle par Sigmund Freud, en référence à l'oubli des souvenirs chez l'enfant humain. Dans *Psychopathologie de la vie quotidienne* (1901), Freud remarque la pénurie de souvenirs de la prime enfance à l'âge adulte, et indique qu'une amnésie infantile couvre les cinq à huit premières années de vie, avec seulement quelques fragments isolés d'expériences accessibles chez l'adulte (Freud, 1901). Les preuves d'une amnésie infantile proviennent d'enquêtes sur les premiers souvenirs de sujets (Kihlstrom & Harackiewicz, 1982) et d'études plus approfondies d'échantillonnages de souvenirs autobiographiques (Rubin, 1982; Wetzler & Sweeney, 1986). De nombreuses études rétrospectives sur différentes générations rapportent que les premiers souvenirs personnels d'adolescents, de jeunes adultes ou de personnes âgées sont des événements présents entre le 3^{ème} et le 4^{ème} anniversaire et donc qu'aucun souvenir des 3 premières années est l'objet d'un rappel conscient (Dudycha & Dudycha, 1941; Waldfogel, 1948; Kihlstrom & Harackiewicz, 1982). Ensuite, le nombre de souvenirs augmente pour des événements entre 3 et 5-7 ans (Waldfogel, 1948; Ornstein et al., 1997; Bruce et al., 2000) (**Fig 20**). Pour les événements après l'âge de 5-7 ans, il ne semble pas y avoir d'amnésie plus forte que lors d'oubli normal chez l'adulte (Wetzler & Sweeney, 1986). Cette amnésie des événements précédant le 3^{ème} anniversaire n'est pas due à une incapacité à former des souvenirs puisque un grand nombre d'informations (ex : connaissances procédurales) acquises durant l'enfance sont retenues à l'âge adulte (Nadel & Zola-Morgan, 1984; Schacter & Moscovitch, 1984). Même dans le domaine de la mémoire déclarative, des enfants de moins de 3 ans peuvent présenter une mémoire épisodique pendant plusieurs mois (Nelson, 1993).

Les souvenirs d'événements survenant avant l'âge de 3-4 ans ne sont pas seulement rares, ils sont fragmentés et incomplets comparés aux souvenirs plus tardifs. La quantité et la qualité des souvenirs augmentent rapidement entre 3 et 5-6 ans (Waldfogel, 1948; Bruce et al., 2000). Néanmoins, quelques souvenirs sont parfois décrits avant l'âge de 2 ans, et souvent avec de nombreux détails (Loftus & Ketcham, 1994). Les conclusions sur l'exactitude de ces souvenirs sont à nuancer par le fait que fréquemment les membres de la famille racontent les événements importants de l'enfance, et ainsi un accord entre ce que décrivent l'enfant et ses parents serait dû à un partage de souvenirs détaillés et répétés.

Ainsi, les observations chez l'humain présentent deux contraintes : les données sont issues de souvenirs anecdotiques non vérifiables, et les sujets peuvent être exposés à de nouvelles expériences (un rappel incontrôlé ou une interférence) durant l'intervalle de rétention.

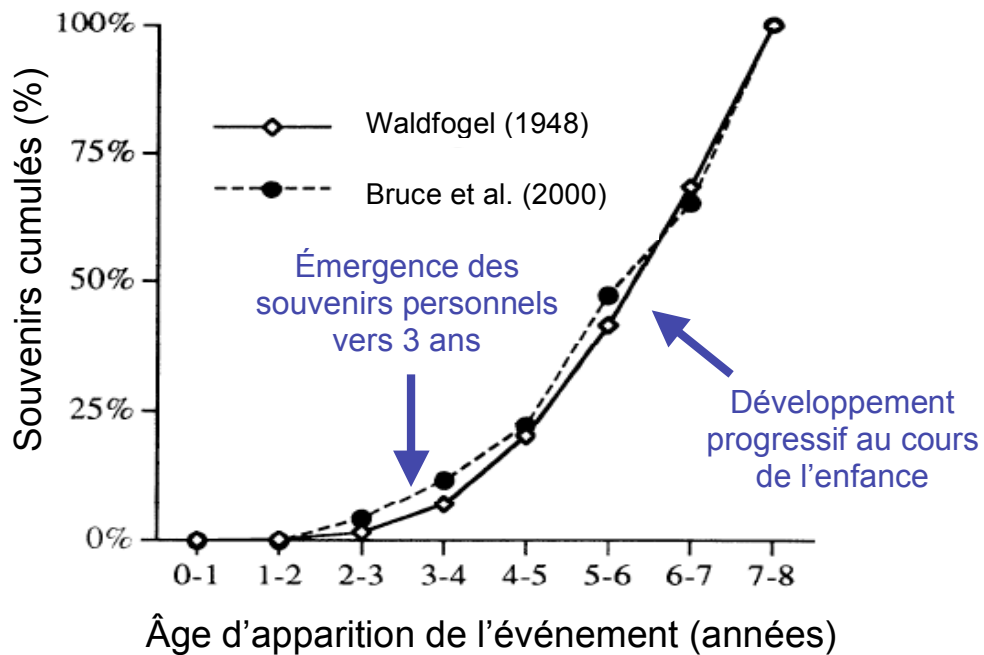


Figure 20 Développement des souvenirs de l'enfance évalués chez l'adulte (issu de Bruce et al., 2000)

II.3.2) Études expérimentales chez l'animal

L'amnésie infantile n'est pas restreinte à l'humain ; elle peut être observée dans différentes espèces animales (Campbell & Spear, 1972). De nombreuses études chez le rat ont montré que les animaux immatures oublient plus rapidement que les animaux matures.

La première démonstration expérimentale de l'amnésie infantile fut réalisée par Campbell & Campbell, en 1962. Dans cette étude, des rats de différents âges (18, 23, 38, 54 et 100 jours) sont entraînés à une tâche d'évitement passif : ils reçoivent des chocs inévitables dans le compartiment noir d'une boîte noire/blanche. La rétention de l'association entre le compartiment noir et le choc est testée après un intervalle de 0, 7, 21 ou 42 jours. Les résultats ne montrent pas de différence de rétention en fonction de l'âge lorsque le test est réalisé juste après l'apprentissage, suggérant que les animaux de chaque âge sont capables d'apprendre et d'exprimer une peur conditionnée à un niveau équivalent. Néanmoins, lorsque le test de rétention est retardé, la rétention s'améliore considérablement en fonction de l'âge du conditionnement. Notamment, les ratons à P18 présentent une amnésie quasiment complète après 7 jours, alors que les rats à P54 et P100 ont une rétention presque parfaite même après 42 jours (Campbell & Campbell, 1962). Ces données montrent que les rats les plus âgés ont une bonne rétention à de longs délais, alors que les plus jeunes présentent un oubli assez rapide.

Depuis 1962, de nombreuses expériences ont confirmé la découverte des Campbell (Riccio et al., 1968a; Riccio & Schulenburg, 1969; Feigley & Spear, 1970; Schulenburg et al., 1971; Stehouwer & Campbell, 1980) et l'ont généralisé à d'autres tâches d'apprentissages: l'échappement (Smith, 1968; Campbell et al., 1974; Egger, 1974), l'évitement actif (Kirby, 1963; Riccio et al., 1968a; Feigley & Spear, 1970), la peur auditive conditionnée (Coulter et al., 1976), la discrimination appétitive instrumentale (Campbell et al., 1968) et l'apprentissage spatial (Brown & Kraemer, 1997).

Ces expériences montrent de manière générale que des rats post-sevrage (de P20 à P40) oublient plus rapidement que des adultes (P60-75 et plus). Contrairement à l'amnésie infantile chez l'humain caractérisée par une perte abrupte des souvenirs précédant le 3^{ème} – 4^{ème} anniversaire, les rats montrent durant une période relativement longue du développement, une augmentation lente et graduelle de la rétention à long terme (ressemblant plus à la période de 3 à 5-7 ans chez l'humain). Néanmoins, une étude chez le rat plus jeune (avant P20) met en évidence un phénomène d'oubli abrupt comparable à l'amnésie infantile chez l'humain avant 3 ans. Xenia Coulter et ses collègues montrent que des rats présentent une bonne rétention d'une peur conditionnée 42 jours après l'association son-choc, lorsque l'apprentissage est réalisé à P17-19 ou P20-22, mais pas à P14-16. Les rats conditionnés à P14-16 se souviennent bien à 5 jours, moins à 10 jours et plus du tout dès 20 jours post-acquisition (Coulter et al., 1976). Les auteurs indiquent que cette nette différence de rétention obtenue entre les jeunes (P14-16) et les plus âgés (P17-19) rappelle fortement la perte des souvenirs (avant 3-4 ans) qui caractérise l'amnésie infantile chez l'humain. Ce qui suggère que c'est seulement l'oubli d'expériences avant P17 chez le raton (plus précoce que ce qui n'est étudié couramment chez le rat) qui est analogue à l'incapacité des humains à se rappeler d'évènements antérieurs à 3 ans.

II.3.3) Hypothèses de l'amnésie infantile

Les premières observations d'amnésie infantile chez l'humain ont entraîné une prolifération des hypothèses pour expliquer ce phénomène. Freud argumente que les souvenirs d'enfance sont activement bloqués par la conscience (refoulement) à cause de leurs contenus sexuel, agressif et impulsif (Freud, 1901). Cette hypothèse n'est pas la seule énoncée par Freud, dans de nombreux écrits, il propose un modèle de « reconstruction sélective », où les souvenirs précoces sont inaccessibles non pas parce qu'ils sont inacceptables pour l'individu, mais plus parce qu'ils sont incompatibles avec les processus cognitifs matures chez l'adulte. Cette incompatibilité entre les processus d'encodage (chez l'enfant) et les processus de rappel (chez l'adulte) rendrait les souvenirs précoces existants (stockés) mais inaccessibles (pas de rappel) (Neisser, 1962). D'autres chercheurs ont proposés diverses possibilités permettant d'expliquer l'amnésie de la petite enfance: les changements dans l'environnement comme l'école (Neisser, 1962), le développement du

langage (Nelson, 1993), le développement du raisonnement causal et temporel (Pillemer & White, 1989; Pillemer et al., 1994), le développement de la perception (Hayne, 1995), le développement du sens de soi, de sa représentation et de son autobiographie (Howe & Courage, 1993; Nelson, 1993; Perner & Ruffman, 1995), et des modifications dans le système nerveux central comme le développement de l'hippocampe (LeDoux, 1996) et la maturation neurocorticale (McKee & Squire, 1993). Bien sûr, ces capacités ne se développent pas indépendamment et leur influence serait conjointe sur la mémoire déclarative.

La plupart de ces hypothèses sont restreintes à l'expérience humaine. D'autres hypothèses prennent en considération les preuves chez l'homme et chez les autres espèces et sont réparties en 2 perspectives : comportementales (liées à des facteurs externes à l'organisme) et neurologiques (liées à des modifications internes dans l'organisme).

II.3.3.1) *Hypothèses comportementales*

- *Interférence rétroactive*. Le postulat de cette hypothèse est que les déficits de mémoire apparaissent lorsque d'autres événements et expériences interfèrent avec l'évènement précédant à rappeler. Plus l'organisme est jeune, plus il y aura d'évènements qui s'accumuleront jusqu'à l'âge adulte, ce qui augmenterait les possibilités d'interférences rétroactives. De même, plus l'intervalle entre l'apprentissage et le test de rétention est grand, plus il y aura possibilité d'interférences, et donc plus il y aura d'oubli (Campbell & Campbell, 1962). Malgré la logique apparente de cette hypothèse, aucune donnée n'a montré qu'un animal privé d'expériences d'apprentissage durant son développement ait une meilleure capacité qu'un animal non privé à se rappeler des expériences précoces (Sackett, 1970; Harlow et al., 1971). Cependant, l'équipe de Guillaume Ferreira a montré que l'impact à long terme d'un apprentissage précoce dépendait de la dernière expérience juste avant le sevrage : l'odorisation de la mère de P0 à P18 a un effet sur le comportement adulte lorsque le sevrage a lieu à P18, mais si on laisse les rats 1 semaine de plus avec leur mère (sans odorisation jusqu'à P25) alors l'expérience précoce n'a pas d'effet à long terme (Sevelinges et al., 2009c). De même, Parsons et Spear ont montré que des rats soumis à un nombre important d'expériences durant le développement (avec un environnement enrichi) ont une rétention d'apprentissage précoce plus faible que ceux n'ayant pas eu d'expériences intermédiaires. La perturbation de la rétention est néanmoins comparable à celle observée chez le rat adulte exposé aux mêmes expériences (Parsons & Spear, 1972). Ces résultats montrent que les nouveau-nés sont sensibles à l'interférence rétroactive, mais l'interférence n'apparaît pas être différemment efficace en fonction de l'âge, suggérant que l'amnésie infantile en soi ne résulterait pas de l'interférence.

- *Changement de taille*. La diminution de la rétention avec l'âge pourrait être due à l'augmentation de la taille de l'animal durant l'intervalle de rétention. Lors du test de rétention, les animaux n'arrivent pas à répondre de manière appropriée car ils ne reconnaissent pas les indices pertinents, étant donné que le matériel n'est plus approprié à la taille de l'organisme. Cette hypothèse ne peut pas expliquer pourquoi un enfant de 10 ans, même si il a considérablement grandi depuis ses 5 ans, peut toujours se rappeler d'événements datant de 5 ans ; alors qu'un enfant de 5 ans n'a pas de souvenirs d'événements inférieurs à 2 ans, en dépit du fait que le taux de croissance est moindre. Cette hypothèse ne semble pas valable chez l'humain, néanmoins elle est envisageable pour des espèces animales. Coulter montre que la perte de mémoire graduelle observée chez le rat par Campbell et Campbell (1962) est corrélée avec l'augmentation de la taille du rat durant le développement (**Fig 21**) (Coulter, 1979).

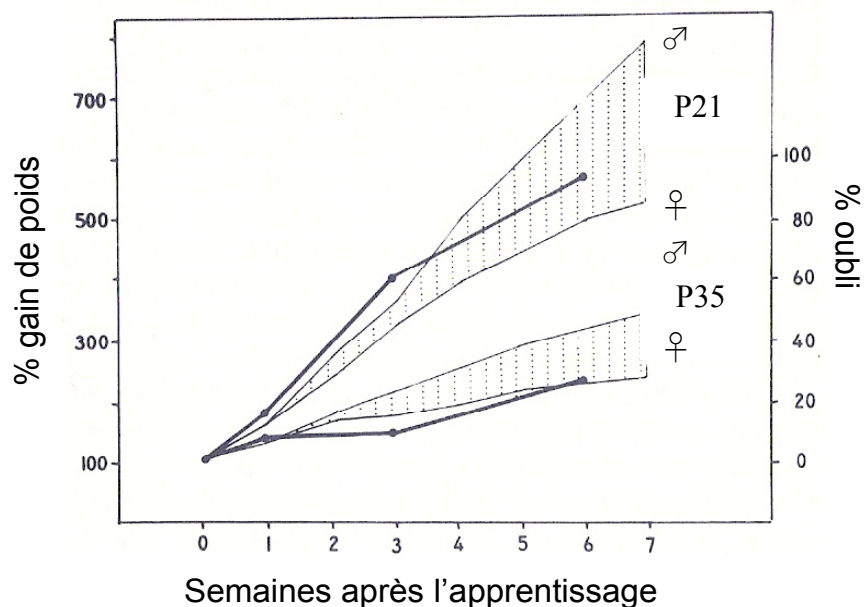


Figure 21 Influence du changement de taille sur l'amnésie infantile. Corrélation positive entre le pourcentage du gain de poids chez le rat mâle et femelle (ligne supérieure et inférieure de l'aire rayée) relatif au poids original à P21 et P35, et le pourcentage d'oubli d'une tâche d'évitement passif 1, 3 et 6 semaines après l'apprentissage à P21 et P35 (issu de Coulter 1979).

Cette hypothèse du changement de taille pourrait être valable pour de nombreuses tâches utilisant des indices spatiaux (ex : la taille de l'appareil). Néanmoins, des études ont essayé d'éliminer cette possibilité en augmentant la taille de l'appareil durant le test de rétention proportionnellement à la croissance de l'animal (Thompson et al., 1965; Feigley & Spear, 1970). Cette procédure n'a pas réduit les déficits de rétention, suggérant que le changement de taille n'est pas déterminant.

II.3.3.2) *Hypothèses « neurologiques »*

L'hypothèse de l'immaturation neuronale (Campbell & Spear, 1972) est basée sur la simple observation que les nouveau-nés montrant des déficits de mémoire précoce sont issus d'espèces (humain, singe, rat) où l'individu naît avec un système nerveux immature. Pour toutes ces espèces, les nombreux changements neurologiques prenant place durant la période précoce pourraient être le support de l'émergence des capacités de rétention à long terme. La comparaison des capacités mnésiques entre espèces ayant une maturité neuronale différente conforte cette idée. Contrairement au rat, le cobaye a un développement du système nerveux central qui est réalisé en grande partie dès la naissance (Dobbing, 1974). Par des indices neurologiques et comportementaux, le cobaye nouveau-né semble comparable à un rat de 30-40 jours d'âge. Lorsqu'ils sont testés à différents intervalles après un conditionnement d'évitement passif, les jeunes cobayes ont une bonne rétention, identique à l'adulte, même pour des souvenirs appris à l'âge de 3-4 jours (Campbell et al., 1974), ce qui n'est pas le cas chez le raton. Byron Campbell et Norman Spear suggèrent deux hypothèses de modifications neuronales : 1) Les structures supportant la trace mnésique ne sont pas fonctionnelles au moment de l'apprentissage : la mémoire ne peut être consolidée, ou si elle l'est, des modifications nerveuses ne permettent pas son maintien. Dans ces deux cas, l'information est perdue (déficit de stockage et/ou de maintien). 2) Le souvenir est consolidé, mais les structures en se développant modifient l'accès à l'information initiale de sorte que celle-ci n'est plus retrouvable (déficit de rappel).

- *Déficit de stockage et/ou de maintien.* Les premières expériences suggéraient que l'amnésie infantile était liée à une incapacité à apprendre pour les organismes immatures (Cornwell & Fuller, 1960). Cependant, quelques années plus tard, de nombreuses preuves ont contredit cette vue (cf chapitre II.1.2 *Apprentissages précoces*). Le problème n'est pas si l'enfant peut ou non apprendre, mais s'il apprend suffisamment pour retenir (en supposant que la rétention est une fonction directe de la force de l'apprentissage). Quelques expériences ont montré que l'administration lors de l'acquisition d'agents pharmacologiques, connus pour faciliter la mémorisation chez l'adulte, engendre une augmentation des performances mnésiques et un prolongement de la rétention à long terme d'un apprentissage précoce, mais ce prolongement ne dure que quelques jours (Gold et al., 1982; Flint & Riccio, 1999; McLean et al., 2005; Christie-Fougere et al., 2009). Ces données peuvent induire l'idée que les capacités d'apprentissage ne sont pas optimales chez le nouveau-né, mais sont-elles vraiment différentes de chez l'adulte ? Nagy (Nagy, 1979) remarque que le seul cas où des différences de capacités d'apprentissage ont été observées implique des sujets âgés de moins de 20 jours (état de développement où les capacités perceptuelles et motrices sont les plus limitées) dans des tâches opérantes comme l'échappement (Nagy et al., 1972) et l'évitement passif (Riccio et al., 1968a; Schulenburg et

al., 1971); des souriceaux de 13 jours apprennent plus rapidement l'échappement que ceux de 9 jours (Nagy et al., 1972). Néanmoins, la plupart des investigateurs n'ont pas trouvé de différences dans le taux d'apprentissage en fonction de l'âge, pour l'échappement (Crockett & Noble, 1963; Smith, 1968), l'évitement passif (Feigley & Spear, 1970; Campbell et al., 1974), l'évitement actif (Kirby, 1963; Feigley & Spear, 1970) et la discrimination appétitive (Campbell et al., 1968). Ces études montrent qu'un faible taux d'acquisition des jeunes ne peut expliquer une faible rétention à long terme. Cette conclusion est renforcée par des études chez des jeunes rats surentraînés par rapport aux adultes pour assurer un niveau d'apprentissage au moins équivalent (Feigley & Spear, 1970; Schulenburg et al., 1971). Malgré le surapprentissage des jeunes, l'amnésie infantile persiste.

Si la force de l'apprentissage ne peut expliquer l'amnésie infantile, il est possible que des différences de stratégies d'apprentissage puissent l'expliquer. Dans une même situation, les nouveaux-nés sont peut-être prédisposés à répondre à certains stimuli, à développer des réponses, ou à acquérir des associations différentes que les adultes. En effet, les stimuli modaux et amodaux semblent être utilisés différemment en fonction de l'âge : l'adulte serait capable de discriminer parmi ses entrées sensorielles et donc utiliserait les propriétés modales des stimuli alors que le nouveau-né serait incapable de dissocier différents stimuli sensoriels contemporains et les utiliserait donc de façon amodale (Gibson, 1983; Spear & Kucharski, 1984; Spear & Molina, 1987; Mellon et al., 1991; McKinzie & Spear, 1995). Par exemple, McKinzie et Spear ont montré que des rats en pré-sevrage expriment une forte aversion à la fois au contexte et au son après un conditionnement « son-choc » (McKinzie & Spear, 1995), alors que l'adulte apprend de manière sélective un stimulus (son ou contexte) en fonction de la contingence entre le son et le choc (Odling-Smee, 1975; Marlin, 1981). De même, suite à une association entre une odeur d'éthanol (présentée en distale) et une injection de LiCl, des rats de 21 jours présentent une réponse d'évitement olfactif (test à l'odeur) et une réponse d'aversion à l'ingestion d'éthanol (test de consommation), alors que cet apprentissage chez l'adulte n'affecte que la réponse à l'odeur (Molina et al., 1985). Néanmoins, l'étude de Hinderliter et Misanin indique que la présentation d'une odeur associée à un goût lors du conditionnement d'aversion gustative potentialise l'aversion vis-à-vis du goût chez l'adulte, tandis que l'odeur est en compétition avec le goût pour l'association de la CTA chez le jeune (Hinderliter & Misanin, 1988). Ces données montrent qu'un organisme immature peut apprendre avec des stratégies différentes de ceux de l'adulte, or il est possible que les indices qui sont les plus significatifs pour les rats soient ceux qui sont oubliés le plus vite. James Miller et ses collaborateurs ont montré qu'en fonction des modalités sensorielles utilisées (et en fonction de l'âge de l'apprentissage), les rats expriment ou non une réponse conditionnée. Un premier apprentissage est réalisé à P4 et P8 en associant une odeur de méthyl salicylate (SC1) avec un malaise (SI) induit par du LiCl, et 4 jours plus tard, les mêmes rats sont soumis à un conditionnement de second

ordre par association de l'odeur (SC1) avec une texture douce (SC2), naturellement attractive. Lors du test de rétention olfactif, les rats conditionnés à P8 présentent une aversion pour l'odeur conditionnée, tandis que les rats conditionnés à P4 ne montrent aucune aversion. Cependant lors du test de rétention tactile, les rats des deux âges évitent la texture douce. L'absence d'aversion à l'odeur observée à P4 ne correspond donc pas à une absence d'acquisition, puisque les mêmes rats évitent la texture avec laquelle l'odeur a été appariée dans un paradigme d'apprentissage de second ordre (Miller et al., 1990). Ces données expérimentales suggèrent que l'amnésie infantile est plus dépendante des composantes de la mémoire que du niveau de développement de l'animal.

Nous avons discuté jusqu'à présent de l'amnésie infantile à long terme (plusieurs jours), mais l'oubli à court terme (quelques minutes/heures) est également plus rapide chez le nouveau-né que chez l'adulte (Spear et al., 1990). Cette déficience de la mémoire à court terme est supportée par 2 types de données. Premièrement, la rétention d'un simple couplage entre le SC (contexte ou odeur) et le SI (choc) décroît plus rapidement chez le jeune que chez le rat adulte, dès les premières minutes suivant l'apprentissage (Miller et al., 1989; Miller & Spear, 1989). Deuxièmement, l'acquisition du conditionnement de trace est retardée chez le nouveau-né par rapport à l'adulte en fonction du délai entre le SC et le SI, que cela soit lors d'un conditionnement impliquant le système olfactif (Rudy & Cheatele, 1979), gustatif (Gregg et al., 1978; Steinert et al., 1979), auditif ou visuel (Moye & Rudy, 1985). Cet oubli rapide à court terme semble en accord avec l'hypothèse d'un déficit de maintien de l'information à court terme puis à long terme, et peut donc participer au phénomène d'amnésie infantile.

- *Déficit de rappel de l'information.* La distinction entre une mémoire totalement absente et une mémoire présente mais inaccessible fut suggérée pour expliquer l'amnésie infantile par Freud (Freud, 1901), et décrite chez l'homme adulte par Tulving & Pearlstone (Tulving & Pearlstone, 1966). Pour différencier ces deux aspects de la mémoire, on présente un indice de rappel aux sujets; si la mémoire est restaurée, on peut conclure que l'oubli observé en l'absence de l'indication est dû à un défaut de rappel et non de stockage (Spear, 1973). Campbell et Jaynes furent les premiers à démontrer qu'un rappel pouvait atténuer l'oubli d'une mémoire précoce. Dans leur étude, deux groupes de rats de 25 jours sont entraînés à une tâche d'évitement passif (exposition au contexte où ils reçoivent plusieurs chocs) et un groupe contrôle est seulement exposé au contexte (les rats ne reçoivent pas de chocs). L'un des deux groupes conditionnés et le groupe contrôle sont soumis à une procédure brève de « rappel », consistant à exposer les rats au contexte avec un simple choc 1 fois par semaine. Lors du test de rétention, 4 semaines plus tard, le groupe ayant reçu l'apprentissage initial et les rappels exprime une aversion plus importante que le groupe ayant seulement reçu le conditionnement initial (ce dernier présente une amnésie infantile).

La forte performance du groupe « rappelé » n'est pas due au fait que les rappels ont entraîné un apprentissage suffisant pour produire une aversion, puisque le groupe contrôle recevant uniquement les rappels mais pas l'apprentissage initial ne présente pas d'aversion (Campbell & Jaynes, 1966). Cette découverte de la réinstallation de la mémoire précoce fut étendue à d'autres tâches d'apprentissage (Campbell & Jaynes, 1969; Coulter, 1979; Brown & Kraemer, 1997; Carman et al., 2002) et pour différentes espèces (Galea et al., 1994), incluant l'humain (Hoving et al., 1972; Rovee-Collier et al., 1999; Hartshorn, 2003).

Un souvenir précoce peut également être récupéré en exposant l'animal au stimulus conditionné seul (Silvestri et al., 1970). Mais dans ce cas, l'effet est considérablement plus faible que lorsqu'il y a complet recouplage du SC et du SI (réinstallation) (Adler et al., 2000; Hildreth et al., 2003). L'effet de la réactivation sur la récupération d'une mémoire précoce oubliée a été démontré par l'administration de différents indices de rappel avant le test de rétention. Les traitements de réactivation efficaces incluent : le contexte environnemental de l'apprentissage (Silvestri et al., 1970; Richardson et al., 1986; Richardson et al., 1988; Butler & Rovee-Collier, 1989; Miller et al., 1991), le stimulus conditionné (Miller et al., 1991), le stimulus inconditionné (Spear & Parsons, 1976; Haroutunian & Riccio, 1977; Spear & Smith, 1978; Rovee-Collier et al., 1980; Weihmuller & Collier, 1990), le contexte interne pharmacologique (Richardson et al., 1983; Richardson et al., 1986), des stimulants comme l'hormone adrénocorticotrope (Haroutunian & Riccio, 1979), la noradrénaline (Haroutunian & Riccio, 1977), le glucose (Flint & Riccio, 1997), un agoniste GABA (Kim et al., 2006), et un antagoniste des opioïdes (Weber et al., 2006). L'ensemble de ces données sur la restauration de la mémoire indique que la mémoire précoce est encore présente, mais inaccessible dans certaines conditions. Mais est-ce le cas pour les mémoires formées très précocement (avant P20 chez le rat)? Spear et ses collègues ont montré une augmentation progressive de l'effet de la réactivation avec l'âge de l'animal. Les déficits de rétention à long terme présentés par des rats entraînés à l'évitement passif à P21 sont plus faciles à compenser par la réactivation que ceux de rats à P16 (Spear & Parsons, 1976). De même la réactivation atténuée plus fortement l'oubli chez des rats ayant appris à P12 qu'à P9, alors qu'elle n'a pas d'effet chez des rats P7 (Spear & Smith, 1978). Cette difficulté à atténuer l'amnésie infantile est-elle due à une réelle inefficacité de la réactivation (la trace n'est plus présente) ou bien est-ce que le traitement de réactivation n'est pas approprié ? Cette question du déficit de stockage ou du déficit de rappel reste non résolue.

Quelque soit l'interprétation (déficit de stockage ou de rappel), ces hypothèses du changement « neurologique » supposent que l'émergence de la mémoire à long terme serait corrélée avec la maturation du système nerveux central (myélinisation, différenciations cellulaires, neurotransmission, cascades moléculaires) (Campbell & Spear, 1972). Néanmoins, une telle corrélation n'a jamais été clairement démontrée et les causes

neuronales de l'amnésie infantile restent inconnues. Notons que cette hypothèse neurologique impliquerait que l'oubli des expériences précoces ne serait pas dû aux mêmes causes que l'oubli chez l'adulte.

II.3.4) Amnésie infantile de l'aversion gustative conditionnée

De nombreux travaux ont mis en évidence le phénomène d'amnésie infantile, néanmoins peu d'études se sont intéressées à la rétention à long terme d'un apprentissage très précoce (avant P20). Or Coulter a suggéré que l'amnésie infantile d'apprentissages avant P17 chez le rat correspond à l'amnésie infantile chez l'humain (Coulter, 1979). Il est donc intéressant d'étudier la rétention à long terme d'une mémoire précoce (de la naissance au sevrage). Pour cela, il est indispensable d'utiliser une tâche d'apprentissage réalisable dès le plus jeune âge, qui ne soit pas affectée par l'augmentation de la taille de l'animal durant l'intervalle de rétention, afin d'éliminer le facteur comportemental, et dont le niveau d'apprentissage est équivalent en fonction de l'âge. Un conditionnement qui semble remplir toutes ces conditions est l'aversion gustative conditionnée (CTA) réalisable dès P3 (Gruet et al., 2004b).

De plus, l'étude de la résistance à l'oubli de la CTA est intéressante car il s'agit d'un apprentissage robuste chez l'adulte, mais également chez le jeune rat. Klein et al. ont montré que des jeunes rats à P23 et P65 ont un niveau d'aversion identique 28 jours après l'acquisition (Klein et al., 1977). Néanmoins, en comparant à des adultes plus âgés ou avec un délai de rétention plus long, d'autres travaux ont montré une rétention de l'aversion plus faible chez le jeune (P20-P23) que chez l'adulte (Steinert et al., 1980; Schweitzer & Green, 1982; Guanowsky et al., 1983). Ces résultats (**Tableau 10**) suggèrent que la rétention de la CTA augmente avec l'âge.

	Rétention à 25-28 jours	Rétention à 60 jours	Références
P18		+ faible que P90-130	Steinert et al., 1980
P20	+ faible que P60		Schweitzer & Green, 1982
P22-23	+ faible que P140		Guanowsky & Misanin, 1983
P23	identique P65		Klein et al., 1977

Tableau 10 Comparaison de la rétention de l'aversion gustative 25-28 jours et 60 jours après le conditionnement en fonction de l'âge de l'apprentissage.

Deux études complémentaires se sont intéressées à l'évolution de la rétention de la CTA acquis entre P10 et P20. Byron Campbell et Jeffrey Alberts ont réalisé une CTA chez des rats à P10, P12, P15 et P20, puis ils ont testé la rétention 5 et 10 jours plus tard. Les

ratons de tous les âges présentent une aversion 5 jours après le conditionnement, mais l'aversion est plus faible à P10 qu'à P12, et qu'à P15-P20. Lors du test de rétention à 10 jours, les ratons P15 et P20 ont toujours une forte aversion, alors que les ratons P12 ont une plus faible aversion (par comparaison au test réalisé à 5 jours), et les ratons P10 n'ont plus d'aversion (Campbell & Alberts, 1979). Laura Schweitzer et Leonard Green ont conforté ce résultat en faisant un conditionnement en deux essais à P9-10, P12-13, P14-15, et P16-17, et en les testant 25 jours plus tard. Lors du test de rétention, les ratons conditionnés à P9-10 et à P12-13 ne présentent pas d'aversion alors que les ratons conditionnés à P14-15 et P16-17 ont une aversion. De plus, ils ont testé la rétention à 13 jours et 19 jours après un double conditionnement à P12-13 : les ratons ont une forte aversion à 13 jours, et une aversion plus faible à 19 jours (Schweitzer & Green, 1982). L'ensemble de ces travaux indique que les ratons dès P10 peuvent acquérir et exprimer une aversion gustative conditionnée, et que la rétention de la CTA à plus de 3 semaines apparaît avant le sevrage.

Le regroupement des travaux sur le conditionnement d'aversion gustative chez le nouveau-né (**Fig 22**) suggère une évolution de la rétention de la mémoire en fonction de l'âge du conditionnement. Il est à noter que des expériences fœtales semblent être retenues plus longtemps que des expériences néonatales, suggérant l'existence d'une période critique juste avant la naissance. Notre équipe a montré que des ratons conditionnés à E18-19 (2 essais de CTA) expriment une faible aversion 42 jours après l'acquisition (Gruest et al., 2004a). Ce maintien à long terme de la CTA ne semble pas être dû uniquement au double conditionnement, puisque des ratons à P9-10 ou à P12-13 ayant reçu 2 essais de conditionnement ont un oubli total 25 jours plus tard (Schweitzer & Green, 1982). Ces données suggèrent que les conditions intra-utérines facilitent le maintien de la mémoire à long terme.

D'autres études ont confirmé un oubli rapide de la CTA acquise lors de la période post-natale: les ratons conditionnés à P6 retiennent l'aversion 1 j mais pas 10 j (Kraemer et al., 1988), les P10 retiennent 5j mais pas 10j (Campbell & Alberts, 1979), les P12 retiennent 3j mais pas 10j (Dray & Taylor, 1982), les P12-13 retiennent 19j mais pas 25j (Schweitzer & Green, 1982). L'oubli observé 10 jours après le conditionnement à P10 (Campbell & Alberts, 1979) et à P12 (Dray & Taylor, 1982) est en contradiction avec l'aversion obtenue aux mêmes âges dans d'autres études (pour les P10 : Martin & Alberts, 1979 et pour les P12 : Campbell & Alberts, 1979; Kraemer et al., 1988). De même, les ratons à P6 ont oublié 10j après l'acquisition (Kraemer et al., 1988), alors que Kehoe & Blass montrent que des ratons conditionnés à P5 expriment une aversion 16 jours plus tard (Kehoe & Blass, 1986b). Toutes ces différences montrent qu'il est important de comparer des données issues de conditions identiques. Ces résultats discordants sont issus d'études utilisant différentes conditions d'établissement du conditionnement (durée du SC, technique d'administration du SC, doses

de LiCl), et de test (simple ou double choix, durée du test). Par exemple, l'apprentissage à P6 de l'association goût via une canule pendant 3min et LiCl (0.3M) n'est pas exprimé lors d'un test d'ingestion du SC via la canule (Kraemer et al., 1988), alors que l'association goût via une canule pendant 30min et LiCl (0.3M) est retenue pendant au moins 16 jours lorsqu'on teste la prise du SC dans une soucoupe (Kehoe & Blass, 1986a).

Ces données montrent que l'étude de l'amnésie infantile nécessite que l'acquisition et la rétention soient réalisées dans des conditions fixes au cours du développement post-natal. C'est en réalisant le même protocole de CTA à différents âges que nous tenterons de répondre à la question : **Comment évolue la résistance à l'oubli au cours du développement?**

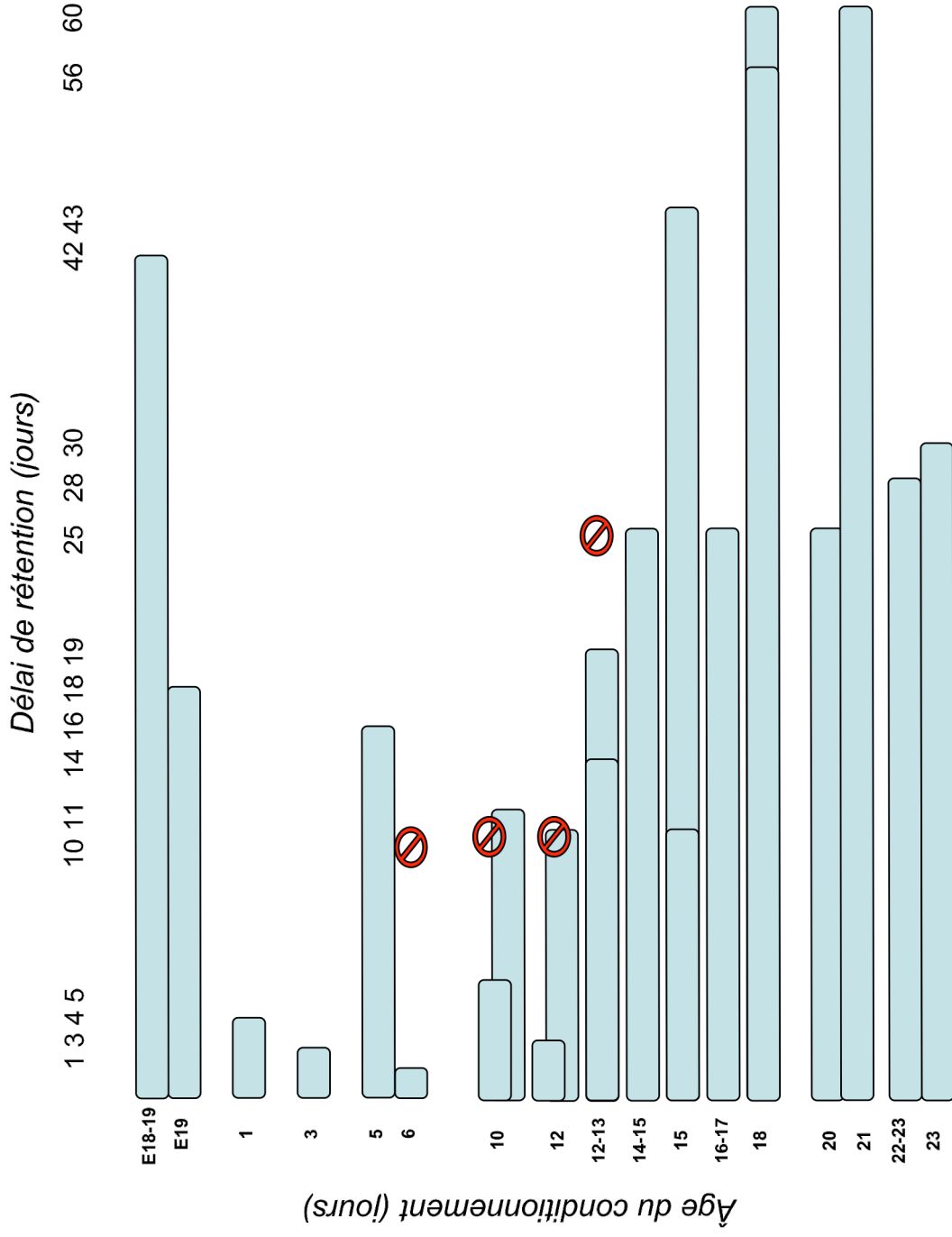


Figure 22 Délai de rétention de l'aversion gustative conditionnée chez le raton en fonction de l'âge de l'apprentissage. Seules les expériences ayant mis en évidence l'établissement de la CTA (à plus ou moins court terme) sont reportées dans cette figure. Les colonnes bleues indiquent jusqu'à quel délai de rétention l'aversion a été observée, et le sigle rouge correspond à l'absence d'expression de la CTA à ce délai. Lorsque plusieurs expériences ont été réalisées au même âge (que les résultats soient cohérents ou non), les symboles se chevauchent.

III) Objectifs de ma thèse

Notre travail expérimental s'est intéressé à la dynamique de la mémoire chez le raton. Chez le nouveau-né, peu de choses sont connues des deux aspects essentiels de la mémoire : la formation et la stabilisation de la trace d'une part, et la rétention du souvenir au cours du temps d'autre part. Nous avons donc choisi d'explorer ces deux points : la dynamique de la consolidation et de la reconsolidation, et la dynamique de la rétention à long terme.

Chapitre 1 : Dynamique de la stabilisation de la mémoire précoce

Notre équipe a précédemment montré que la consolidation et la reconsolidation de la mémoire d'aversion gustative existent déjà chez le nouveau-né, mais ces processus sont-ils totalement identiques à ceux de l'adulte ?

- Au niveau des mécanismes moléculaires, la cascade des MAPK est-elle nécessaire à la consolidation et à la reconsolidation d'une mémoire chez le nouveau-né, comme elle l'est chez l'adulte ? (**article 1**)

- Les cinétiques de la consolidation et de la reconsolidation évoluent-elles au cours du développement ? Et si elles évoluent, est-ce brusquement ou bien progressivement avec l'âge? (**article 2**)

Chapitre 2 : Dynamique de l'expression de la mémoire précoce

Nous proposons d'analyser l'évolution de l'expression d'une mémoire précoce pendant la période post-natale, et au cours de la vie.

- Lors de l'apprentissage « odeur-choc », que devient la réponse d'approche acquise à P6 lorsqu'on la teste à P13 ; Est-ce que la réponse comportementale correspond à l'âge du conditionnement (approche) ou bien à l'âge du test (évitement)? (**article 3**)

- Comment évolue la rétention à long terme d'une mémoire précoce ? La résistance à l'oubli de l'aversion conditionnée apparaît-elle de façon abrupte ou progressive au cours du développement ?

De plus, nous nous sommes intéressés à l'hypothèse du déficit de rappel pour expliquer l'amnésie infantile. Une expérience précoce « oubliée » peut-elle quand même faciliter un réapprentissage chez le jeune adulte ? (**article 4**)

CHAPITRE 1

Dynamique de la stabilisation de la mémoire précoce.

ERK activation is required for consolidation and reconsolidation of memory at an early stage of ontogenesis

Languille S., Davis S., Richer P., Alcacer C., Laroche S., Hars B. (2009)

European Journal of Neuroscience, *sous presse*.

Notre équipe a montré que la consolidation et la reconsolidation d'une mémoire d'aversion gustative conditionnée (CTA) existent chez le nouveau-né, et que ces processus nécessitent la synthèse de nouvelles protéines (Gruest et al., 2004b), comme chez l'adulte. En amont de la synthèse protéique, les avancées en biologie moléculaire ont permis de mettre en évidence les voies de signalisations intra-cellulaires qui sont impliquées chez l'adulte dans la consolidation de la mémoire. Parmi celles-ci la voie des MAPK/ERK apparaît déterminante, et quelques expériences récentes (Kelly et al., 2003; Duvarci et al., 2005) indiquent que cette cascade serait également impliquée dans la reconsolidation de la trace après son rappel. À partir de ces données, nous avons testé l'hypothèse que la cascade des MAPK pourrait être également impliquée dans les processus de mémorisation chez le raton âgé de 3 jours.

Dans une première série d'expériences, nous avons injecté un inhibiteur spécifique des MAPK/ERK (SL327) en intrapéritonéal lors de l'acquisition ou après la réactivation dans notre paradigme de CTA. La rétention de la CTA est testée à court terme (3 heures) ou à long terme (3 jours après l'acquisition, ou 2 jours après la réactivation). Nos résultats montrent que le SL327 administré post-acquisition ou post-réactivation bloque la stabilisation de la mémoire à long terme, mais laisse intacte la mémoire à court terme. **La consolidation et la reconsolidation requièrent l'activation de la cascade des MAPK.**

Dans une seconde série d'expériences, nous avons voulu voir si l'efficacité du SL327 pour bloquer l'aversion était ou non soumise à un gradient temporel d'efficacité post-acquisition et post-réactivation. Pour cela nous avons appliqué le SL327 à différents délais après l'association SC-SI ou après la réactivation: immédiatement, 30 minutes, 1 heure ou 6 heures. L'effet amnésiant du SL327 est total lorsqu'il est administré juste après, partiel à 30 min et à 1 h, et nul à 6 h. L'effet amnésiant de l'inhibiteur des MAPK/ERK diminue puis disparaît quand on retarde son application après l'apprentissage ou après l'épisode de réactivation. **L'activation des MAPK est nécessaire pendant une durée de l'ordre de l'heure pour la consolidation et la reconsolidation de la mémoire.**

Chez l'adulte, la formation de la CTA implique l'activation des MAPK dans l'amygdale (Swank, 2000). C'est pourquoi, dans une troisième série d'expériences, nous avons étudié

- Résultats -

l'activation des MAPK dans l'amygdale suite à l'acquisition et à la réactivation de la mémoire de la CTA chez le raton. L'analyse par western-blot montre une hyperphosphorylation de ERK1 et ERK2 dans l'amygdale 20 min après l'acquisition, mais pas après la réactivation. **La consolidation, mais pas la reconsolidation, de la CTA chez le raton implique l'activation des MAPK dans l'amygdale.**

L'activation de la cascade des MAPK/ERK est requise pour la consolidation et la reconsolidation d'une mémoire dès le 3ème jour postnatal.

Extracellular signal-regulated kinase activation is required for consolidation and reconsolidation of memory at an early stage of ontogenesis

Solène Languille,^{1,2} Sabrina Davis,^{1,2} Paulette Richer,^{1,2} Cristina Alcacer,^{1,2} Serge Laroche^{1,2} and Bernard Hars^{1,2}

¹Université Paris-Sud, UMR 8620, Université Paris-Sud, Bât. 446, F-91405 Orsay, France

²Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, CNRS UMR 8620, Université Paris-Sud, Bât. 446, F-91405 Orsay, France

Keywords: amygdala, aversive conditioning, memory formation, mitogen-activated protein kinase, neonatal rat

Abstract

The ability to form long-term memories exists very early during ontogeny; however, the properties of early memory processes, brain structures involved and underlying cellular mechanisms are poorly defined. Here, we examine the role of extracellular signal-regulated kinase (ERK), a member of the mitogen-activated protein kinase/ERK signaling cascade, which is crucial for adult memory, in the consolidation and reconsolidation of an early memory using a conditioned taste aversion paradigm in 3-day-old rat pups. We show that intraperitoneal injection of SL327, the upstream mitogen-activated protein kinase kinase inhibitor, impairs both consolidation and reconsolidation of early memory, leaving short-term memory after acquisition and after reactivation intact. The amnesic effect of SL327 diminishes with increasing delays after acquisition and reactivation. Biochemical analyses revealed ERK hyperphosphorylation in the amygdala but not the hippocampus following acquisition, suggesting functional activation of the amygdala as early as post-natal day 3, although there was no clear evidence for amygdalar ERK activation after reactivation. These results indicate that, despite an immature brain, the basic properties of memory and at least some of the molecular mechanisms and brain structures implicated in aversion memory share a number of similarities with the adult and emerge very early during ontogeny.

Introduction

To date, most of our current knowledge about the properties and mechanisms of memory processes derive from studies in the adult and little is known about memory processes at the beginning of life. One main characteristic of long-term memory is that the memory trace stabilizes or consolidates progressively after acquisition (Müller & Pilzecker, 1900; McGaugh, 2000), demonstrated by the sensitivity and vulnerability of the memory trace to a variety of amnesic agents during a critical time window after learning. A number of studies have shown that reactivation of an already consolidated memory during retrieval can render the memory trace labile and susceptible to disruption once again (Judge & Quartermain, 1982; Przybylski & Sara, 1997; Nader *et al.*, 2000; Debiec *et al.*, 2002; Inda *et al.*, 2005; Tronson & Taylor, 2007). These studies have brought considerable support to the general concept that lability of the memory trace is not an exclusive property of the immediate post-acquisition period and that, at least in certain circumstances, a reactivated memory needs to be restabilized in order to be maintained in the long-term and be available again for further recall, a process generally known as reconsolidation.

Recently, we have shown that both consolidation and reconsolidation of an aversion memory in 3-day-old rat pups are protein synthesis-dependent (Gruest *et al.*, 2004; Languille *et al.*, 2008). At this early age,

brain connectivity and physiology display immature features with many molecular and structural modifications still occurring in the first 2 weeks of life (Bayer *et al.*, 1993; Dumas, 2005). This level of plasticity raises the issue of whether the structures and molecular mechanisms involved in long-term memory stabilization during the early phase of development are the same as or different to those observed in the adult. In adults, numerous studies have shown that activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (MAPK/ERK) pathway is critical for memory consolidation (Atkins *et al.*, 1998; Berman *et al.*, 1998; Selcher *et al.*, 1999; Schafe *et al.*, 2000; Sweatt, 2001; Davis & Laroche, 2006) and reconsolidation (Kelly *et al.*, 2003; Duvarci *et al.*, 2005). The MAPK/ERK cascade is considered to be an essential intracellular signaling pathway for triggering gene regulation that underlies synaptic plasticity and long-term memory formation. To date, however, it is not known whether at this early age MAPK/ERK signaling is already recruited and required for the consolidation of a newly formed memory, whether this signaling cascade may also be implicated in reconsolidation of a reactivated memory, and whether activation of MAPK/ERK occurs in some of the brain structures involved in this form of memory in the adult. To investigate this, we used a conditioned taste aversion paradigm in 3-day-old pups and examined the role of ERK activation in consolidation and reconsolidation. We injected SL327 (SL), an inhibitor of the upstream MAPK/ERK kinase (MEK), during and at various times after learning or memory reactivation and measured the phosphorylation of ERK in the hippocampus and amygdala after learning and after memory reactivation.

Correspondence: Dr S. Languille, ²Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, as above.
E-mail: solene.languille@u-psud.fr

Received 24 June 2009, revised 26 August 2009, 28 August 2009

Materials and methods

Subjects

Male and female rat pups born in our colony from Wistar parents (Iffa-Credo, France) were used as subjects ($n = 376$). On the day of birth (0-day-old), litters were culled to eight pups. The mothers and their litters were housed in standard maternity cages with *ad-libitum* access to food and water, and maintained in a temperature-controlled colony room on a 12-h light/dark cycle. All experimental procedures were performed in conformity with national (JO 887-848) and European (86/609/EEC) legislation.

Drug administration

SL327 is a selective inhibitor of the MAPK kinase, MEK, which can cross the blood–brain barrier (Atkins *et al.*, 1998; Selcher *et al.*, 1999). SL (Tocris) was dissolved in vehicle solution [40% dimethylsulfoxide and 60% artificial cerebrospinal fluid (148 mM NaCl, 3 mM KCl, 1.4 mM CaCl₂, 0.8 mM MgCl₂, 5 mM Na₂HPO₄ and 1 mM NaH₂PO₄, pH 7.8)]. After training or reactivation, all pups received an intraperitoneal injection of either the vehicle solution (2% body weight) or SL (25 mg/kg; 1.25 mg/mL). This dose of SL was chosen based on the dose used in the adult (Atkins *et al.*, 1998; Selcher *et al.*, 1999) and after preliminary experiments showing no overt negative effect of this dose of SL in pups.

Behavioral procedures

Three-day-old pups were isolated (in an incubator) from the dam about 11 h before training and were exposed to the surrogate nipple as described previously (Gruest *et al.*, 2004; Languille *et al.*, 2008). They were then submitted to a conditioned taste aversion paradigm in which the conditioned stimulus (CS) (peach-aromatized milk; Régilait, France) was given via a surrogate nipple for 10 min and paired 30 min later with an injection of 0.15 M LiCl (2% body weight, i.p.; Sigma) that causes an immediate malaise [unconditioned stimulus (US)]. Control rats were injected with 0.9% NaCl instead of LiCl or were submitted to an unpaired condition with a long delay (~8 h) between CS and US.

In reconsolidation experiments, pups were isolated from the dams and a reactivation session consisting of intra-oral contact with the surrogate nipple filled with the aromatized milk was given at 2 days after conditioning (5-day-old). To equalize reactivation between pups, the nipple was placed in the mouths of the pups for a 5-min period.

Long-term memory retention was performed at 3 days after conditioning (6-day-old) or 2 days after reactivation (7-day-old), after isolation from the dam, as above. Short-term memory was tested at 3 h after acquisition (3-day-old) or reactivation (5-day-old) and pups were kept in an incubator between training sessions. Testing consisted of a single CS presentation for 10 min. The attractiveness of the aromatized milk was assessed by the time spent attached to the nipple. The total time of attachment to the nipple was measured on-line by two experimenters who were blind to the pups' treatment.

To ensure independence of the data, a maximum of two pups from a litter was assigned to a given condition. A taste aversion index was calculated as the relative time spent attached to the nipple: (time during testing/total time during conditioning and testing) \times 100. This was chosen to limit the potential inter-individual variability in the oral grasping response and to take into account performance during the conditioning session. Thus, the more that the pups refused the aromatized milk nipple (aversion), the lower the score was. ANOVA and the Fisher PLSD test were used for statistical analyses. Data from both males and females were combined as ANOVA, which confirmed that there was no sex difference in any measures reported here.

Western immunoblotting

Rat pups were decapitated at 20 min after the end of conditioning or reactivation. Brains were removed immediately and the entire amygdala and hippocampus of the two hemispheres were quickly dissected on ice, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for later use. Tissue was prepared for immuno-western blotting according to previously described methods (Davis *et al.*, 2000; Kelly *et al.*, 2003). Proteins from gels were transferred to nitrocellulose membranes and probed for inactive and phosphorylated ERK (pERK). Membranes were blocked in 5% bovine serum albumin for 1 h at room temperature and then incubated overnight at 4°C in pERK (1 : 4000; Cell Signalling Technology). The following day blots were rinsed and incubated in horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG (1 : 1500; Amersham) for 1 h, before being reacted with ECL solution. Membranes were then apposed to film for 5 min and the film was developed by hand. Membranes were then stripped (Reblot, Chemicon) and probed with non-active ERK (1 : 3000; Cell Signalling Technology) and revealed with secondary antibody (anti-rabbit IgG, 1 : 1500; Amersham). Three replicates of each sample were generated and the protein bands were analysed using GENETOOLS software (GeneGenius Gel documentation and analysis system, Syngene, UK). Optical density values of pERK for each sample were first normalized to that of non-active ERK. Means of the replicates per animal were then normalized to CS group (see Results). ANOVA and Fisher PLSD *post-hoc* analyses were used for statistical analyses of pERK.

Results

Inhibition of extracellular signal-regulated kinase blocks consolidation

To establish whether the activation of ERK is required for the formation of an early memory, the MEK inhibitor SL or vehicle was injected i.p. between the CS and US presentation (15 min after the CS). In two non-conditioned control groups, the CS alone was presented and pups received SL or vehicle 15 min later. Long-term memory was assessed at 3 days after conditioning. Pups in the paired CS – US + V group injected with the vehicle expressed a clear aversion compared with pups of the two control groups (CS + V: $F_{1,17} = 7.86$; CS + SL: $F_{1,17} = 4.74$; $P < 0.01$ in both cases; Fig. 1A), thus demonstrating that they remembered the association between the CS and the malaise. In contrast, when SL was injected during conditioning in a CS-US paired group (CS – US + SL), this aversion was abolished. Two-way ANOVA revealed a significant group \times treatment interaction ($F_{3,34} = 6.58$; $P < 0.002$). The performance of pups treated with SL was significantly different from that of pups in the CS – US + V group without SL ($F_{1,18} = 20.63$; $P < 0.001$) but was similar to that of pups in the two non-conditioned CS groups ($P > 0.05$ in each case). There was no difference between the CS groups, indicating that SL did not act as a negative reinforcer when paired with CS. These results show that MEK inhibition during conditioning blocks the formation of long-term aversion memory in pups.

The same experimental design was used to examine the effect of MEK inhibition on short-term memory. Because the malaise induced by injection of LiCl can be prolonged and can affect the pups' behavior, we verified that SL and LiCl injection did not affect suckling behavior at 3 h after treatment delivery compared with control pups (data not shown). With this protocol, we were thus able to assess the effect of SL on short-term memory at 3 h after conditioning, with SL injected between the CS and US as in the previous experiment. Two non-conditioned control groups were again used, one receiving the CS plus the vehicle and the other receiving the CS plus SL. Performances

at the 3-h delay were significantly different between conditioned and non-conditioned groups ($F_{1,30} = 50.04$; $P < 0.0001$; Fig. 1B). Pups in the conditioned CS – US + V group showed a clear aversion at 3 h after acquisition, compared with the non-conditioned CS + V group ($F_{1,14} = 19.38$; $P < 0.0001$). Injection of SL during conditioning had no effect on short-term memory (Fig. 1B). There was no significant difference between CS – US + V and CS – US + SL conditioned groups ($F_{1,14} = 0.05$; $P > 0.05$). SL did not affect the pups' attraction to the CS in the non-conditioned groups ($F_{1,14} = 1.64$; $P > 0.05$).

Thus, rat pups can express a short-term aversion memory that is not disrupted by MEK inhibition. In all, these results suggest that MEK inhibition affects the consolidation of long-term aversion memory in young pups, leaving short-term memory intact.

Inhibition of extracellular signal-regulated kinase blocks reconsolidation

We next examined whether activation of the ERK is necessary for reconsolidation of this memory in pups. A brief reactivation episode (CS alone) was given at 2 days after conditioning and retention was tested 2 days later. SL was administered after reactivation. In one group, pups were conditioned, reactivated and injected immediately with SL (CS – US/R + SL), whereas control pups were conditioned, reactivated and injected with the vehicle (CS – US/R + V). Further control groups included two non-conditioned, cue-reactivated groups with (CS/R + SL) or without (CS/R + V) SL and a conditioned but non-reactivated group injected with SL (CS – US/nR + SL). One-way ANOVA revealed a significant group effect ($F_{4,47} = 7.7$; $P < 0.0001$; Fig. 2A). Pups in the conditioned and reactivated group without SL (CS – US/R + V) expressed a marked aversion when compared with the non-conditioned control group (CS/R + V) ($F_{1,18} = 25.19$; $P < 0.0001$), suggesting that the brief reactivation episode did not produce extinction. When SL was injected just after reactivation in the CS – US/R + SL group, a clear impairment in aversion performance was observed ($F_{1,19} = 22.08$; $P < 0.001$, compared with CS – US/R + V). Moreover, the performance of pups in the CS – US/R + SL group did not differ from either of the two non-conditioned groups ($P > 0.05$ in each case), suggesting that post-reactivation injection of SL had a full amnesic effect. The disruption of performance with injection of SL was not observed in the absence of reactivation as pups in the CS – US/nR + SL group expressed an aversion similar to that of pups in the CS – US/R + V group ($F_{1,21} = 2.15$; $P > 0.05$). This indicates that injection of the MEK inhibitor at 2 days after learning had no effect *per se* on subsequent recall but can abolish long-term aversion memory contingent upon memory reactivation.

We examined the effect of MEK inhibition on post-reactivation short-term memory at a 3-h delay. The performance of pups in the CS – US/R + V and CS – US/R + SL groups was compared with that of pups in the CS/R + V and CS/R + SL control groups. As demonstrated in Fig. 2B, SL did not impair post-reactivation short-term memory. Two-way ANOVA revealed a significant difference only between conditioned and non-conditioned groups ($F_{1,40} = 98.29$; $P < 0.0001$). Conditioned pups (CS – US/R + V) showed a clear aversion at 3 h after reactivation compared with non-conditioned pups (CS/R + V; $F_{1,18} = 45.83$; $P < 0.0001$), whereas there was no significant difference between the CS – US/R + V and CS – US/R + SL groups ($F_{1,19} = 5.12$; $P > 0.05$). Again, SL *per se* had no effect on performance at short-term post-reactivation, as there was no significant difference between the CS/R + V and CS/R + SL non-conditioned groups ($F_{1,19} = 0.26$; $P > 0.05$). In all, these results

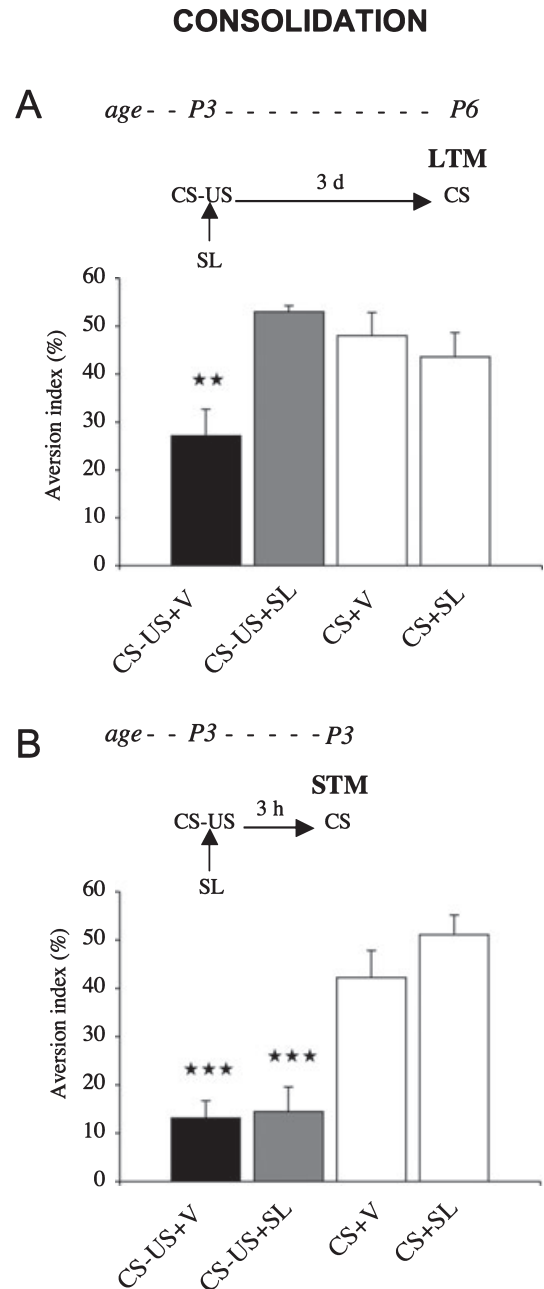


FIG. 1. Effect of MAPK/ERK inhibition on long-term memory (LTM) (A) and short-term memory (STM) (B) after acquisition. Conditioned aversion, which consisted of associating the CS (aromatized milk) with the US (malaise induced by LiCl), was realized on post-natal day (P)3. LTM was tested at 3 days and STM at 3 h after training. Pups in the conditioned CS-US group were injected with the vehicle (CS – US + V; $n = 10$ in A, $n = 8$ in B) or SL (CS – US + SL; $n = 10$ in A, $n = 8$ in B) at 15 min after CS presentation. Pups in the non-conditioned CS group were also injected with the vehicle (CS + V; $n = 9$ in A, $n = 8$ in B) or SL (CS + SL; $n = 9$ in A, $n = 8$ in B). A lower index indicates more aversion. Error bars indicate SE. *** $P < 0.001$. ** $P < 0.01$. MAPK/ERK inhibition during conditioning blocked LTM formation, leaving STM intact.

show that MEK inhibition immediately after the reactivation of a consolidated aversion memory affects further long-term memory, leaving short-term memory intact, suggesting that the ERK is required for the post-reactivation reconsolidation of aversion memory in young pups.

Temporal gradient of efficacy of extracellular signal-regulated kinase inhibition in consolidation and reconsolidation

These experiments were designed to determine the time window after acquisition and reactivation during which ERK activation is necessary for memory stabilization. To this end, groups of pups were conditioned as before and SL was injected at different time-points (0 min, 30 min, 1 h and 6 h) after training or reactivation. In these experiments, a non-paired group with the CS and US separated by a long delay (~8 h) and injected with the vehicle solution was used as control (CS...US + V). In a first experiment assessing long-term memory after conditioning, the results confirmed the amnesic effect of SL, even when it was injected after training. As shown in Fig. 3A, conditioned pups receiving SL immediately after training (CS - US + SL0) did not show aversion to the CS and their performance differed significantly from that of conditioned pups without SL (CS - US + V; $F_{1,16} = 56.36$; $P < 0.0001$) but not from non-conditioned pups (CS...US + V; $F_{1,15} = 1.57$; $P > 0.05$). When SL administration was delayed after acquisition, a temporally graded amnesia was observed (one-way ANOVA, delays 0–6 h; $F_{3,30} = 16.22$; $P < 0.0001$). Maximal impairment of memory was observed with SL injection at the 0-min delay, which then decreased progressively when injected at increasing delays ($P < 0.01$ in each case; comparison between delays), to reach a level of aversion similar to that of the conditioned pups (CS - US + V; $F_{1,16} = 1.84$; $P > 0.05$) at the 6-h delay. This indicates that the aversion memory in young pups consolidates during an ERK-dependent time window shorter than 6 h.

In the second experiment, pups were first conditioned and SL was injected at the same increasing delays after memory reactivation at 2 days after conditioning. The performance of conditioned, reactivated pups injected with SL immediately after reactivation (CS - US/R + SL0) was significantly different from conditioned, reactivated pups without SL (CS - US/R + V; $F_{1,16} = 68.55$; $P < 0.0001$) but not from non-conditioned pups (CS...US/R + V; $F_{1,16} = 0.34$; $P > 0.5$; Fig. 3B), confirming the above results. The efficacy of SL diminished when its time of delivery was delayed after reactivation, thus demonstrating a temporally graded effect (one-way ANOVA, delays 0–6 h; $F_{3,32} = 22.13$; $P < 0.0001$). SL was less efficient at the 30-min than at the 0-min delay ($F_{1,16} = 9.77$; $P = 0.006$) and had no effect at the 1-h and 6-h delays; these last two groups did not differ from the CS - US/R + V group without SL ($P > 0.05$ in each case). These results further support the conclusion that activation of ERK is required to reconsolidate aversion memory after a brief reactivation episode.

Extracellular signal-regulated kinase activation in the amygdala and hippocampus after learning and reactivation

In adults, the amygdala plays a critical role in conditioned taste aversion learning (Yamamoto *et al.*, 1994; Swank, 2000; Bernstein & Koh, 2007). In contrast, some experiments suggest that the hippocampus is not required for this form of learning (Yamamoto *et al.*, 1995; Josselyn *et al.*, 2004). To examine whether ERK was activated in one of these brain structures after training or retrieval in young pups, we adopted a similar experimental design and used immunoblotting to quantify ERK phosphorylation in the amygdala and hippocampus at 20 min after conditioning or after memory reactivation. We first showed in CS - US + V conditioned pups that injection of the vehicle solution ($n = 9$) had no effect alone on pERK in the amygdala ($F_{1,14} = 0.02$; $P > 0.5$) or hippocampus ($F_{1,14} = 0.002$; $P > 0.5$) compared with pups that did not receive injection ($n = 7$). Therefore, pups in these groups were pooled. Data after conditioning were normalized to a CS alone group after

RECONSOLIDATION

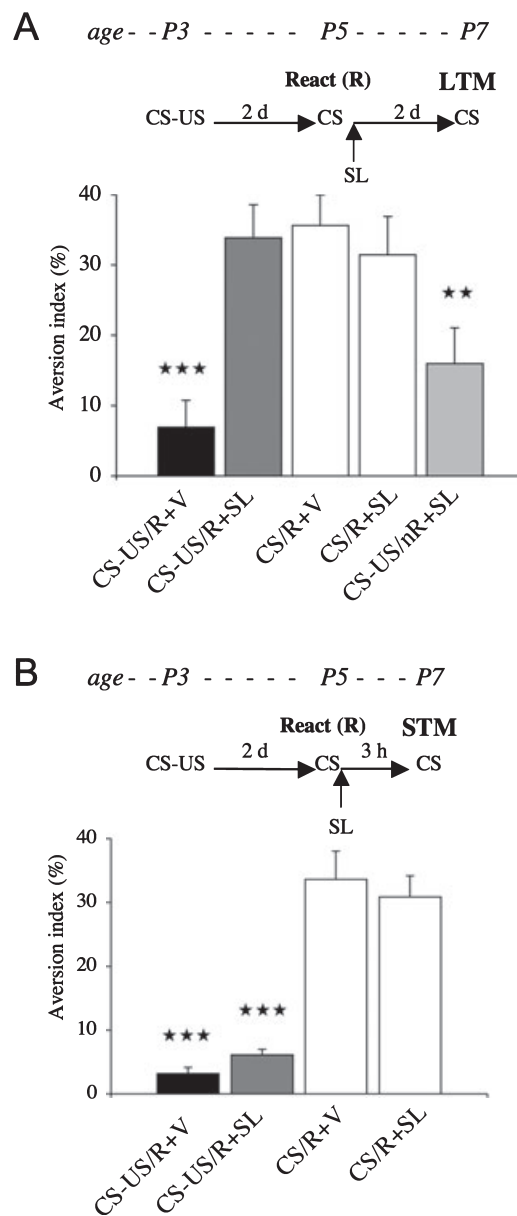


FIG. 2. Effect of MAPK/ERK inhibition on long-term memory (LTM) (A) and short-term memory (STM) (B) after reactivation. Pups were conditioned and reactivated 2 days later by a short presentation of the CS followed by SL injection. The retention test occurred at 2 days (A) or 3 h (B) after reactivation. Pups of two groups were conditioned, reactivated and then received the vehicle (CS - US/R + V; $n = 11$ in A, $n = 10$ in B) or SL (CS - US/R + SL; $n = 10$ in A, $n = 11$ in B). Pups in control groups were non-conditioned, cued and received the vehicle (CS/R + V; $n = 9$ in A, $n = 10$ in B) or SL (CS/R + SL; $n = 10$ in A, $n = 11$ in B). Another group was conditioned but not reactivated before SL injection (CS - US/nR + SL; $n = 12$). Error bars indicate SE. *** $P < 0.001$. ** $P < 0.01$. At 2 days after conditioning, post-reactivation MAPK/ERK inhibition impaired LTM, leaving STM intact, but only when the memory was reactivated. P, post-natal day.

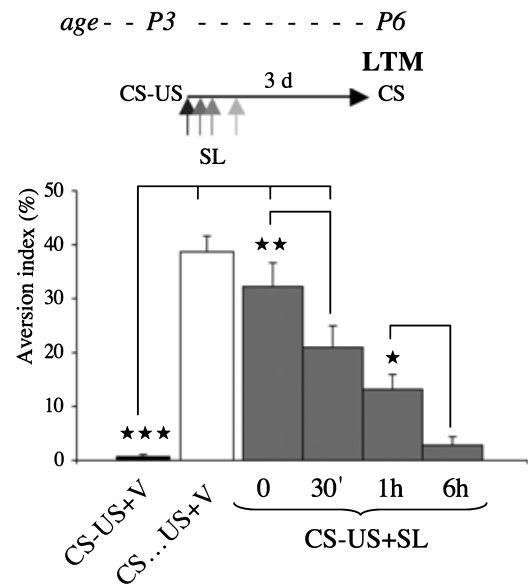
conditioning and to a CS/reactivated control group (CS/R + V) after reactivation. We also assessed the effect of the US alone and that of SL during training (CS - US + SL) or reactivation, with SL injected at 15 min before (CS - US/R + SL) or just after (CS - US/R + SL0) reactivation to verify the inhibition of ERK phosphorylation. The

expression of total or non-active ERK did not differ between the groups in either the amygdala ($F_{3,35} = 1.01$; $P > 0.5$) or hippocampus ($F_{3,34} = 1.43$; $P > 0.05$) after training or after reactivation (amygdala: $F_{3,20} = 0.73$; $P > 0.5$; hippocampus: $F_{3,20} = 1.002$; $P > 0.05$), suggesting that there was no effect on total ERK levels in either case (data not shown). Overall ANOVA of pERK1/2 revealed significant differences between groups after training (amygdala: $F_{3,36} = 3.34$; $P = 0.03$; hippocampus: $F_{3,34} = 12.66$; $P = 0.0001$) and after reactivation (amygdala: $F_{3,20} = 11.69$; $P = 0.0001$; hippocampus: $F_{3,20} = 5.99$; $P = 0.004$). With *post-hoc* analyses, we found a significant increase in pERK1/2 after CS-US conditioning compared with the CS and US alone control groups ($P < 0.05$ for both cases), and SL injected during conditioning completely blocked the increase in ERK1/2 phosphorylation ($P < 0.05$; Fig. 4A) in the amygdala. In the hippocampus, we found a decrease in pERK1/2 in the US alone group ($P < 0.05$) but no hyperphosphorylation in the learning group (CS - US + V; $P > 0.05$; Fig. 4B). SL in the CS - US + V conditioned group also reduced pERK1/2 below basal levels in the absence of increase in the learning group ($P < 0.05$). After reactivation, in the amygdala there was a trend towards an increase in ERK1/2 phosphorylation but this did not reach statistical significance (CS - US/R + V compared with CS/R + V; $P = 0.07$; Fig. 4C). A significant reduction of pERK1/2 was observed in the two groups of conditioned and reactivated pups injected with SL at either 15 min before (CS - US/R + SL) or immediately after (CS - US/R - SL0) reactivation [$P < 0.05$ in both cases, compared with the control (CS/R + V) and the learning (CS - US/R + V) group; Fig. 4C]. In the hippocampus, there was no significant increase in pERK1/2 after reactivation compared with the CS/R + V group ($P > 0.05$; Fig. 4D) and, as in the amygdala, SL significantly reduced ERK1/2 phosphorylation levels in the learning group injected with SL at 15 min before conditioning (CS - US/R + SL; $P < 0.05$) but not when injected immediately after (CS - US/R + SL0; $P > 0.05$); however, the reduction was a significant in both cases compared with the CS - US/R + V group ($P < 0.05$). These data suggest that ERK is rapidly activated in the amygdala, but not in the hippocampus, after taste aversion conditioning in young pups, suggesting functional activation of the amygdala following learning in young pups. They do not, however, establish the amygdala as a critical site of ERK phosphorylation after reactivation of the memory.

Discussion

Our previous experiments demonstrated that conditioned aversion memory in young pups is subject to consolidation and reconsolidation (Gruest *et al.*, 2004; Languille *et al.*, 2008). The present results with the ERK kinase inhibitor reinforce this conclusion and identify one key molecular mechanism involved in these processes. We found that inhibition of ERK impairs long-term but not short-term memory in 3-day-old pups, providing that the inhibitor is present during or within a short period after learning or reactivation. Several control experiments show that blockade of ERK activation via MEK inhibition does not prevent learning or retrieval, has no anterograde effect when administered several hours after learning and does not act as a negative reinforcer. Thus, at post-natal day 3, ERK is already required for memory stabilization both during consolidation of a newly learned association and reconsolidation of a previously consolidated aversion memory when recalled. These findings during early ontogenesis are in line with those found in adults, which show that activation of ERK is critical for memory consolidation in many different tasks, including taste aversion conditioning (Berman *et al.*, 1998; Swank, 2000), fear conditioning (Atkins *et al.*, 1998; Schafe *et al.*, 2000; Villarreal &

A CONSOLIDATION



B RECONSOLIDATION

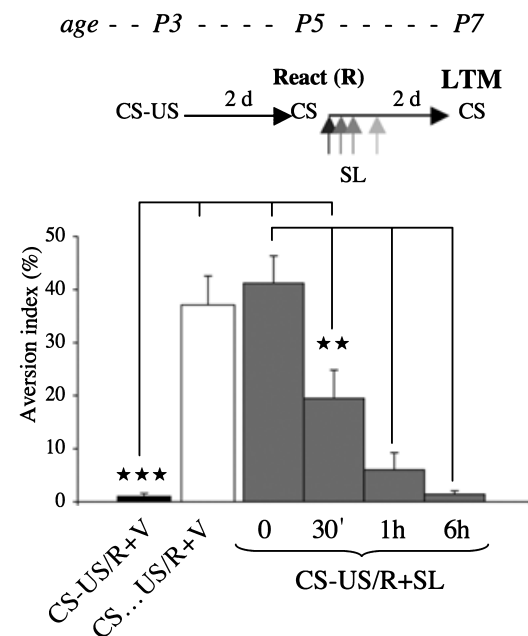


FIG. 3. Temporal gradient of efficacy of MAPK/ERK inhibition in consolidation and reconsolidation. SL was injected at different delays after training (A) or reactivation (B). (A) The retention test was performed at 3 days after training. Pups in the conditioned (CS - US + V; $n = 9$) and in the non-paired (~8 h between CS and US; CS...US + V; $n = 8$) group received vehicle injection, just after US administration. Four groups (CS - US + SL) were conditioned and received SL at different delays after conditioning: 0 ($n = 9$), 30 min ($n = 8$), 1 h ($n = 8$) or 6 h ($n = 9$). (B) The retention test was performed at 2 days after reactivation. Pups in the conditioned (CS - US/R + V; $n = 9$) and in the non-paired (CS...US/R + V; $n = 9$) group received vehicle injection after reactivation. Four groups (CS - US/R + SL) were conditioned, reactivated and received SL at different delays after memory reactivation: 0 ($n = 9$), 30 min ($n = 9$), 1 h ($n = 9$) or 6 h ($n = 9$). Error bars indicate SE. *** $P < 0.001$. ** $P < 0.01$. * $P < 0.05$. LTM, long-term memory; P, post-natal day.

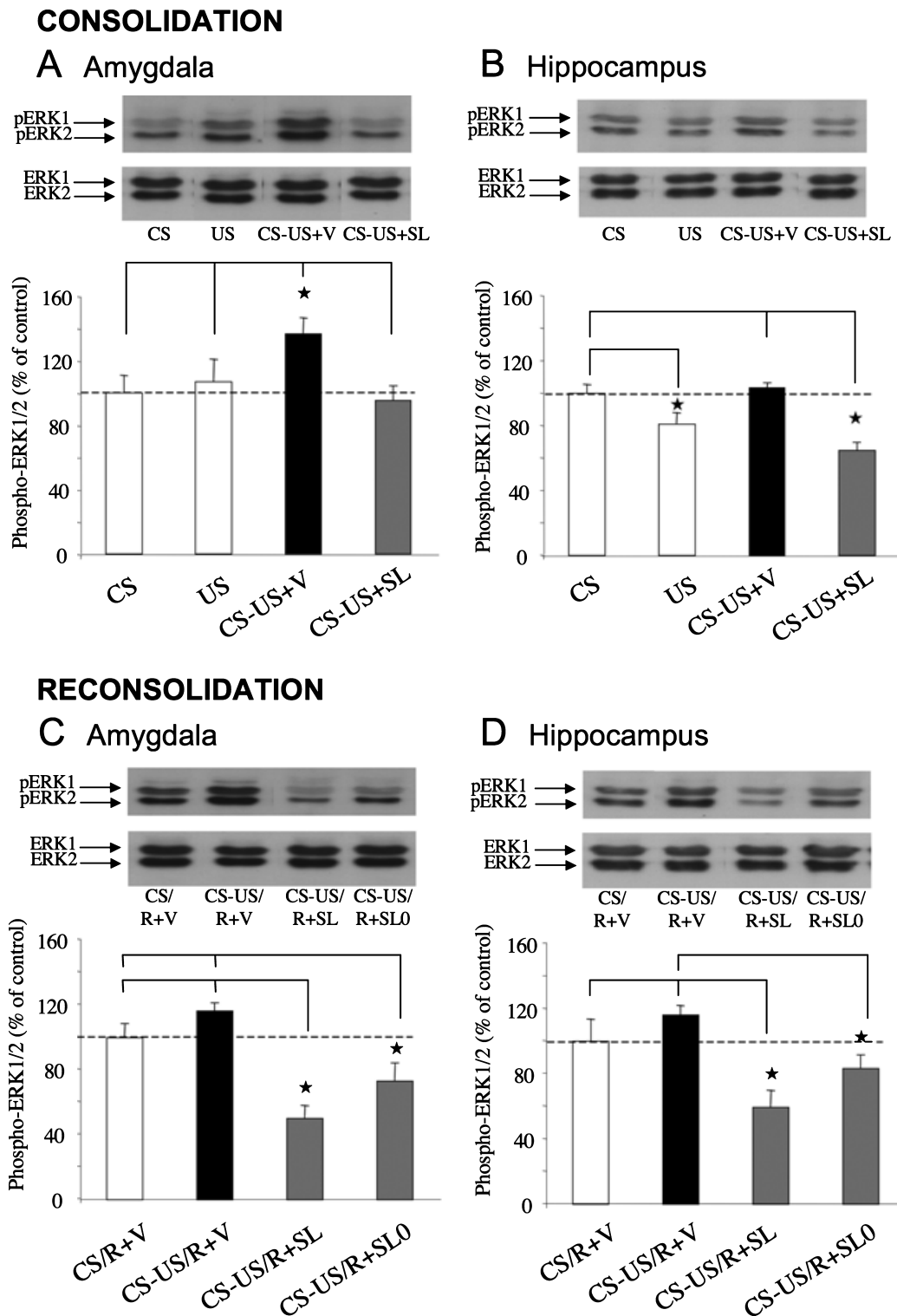


FIG. 4. MAPK/ERK activation in the amygdala and hippocampus after training and reactivation. Histograms show the levels of pERK1/2 normalized to total ERK1/2 and expressed as a percentage of the CS alone control group ($n = 8$) for consolidation (A and B) and of the CS alone reactivated control group ($n = 6$) for reconsolidation (C and D) in the amygdala (A and C) and hippocampus (B and D). Sample western immunoblots of phosphorylated and total ERK1/2 for each brain region and experimental condition are presented on top. (A) In the amygdala ERK1/2 phosphorylation was significantly increased after training (CS – US + V paired group; $n = 16$) and this regulation was blocked by injection of the MEK inhibitor SL (CS – US + SL; $n = 8$). LiCl injection in the US alone group ($n = 8$) had no effect on pERK1/2. (B) Training did not significantly alter ERK1/2 phosphorylation levels in the hippocampus. In conditioned pups treated with SL, the MEK inhibitor was effective in reducing hippocampal pERK1/2 levels below that of the corresponding vehicle-treated conditioned group. No significant increase in pERK1/2 was observed in either the amygdala (C) or hippocampus (D) after reactivation in the CS-US conditioned group (CS – US/R + V; $n = 6$). As expected, SL also reduced pERK1/2 levels in both structures when injected 15 min before (CS – US/R + SL; $n = 6$) or immediately after (CS – US/R + SL0; $n = 6$) reactivation. No significant change was observed in total ERK1/2 in any of the structures and conditions. Statistically significant differences: * $P < 0.05$.

Barea-Rodriguez, 2006), spatial learning (Blum *et al.*, 1999; Selcher *et al.*, 1999), recognition memory (Kelly *et al.*, 2003) or food-reward conditioning (Ribeiro *et al.*, 2005). In addition, a study has also shown that ERK in the olfactory bulb is implicated in odor shock conditioning in 11-day-old pups (Zhang *et al.*, 2003). Few studies to date have examined the role of MAPK/ERK in memory reconsolidation. It has been shown to be required for the reconsolidation of recognition memory (Kelly *et al.*, 2003) and auditory fear memory (Duvarci *et al.*, 2005); however, to our knowledge, its role in the reconsolidation of conditioned taste aversion has not been previously reported. In all, this is the first demonstration of the involvement of the phosphorylation of ERK in memory consolidation and reconsolidation in pups as young as 3 days of age, thus indicating that at least some of the basic biochemical features of adult memory processes emerge very early in ontogeny.

These experiments also delineate the temporal gradients of ERK dependency in consolidation and reconsolidation, between 1 and 6 h after acquisition and reactivation. The temporal gradients observed here are similar to those that we previously reported for the protein synthesis inhibitor anisomycin in the same paradigm at post-natal day 3 (Gruest *et al.*, 2004; Languille *et al.*, 2008), with the exception that anisomycin induced a greater deficit than ERK inhibition in the first hour post-acquisition and that in reconsolidation anisomycin was still efficient at 1 h after reactivation. This indicates that the time window of efficacy of ERK inhibition may be shorter than that of protein synthesis inhibition in the same conditions, in line with the view that one molecular outcome of MAPK/ERK cascade activation is to act upstream of gene regulation and protein synthesis.

In adults, earlier work demonstrated that the amygdala is involved in the formation of taste aversion memory (Yamamoto *et al.*, 1994; Lamprecht & Dudai, 1996; Ferreira *et al.*, 2006; Bernstein & Koh, 2007). Moreover, phosphorylation of ERK occurs in the amygdala after conditioned taste aversion learning in adults (Swank, 2000) and activation of the downstream transcription factor CREB in the amygdala is required for the formation of taste aversion memory in adults (Lamprecht *et al.*, 1997; Josselyn *et al.*, 2004). The role of the hippocampus is less clear as lesion studies have produced mixed results, some showing no effect of hippocampal lesions in simple conditioned taste aversion paradigms (Yamamoto *et al.*, 1995) and others reporting impairment (Miller *et al.*, 1986) or facilitation (Stone *et al.*, 2005), suggesting that the hippocampus might contribute to this type of learning in certain experimental conditions (Manrique *et al.*, 2007). We have examined whether in pups these structures might be sites of ERK activation during consolidation or reconsolidation. We found that ERK was rapidly hyperphosphorylated in the amygdala after acquisition. These results suggest that, by post-natal day 3, learning already functionally activates the amygdala and that ERK activation in this structure is implicated for the consolidation of taste aversion memory. We did observe a small increase in pERK after reactivation but, despite a small variance, this was not significant. A report in adults has suggested that protein synthesis in the amygdala, although essential for the consolidation of aversion memory, is not required for its reconsolidation (Bahar *et al.*, 2004), suggesting that this structure might not be involved in reconsolidation of this type of memory. As we have shown that MEK inhibition impairs reconsolidation, activation of ERK might occur in other as yet unidentified neural structures and circuits during reconsolidation. Indeed, some experiments have shown that consolidation and reconsolidation can engage different brain regions (Taubenfeld *et al.*, 2001; Milekic *et al.*, 2007), suggesting that reconsolidation may not be a complete recapitulation of the mechanisms engaged during consolidation (Alberini, 2005; Miller & Sweatt, 2006). However, we cannot exclude the possibility that ERK was activated in the amygdala

during reconsolidation but to a lower level, such that it would have been undetected by western immunoblotting or at another time-point than that examined here. In the hippocampus, we found no evidence for activation of ERK after either learning or reactivation. This does not in itself imply that the hippocampus is not involved, albeit in an ERK-independent manner. Recent findings in adults, for example, have shown that the protein kinase Akt and the transcription factor CREB, but not ERK, are activated in the hippocampus following novel taste training (Yefet *et al.*, 2006). However, injection of anisomycin in the hippocampus was found to be inefficient in impairing conditioned taste aversion memory in adults (Josselyn *et al.*, 2004). In any event, our data highlight the activation of the ERK in the amygdala during consolidation of aversion memory in young pups. At this point, because we used systemic injection of SL, we cannot ascertain that blockade of ERK activation in the amygdala is solely responsible for the observed deficits and we cannot specify which nuclei of the amygdala are principally involved. This is due to the impracticality of making local and restricted injections of drugs in selected brain regions in 3-day-old pups due to the softness of the skull at this age and of using staining methods in the extremely fragile brain sections from 3-day-old pups. Future research using other methodologies will be necessary to specify the nuclei of the amygdala involved in taste aversion learning at this early age.

Other approaches based on lesions or 2-DG autoradiography have suggested that the amygdala is not involved in an odor shock conditioning until post-natal day 12 (Sullivan *et al.*, 2000) or in an odor malaise aversion learning before the age of 23 days (Shionoya *et al.*, 2006). However, it has been reported to be implicated as early as 6 days of age for the acquisition of odor preference in an odor stroke conditioning task (Sullivan & Wilson, 1993). Thus, the involvement of the amygdala during ontogeny seems to be task-dependent (Raineki *et al.*, 2009). The present results suggest that, despite an as yet not fully mature amygdala (Berdel *et al.*, 1997; Bouwmeester *et al.*, 2002; Cunningham *et al.*, 2002), this structure is involved much earlier in taste malaise aversion learning.

In summary, these results provide compelling evidence that the activation of ERK has an essential role in the consolidation of aversion memory in young pups as early as post-natal day 3 and they point to the amygdala as one site of ERK activation, as in the adult. Our findings also support the idea that reactivation of a consolidated aversion memory returns the memory to a labile state, after which intracellular signaling via ERK is again required for stabilizing or reconsolidating the memory. The basic properties of memory and at least some of the mechanisms and brain structures implicated in this form of memory during early life share a number of similarities with the adult, despite an as yet immature brain. Thus, it seems that the involvement of ERK in memory is maintained across phylogeny, from *Aplysia* to mammals (Purcell *et al.*, 2003; Davis & Laroche, 2006), and across ontogeny, from newborn to adult.

Acknowledgements

Supported by the Centre National de la Recherche Scientifique and Universite Paris-Sud. The authors are grateful to Nathalie Samson and Pascale Le Blanc for animal care.

Abbreviations

CS, conditioned stimulus; ERK, extracellular signal-regulated kinase; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MEK, mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase; pERK, phosphorylated extracellular signal-regulated kinase; SL, SL327; US, unconditioned stimulus.

References

- Alberini, C.M. (2005) Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci.*, **28**, 51–56.
- Atkins, C.M., Selcher, J.C., Petraitis, J.J., Trzaskos, J.M. & Sweatt, J.D. (1998) The MAPK cascade is required for mammalian associative learning. *Nat. Neurosci.*, **1**, 602–609.
- Bahar, A., Dorfman, N. & Dudai, Y. (2004) Amygdalar circuits required for either consolidation or extinction of taste aversion memory are not required for reconsolidation. *Eur. J. Neurosci.*, **19**, 1115–1118.
- Bayer, S.A., Altman J., Russo R.J. & Zhang, X. (1993) Times tables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, **14**, 83–144.
- Berdel, B., Morys, J. & Maciejewska, B. (1997) Neuronal changes in the basolateral complex during development of the amygdala of the rat. *Int. J. Dev. Neurosci.*, **15**, 755–765.
- Berman, D.E., Hazvi, S., Rosenblum, K., Seger, R. & Dudai, Y. (1998) Specific and differential activation of mitogen-activated protein kinase cascades by unfamiliar taste in the insular cortex of the behaving rat. *J. Neurosci.*, **18**, 10037–10044.
- Bernstein, I.L. & Koh, M.T. (2007) Molecular signaling during taste aversion learning. *Chem. Senses*, **32**, 99–103.
- Blum, S., Moore, A.N., Adams, F. & Dash, P.K. (1999) A mitogen-activated protein kinase cascade in the CA1/CA2 subfield of the dorsal hippocampus is essential for long-term spatial memory. *J. Neurosci.*, **19**, 3535–3544.
- Bouwmeester, H., Wolterink, G. & van Ree, J.M. (2002) Neonatal development of projections from the basolateral amygdala to prefrontal, striatal, and thalamic structures in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **442**, 239–249.
- Cunningham, M.G., Bhattacharyya, S. & Benes, F.M. (2002) Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: implications for the development of normal and abnormal function during adolescence. *J. Comp. Neurol.*, **453**, 116–130.
- Davis, S. & Laroche, S. (2006) Mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase signalling and memory stabilization: a review. *Genes Brain Behav.*, **5**, 61–72.
- Davis, S., Vanhoutte, P., Pages, C., Caboche, J. & Laroche, S. (2000) The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus *in vivo*. *J. Neurosci.*, **20**, 4563–4572.
- Debiec, J., LeDoux, J.E. & Nader, K. (2002) Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron*, **36**, 527–538.
- Dumas, T.C. (2005) Developmental regulation of cognitive abilities: modified composition of a molecular switch turns on associative learning. *Prog. Neurobiol.*, **76**, 189–211.
- Duvarci, S., Nader, K. & LeDoux, J.E. (2005) Activation of extracellular signal-regulated kinase- mitogen-activated protein kinase cascade in the amygdala is required for memory reconsolidation of auditory fear conditioning. *Eur. J. Neurosci.*, **21**, 283–289.
- Ferreira, G., Ferry, B., Meurisse, M. & Levy, F. (2006) Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behav. Neurosci.*, **120**, 952–962.
- Gruest, N., Richer, P. & Hars, B. (2004) Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J. Neurosci.*, **24**, 10488–10492.
- Inda, M.C., Delgado-Garcia, J.M. & Carrion, A.M. (2005) Acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of eyelid conditioning responses require de novo protein synthesis. *J. Neurosci.*, **25**, 2070–2080.
- Josselyn, S.A., Kida, S. & Silva, A.J. (2004) Inducible repression of CREB function disrupts amygdala-dependent memory. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **82**, 159–163.
- Judge, M.E. & Quartermain, D. (1982) Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiol. Behav.*, **28**, 585–590.
- Kelly, A., Laroche, S. & Davis, S. (2003) Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory. *J. Neurosci.*, **23**, 5354–5360.
- Lamprecht, R. & Dudai, Y. (1996) Transient expression of c-Fos in rat amygdala during training is required for encoding conditioned taste aversion memory. *Learn. Mem.*, **3**, 31–41.
- Lamprecht, R., Hazvi, S. & Dudai, Y. (1997) cAMP response element-binding protein in the amygdala is required for long- but not short-term conditioned taste aversion memory. *J. Neurosci.*, **17**, 8443–8450.
- Languille, S., Gruest, N., Richer, P. & Hars, B. (2008) The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during post-natal development. *Learn. Mem.*, **15**, 434–442.
- Manrique, T., Moron, I., Ballesteros, M.A., Guerrero, R.M. & Gallo, M. (2007) Hippocampus, ageing, and taste memories. *Chem. Senses*, **32**, 111–117.
- McGaugh, J.L. (2000) Memory – A century of consolidation. *Science*, **287**, 248–251.
- Milekic, M.H., Pollonini, G. & Alberini, C.M. (2007) Temporal requirement of C/EBPbeta in the amygdala following reactivation but not acquisition of inhibitory avoidance. *Learn. Mem.*, **14**, 504–511.
- Miller, C.A. & Sweatt, J.D. (2006) Amnesia or retrieval deficit? Implications of a molecular approach to the question of reconsolidation. *Learn. Mem.*, **13**, 498–505.
- Miller, J.S., Nonneman, A.J., Kelly, K.S., Neisewander, J.L. & Isaac, W.L. (1986) Disruption of neophobia, conditioned odor aversion, and conditioned taste aversion in rats with hippocampal lesions. *Behav. Neural Biol.*, **45**, 240–253.
- Müller, G. & Pilzecker, A. (1900) Experimentelle beitrage zur lehre von gedachtnis. *Zeitschrift für Psychologie* pp. 1–300.
- Nader, K., Schafe, G.E. & Le Doux, J.E. (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, **406**, 722–726.
- Przybylski, J. & Sara, S.J. (1997) Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behav. Brain Res.*, **84**, 241–246.
- Purcell, A.L., Sharma, S.K., Bagnall, M.W., Sutton, M.A. & Carew, T.J. (2003) Activation of a tyrosine kinase-MAPK cascade enhances the induction of long-term synaptic facilitation and long-term memory in Aplysia. *Neuron*, **37**, 473–484.
- Raineki, C., Shionoya, K., Sander, K. & Sullivan, R.M. (2009) Ontogeny of odor-LiCl vs. odor-shock learning: similar behaviors but divergent ages of functional amygdala emergence. *Learn. Mem.*, **16**, 114–121.
- Ribeiro, M.J., Schofield, M.G., Kemenes, I., O'Shea, M., Kemenes, G. & Benjamin, P.R. (2005) Activation of MAPK is necessary for long-term memory consolidation following food-reward conditioning. *Learn. Mem.*, **12**, 538–545.
- Schafe, G.E., Atkins, C.M., Swank, M.W., Bauer, E.P., Sweatt, J.D. & LeDoux, J.E. (2000) Activation of ERK/MAP kinase in the amygdala is required for memory consolidation of pavlovian fear conditioning. *J. Neurosci.*, **20**, 8177–8187.
- Selcher, J.C., Atkins, C.M., Trzaskos, J.M., Paylor, R. & Sweatt, J.D. (1999) A necessity for MAP kinase activation in mammalian spatial learning. *Learn. Mem.*, **6**, 478–490.
- Shionoya, K., Moriceau, S., Lunday, L., Miner, C., Roth, T.L. & Sullivan, R.M. (2006) Development switch in neural circuitry underlying odor-malaise learning. *Learn. Mem.*, **13**, 801–808.
- Stone, M.E., Grimes, B.S. & Katz, D.B. (2005) Hippocampal inactivation enhances taste learning. *Learn. Mem.*, **12**, 579–586.
- Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (1993) Role of the amygdala complex in early olfactory associative learning. *Behav. Neurosci.*, **107**, 254–263.
- Sullivan, R.M., Landers, M., Yeaman, B. & Wilson, D.A. (2000) Good memories of bad events in infancy. *Nature*, **407**, 38–39.
- Swank, M.W. (2000) Phosphorylation of MAP kinase and CREB in mouse cortex and amygdala during taste aversion learning. *Neuroreport*, **11**, 1625–1630.
- Sweatt, J.D. (2001) The neuronal MAP kinase cascade: a biochemical signal integration system subserving synaptic plasticity and memory. *J. Neurochem.*, **76**, 1–10.
- Taubenfeld, S.M., Milekic, M.H., Monti, B. & Alberini, C.M. (2001) The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBPbeta. *Nat. Neurosci.*, **4**, 813–818.
- Tronson, N.C. & Taylor, J.R. (2007) Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat. Rev. Neurosci.*, **8**, 262–275.
- Villarreal, J.S. & Barea-Rodriguez, E.J. (2006) ERK phosphorylation is required for retention of trace fear memory. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **85**, 44–57.
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Yasoshima, Y. & Sakai, N. (1994) Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav. Brain Res.*, **65**, 123–137.
- Yamamoto, T., Fujimoto, Y., Shimura, T. & Sakai, N. (1995) Conditioned taste aversion in rats with excitotoxic brain lesions. *Neurosci. Res.*, **22**, 31–49.
- Yefet, K., Merhav, M., Kuulmann-Vander, S., Elkobi, A., Belevsky, K., Jacobson-Pick, S., Meiri, N. & Rosenblum, K. (2006) Different signal transduction cascades are activated simultaneously in the rat insular cortex and hippocampus following novel taste learning. *Eur. J. Neurosci.*, **24**, 1434–1442.
- Zhang, J.J., Okutani, F., Inoue, S. & Kaba, H. (2003) Activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase signaling pathway leading to cyclic AMP response element-binding protein phosphorylation is required for the long-term facilitation process of aversive olfactory learning in young rats. *Neuroscience*, **121**, 9–16.

The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during postnatal development

Languille S., Gruet N., Richer P., Hars B. (2008)

Learning and Memory 15 : 434-442.

Lors de la consolidation et de la reconsolidation de la CTA chez le raton de 3 jours (P3), notre équipe a mis en évidence un gradient temporel d'efficacité pour l'anisomycine (Gruet et al., 2004b), et pour le SL327 (article 1). Or cette cinétique ne semble pas identique chez l'adulte. En effet, même s'il a été démontré que la mémorisation d'une CTA était sensible à l'inhibition de la synthèse protéique ou des MAPK, l'existence d'un gradient de consolidation de l'aversion gustative n'a jamais été démontrée chez l'adulte ; les traitements amnésiants sont toujours donnés avant le conditionnement. Cela suggère que la consolidation est extrêmement rapide chez l'adulte. Afin d'observer une éventuelle évolution de la dynamique de la mémoire au cours du développement, nous avons réalisé 2 séries d'expériences.

Tout d'abord, nous avons étudié l'effet de l'anisomycine (ANI) injectée en intrapéritonéal (i.p.) juste après l'acquisition et la réactivation chez des ratons de différents âges (P3, P10 et P18) et chez de jeunes adultes (P35). Nous constatons que l'anisomycine a un effet amnésiant net à P3 et à P10, faible à P18 et nul à P35. Afin d'observer un effet amnésiant chez le jeune adulte, nous avons administré une plus forte dose d'ANI (210 mg/kg au lieu de 42 mg/kg), couramment utilisée chez l'adulte. Dans ce cas, l'ANI abolit partiellement l'aversion conditionnée lorsqu'elle est administrée post-acquisition, mais n'a pas d'effet post-réactivation. Néanmoins, on observe un effet amnésiant lorsque l'ANI est injecté 30 minutes avant l'acquisition ou la réactivation. Ainsi, chez l'adulte, nos résultats indiquent que l'ANI a une plus grande efficacité lorsqu'elle est administrée avant les périodes d'acquisition ou de réactivation. **La consolidation et la reconsolidation de la mémoire se réalisent dans un délai qui semble diminuer au cours de la croissance.**

Afin de mieux cerner la dynamique des processus de consolidation et de reconsolidation au cours du développement, nous avons déterminé les gradients temporels d'efficacité de l'anisomycine à P3, P10 et P18. L'ANI a été administrée immédiatement, 15 minutes, 30 minutes, 1 heure, 6 heures, ou 24 heures après l'acquisition ou la réactivation. À P3, l'ANI est encore hautement efficace lorsqu'elle est administrée 1 h après l'acquisition (confirmant les travaux précédents ; Gruet et al., 2004b). À P10, l'ANI est peu efficace entre 15 min et 1 h. À P18, l'ANI n'est plus du tout efficace dès 15 min. Les gradients temporels

d'efficacité de l'ANI post-réactivation sont assez similaires de ceux post-acquisition. Notons cependant qu'à P10, l'effet amnésiant de 15 min à 1 h est net post-acquisition, mais nul post-réactivation. **Les gradients temporels d'efficacité de l'anisomycine post-acquisition et post-réactivation décroissent au cours du développement, de plus ils semblent décroître plus rapidement post-réactivation que post-acquisition.**

Afin de confirmer la différence de cinétiques entre la consolidation et la reconsolidation, nous avons comparé, au même âge, les gradients temporels d'efficacité de l'ANI post-acquisition et post-réactivation. Nous observons que la cinétique de la consolidation à P12 est plus longue que celle de la reconsolidation à P12. **La reconsolidation se réalise plus rapidement que la consolidation de la mémoire.**

Nous avons vérifié que l'évolution avec l'âge des gradients temporels d'efficacité de l'agent amnésiant n'était pas due à une réduction de l'efficacité de l'anisomycine à cause du développement vers P15 de la barrière hémato-encéphalique (*blood brain barrier*, BBB). Afin de contourner la BBB, nous avons réalisé des injections d'ANI en intra-ventriculaire 1h après le conditionnement à P3, P10 et P18. Les résultats obtenus montrent pour chaque âge une efficacité de l'ANI en i.c.v. à 1h comparable à celle de l'ANI administrée en i.p. Ceci nous indique que malgré le contournement de la BBB, l'ANI a un effet amnésiant qui évolue avec l'âge.

De plus, pour vérifier que la diminution de l'effet amnésiant de l'ANI n'est pas due à une diminution des capacités à inhiber la synthèse protéique, nous avons mesuré le degré d'inhibition de la synthèse protéique dans le cerveau suite à l'administration d'ANI en i.p. à P3, P10 et P18. L'analyse de l'incorporation d'un acide aminé radiomarqué dans les protéines nouvelles synthétisées révèle que l'ANI inhibe plus de 90% de la synthèse protéique, quelque soit l'âge. L'inhibition de la synthèse protéique par l'ANI ne semble pas évoluer au cours du développement post-natal. **Le déclin du gradient temporel d'efficacité serait donc bien le reflet d'une « accélération » de la mémorisation au cours du développement.**

Les dynamiques temporelles de la consolidation et de la reconsolidation de la mémoire se raccourcissent progressivement au cours du développement post-natal.

Research

The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during postnatal development

Solène Languille, Nadège Gruet, Paulette Richer, and Bernard Hars¹

Université Paris-sud, Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, UMR 8620, CNRS, 91405 Orsay, France

The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation of taste/odor aversion memory are evaluated during rat pup growth at postnatal days 3, 10, and 18. This is assessed through the temporal gradients of efficacy of a protein synthesis inhibitor (anisomycin) in inducing amnesia after either acquisition (consolidation) or reactivation (reconsolidation). The results show a progressive reduction with age of the delay during which the inhibitor is able to induce amnesia. Control experiments rule out a reduction of anisomycin efficacy due to blood brain barrier growth or decrease in protein synthesis inhibition. Thus, these results present the first evidence that the protein synthesis-dependent phase of memory stabilization requires less time with age. This decrease occurs in parallel for consolidation and reconsolidation. Such changes in the dynamics of memory processing could contribute to the cognitive improvement associated with development.

Neurobiological changes occurring during development have been extensively explored, but the functional consequences of these changes for cognition are still not well understood. Research on cognitive development has demonstrated very early learning capacities in vertebrates; different kinds of associative learning may be acquired by neonates and even by the fetus (Smotherman et al. 1982; Kehoe and Blass 1986; Cheslock et al. 2000; Sullivan 2001; Smotherman 2002; Gruet et al. 2004a; Shionoya et al. 2006). Some of these early acquisitions have been shown to be retained in the long term, but the characteristics of long-term memory in the course of development are still poorly known, particularly concerning its stabilization.

In the adult, it is well known that memory stabilization is not instantaneous but requires time for the biological processes involved. To be stored in the long term, the memory trace must be consolidated (McGaugh 1966, 2000) and this consolidation requires new protein synthesis (Davis and Squire 1984). Thus, protein synthesis inhibitors given at the time of acquisition, or just afterward, cause amnesia by blocking consolidation. Recently, numerous experiments have enriched this notion by showing that retrieval of a previously consolidated memory induces a new period of lability and that stabilization of the memory in the long term requires a new wave of protein synthesis (for reviews, see Nader 2003; Dudai and Eisenberg 2004; Alberini 2005; Sara and Hars 2006), demonstrating the so-called reconsolidation phenomenon (Nader et al. 2000; Sara 2000).

Despite the theoretical importance of consolidation and reconsolidation, little is known about the emergence of these characteristics of memory during development. We have recently shown that consolidation and reconsolidation can be detected in the neonate and so may be considered as innate properties of memory processing (Gruet et al. 2004b). However, that does not rule out any possibilities of ontogenetic modifications of these memory characteristics. An indication of this possibility is that retrograde amnesia may be induced in the pup one hour after conditioned aversion training, a delay which has never been ob-

served in the adult in the same kind of learning. Thus, the present experiments are aimed at testing the hypothesis that the temporal dynamics of consolidation and reconsolidation may change during postnatal development.

To address this question, conditioned taste/odor aversion is a convenient paradigm as this basic learning may be acquired by the pup (Gruet et al. 2004b) and followed until adulthood. Using this paradigm (Garcia et al. 1966), the pup receives aromatized milk (conditioned stimulus [CS]) in a suckling session, followed by LiCl injection inducing a malaise (unconditioned stimulus [US]). The pup associates milk and malaise, thereby, refusing the nipple with aromatized milk when presented later. To assess the requirement of *de novo* protein synthesis for memorization of this learning, we gave the protein synthesis inhibitor anisomycin (AN) after either acquisition (consolidation) or reactivation (reconsolidation). To detect a modification with age of this requirement for new protein synthesis, the amnesic effect of AN in both conditions was evaluated in the infant rat at different stages of the pre-weaning period: postnatal days 3 (P3), 10 (P10), and 18 (P18).

Results

Post-trial effect of anisomycin when given at different ages

We first tested whether protein synthesis was required for aversion memory consolidation and reconsolidation at different pre-weaning ages. Protein synthesis was blocked by injecting AN immediately after either training or retrieval. This treatment was applied to pups that were conditioned at P3, P10, or P18.

Consolidation

At each age, rat pups were subjected to two conditions: either conditioned (CS-US) or nonconditioned (CS--US); for the latter, the CS and US were separated by a long delay. In each condition, one group received AN and the other saline *i.p.* immediately after the US.

A two-way ANOVA (condition \times drug) revealed a significant interaction at P3 ($F_{(1,38)} = 12.65$; $P = 0.001$), at P10

¹Corresponding author.

E-mail bernard.hars@u-psud.fr; fax 33-1-69-15-77-26.

Article is online at <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.933208>.

($F_{(1,23)} = 44.24$; $P < 0.0001$), and at P18 ($F_{(1,45)} = 11.78$; $P = 0.001$) with a main effect of condition and drug, indicating a differential effect of AN on paired and nonpaired groups (see Fig. 1A).

At P3, P10, and P18 the pups of the paired CS-US group expressed a clear aversion when compared with those of the nonpaired CS---US group ($P < 0.0001$ in each case), thus the conditioning was effective at the three ages.

AN had no nonspecific effect on retention performance; the two nonconditioned groups, with or without AN, were not different at any age.

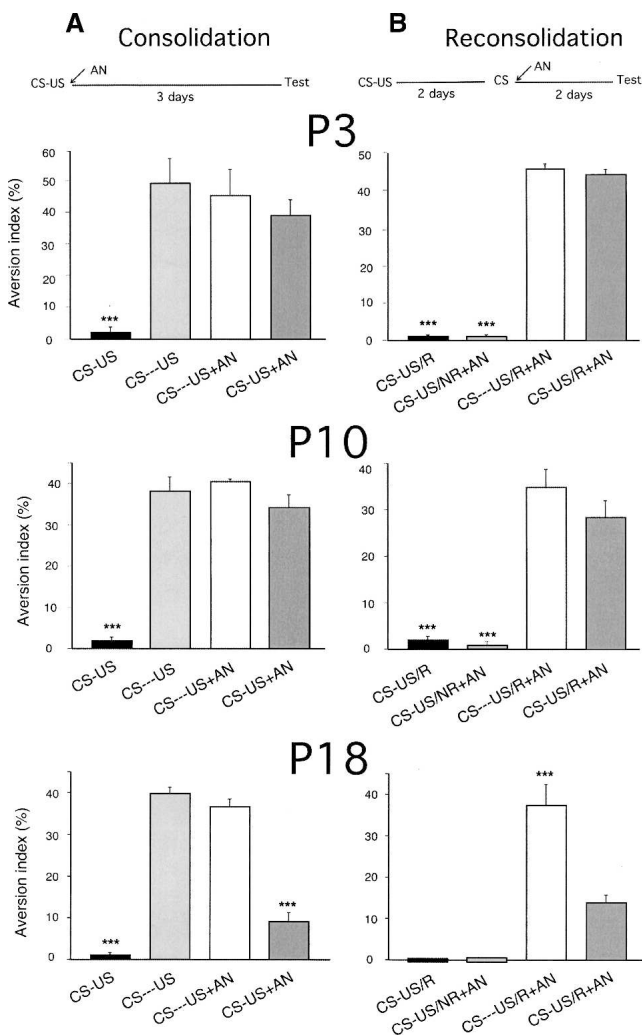


Figure 1. Effect of anisomycin (AN) at a dose of 42 mg/kg, given immediately after training (A) or after reactivation (B) in rat pups. Training was at different ages after birth: P3, P10, or P18. The lower the index, the more the aversion. (A) Pups of group CS-US ($n = 11, 7, 13$) received aromatized milk paired with LiCl and those of CS-US+AN ($n = 10, 7, 12$) received AN i.p. immediately after pairing. Two control groups were submitted to an unpaired condition (~8 h between CS and US), either followed by saline (CS---US, $n = 12, 6, 12$) or by AN injection (CS---US+AN, $n = 9, 7, 12$). Retention test took place 3 d after training. (B) Two groups were paired and reactivated either without (CS-US/R, $n = 11, 8, 8$) or with AN treatment (CS-US/R+AN, $n = 12, 8, 9$). A control group was unpaired, cued, and received AN (CS---US/R+AN, $n = 12, 7, 9$), and another one was paired but was not reactivated before AN (CS-US/NR+AN, $n = 12, 9, 9$). Reactivation took place 2 d after training and retention test 2 d later. Error bars indicate SE. *** $P < 0.001$. When learning was either on P3 or P10, anisomycin abolishes conditioned aversion after both training and reactivation. On P18 pups, anisomycin has only a partial amnesic effect in both conditions.

AN abolished the conditioned aversion at P3 and P10; at these ages the aversion behavior of the conditioned pups receiving AN was not significantly different from those of the nonconditioned ones ($P > 0.05$) but was different from those of the conditioned non-AN-treated ones ($P < 0.001$). At P18 the amnesia was weaker; the conditioned AN-treated pups expressed an intermediary aversion between conditioned non-AN-treated ones and nonconditioned ones; these pups were different from those of the three other groups ($P < 0.001$ in each case).

Reconsolidation

In these experiments we also used four groups: Two groups were conditioned and cued (CS alone) 2 d later, one without AN (CS-US/R) and the other receiving AN just after the cue (CS-US/R+AN), and two groups were nonconditioned, one receiving AN after the cue (CS---US/R+AN) and the other one was not cued but received AN at the same moment (CS---US/NR+AN). One-way ANOVA revealed an effect of group at the three ages ($F_{(3,43)} = 567$; $P < 0.0001$, $F_{(3,28)} = 45.38$; $P < 0.0001$, and $F_{(3,31)} = 39.53$; $P < 0.0001$, respectively) (see Fig. 1B).

The cueing episode did not alter aversion memory; the aversion was expressed in the conditioned and cued non-AN-treated pups when compared to the nonconditioned ones at the three ages ($P < 0.0001$ in each case).

AN never had an amnesic effect when it was not contingent to the cue; at every age the conditioned noncued pups receiving AN expressed aversion similar to that of the conditioned non-AN-treated ones ($P > 0.05$ in each case).

AN after cueing had a full amnesic effect on P3 and P10 pups; the conditioned pups receiving AN post-cueing did not differ from the nonconditioned ones ($P > 0.05$ in the two cases). This effect was smaller in P18 pups, whose performance fell halfway between those of conditioned and nonconditioned ones ($P = 0.0019$ and $P < 0.0001$, respectively). At this age the amnesia generated by AN after the cue was only partial.

These results are in accordance with data obtained in the adult showing that new protein synthesis is required for memory consolidation and for reconsolidation of a reactivated memory. However, in the P18 pups, the amnesic effect of AN is weaker after either acquisition or reactivation. Thus, the question that arises is whether this decline of retroactive amnesia results from an abrupt or a progressive decrease of the time frame of protein synthesis-dependent memory formation.

Temporal gradients of AN efficacy at different ages

To address this question, these experiments were designed to determine the temporal gradients of efficacy of AN on aversion memory at different ages, P3, P10, and P18, after either acquisition or reactivation. In both conditions, six groups of conditioned pups received AN i.p. at different delays: 0, 15 min, 30 min, 1 h, 6 h, and 24 h.

Consolidation

When AN was given immediately after conditioning at the three ages, the resulting amnesia was similar to that observed in the previous experiment, confirming the reliability of these data.

The efficacy of AN decreased when its time of delivery was delayed, thus demonstrating a temporally graded effect (one-way ANOVA, delays 0–24 h; at P3: $F_{(5,42)} = 29.72$, $P < 0.0001$; at P10: $F_{(5,49)} = 26.68$, $P < 0.0001$; at P18: $F_{(5,40)} = 9.03$, $P < 0.0001$). The temporal gradients of efficacy shortened as the pups developed (see Fig. 2A). At P3 with a delay of one hour AN efficacy decreased; this group was different from both the conditioned non-AN-treated ($P < 0.0001$) and the conditioned receiving AN immediately ($P = 0.006$). AN had no effect with 6- and 24-h delays;

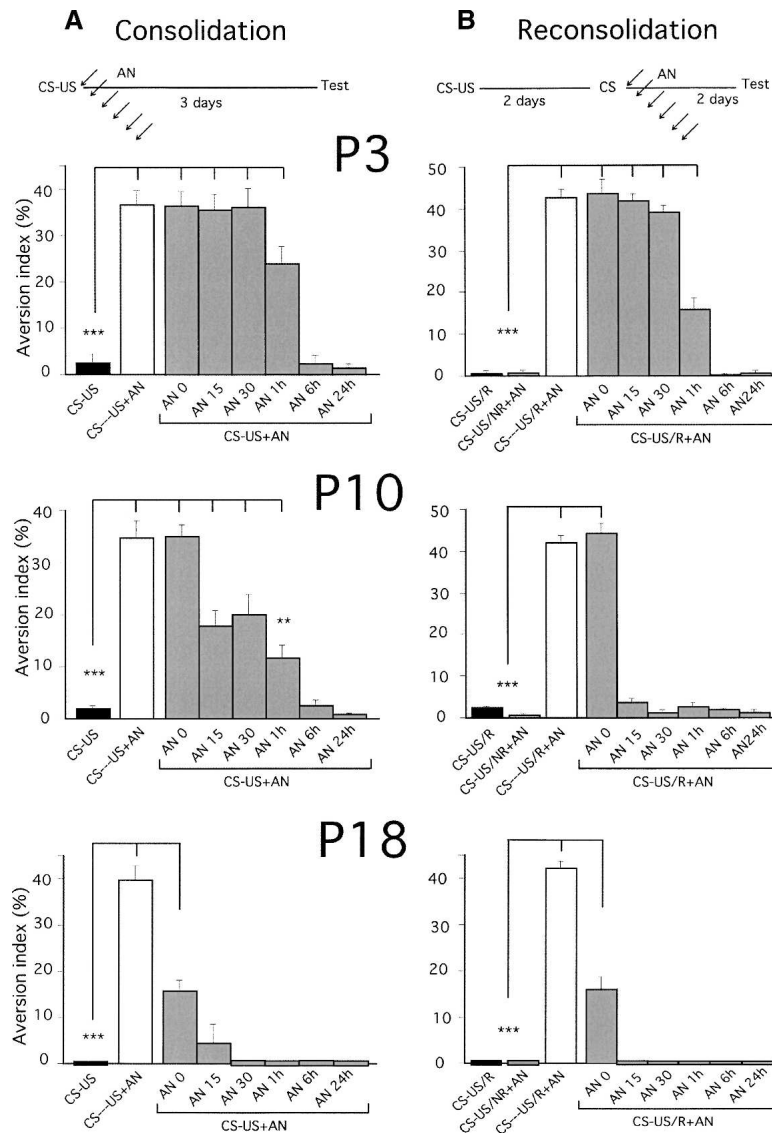


Figure 2. Time-dependent effect of anisomycin after acquisition or reactivation. At the different ages (P3, P10, P18) AN was given at different delays after training (A) or reactivation (B), either immediately (AN 0) or 15 min, 30 min, 1 h, 6 h, or 24 h. (A) CS-US, pups of groups conditioned at P3, P10, or P18 ($n = 7, 9, 8$); CS--US+AN, unconditioned pups receiving AN at P3, P10, or P18 ($n = 8, 8, 9, 7, 8, 8$); CS-US+AN, conditioned pups receiving AN at different delays at the different ages: P3 ($n = 8, 8, 9, 7, 8, 8$), P10 ($n = 10, 10, 9, 9, 9, 8$), P18 ($n = 7, 8, 8, 8, 8, 7$). (B) CS-US/R, pups conditioned at P3, P10, P18 and reactivated ($n = 8, 9, 8$); CS-US/R+AN, conditioned and reactivated pups receiving AN at different delays, P3 ($n = 8, 8, 8, 7, 8, 8$), P10 ($n = 9, 9, 9, 9, 8, 8$), P18 ($n = 9, 8, 8, 9, 9, 8$); CS-US/NR+AN, pups conditioned but nonreactivated receiving AN ($n = 9, 9, 9$); CS--US/R+AN, pups nonconditioned, cued, and receiving AN ($n = 8, 9, 8$). Error bars indicate SE. *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$. Note that the temporal gradient of efficacy of AN shortens with age after either acquisition or reactivation.

these groups did not differ from the conditioned non-AN-treated one.

At P10, AN efficacy decreased with delays of 15 and 30 min; both these groups differed from the conditioned one receiving AN immediately after training ($P < 0.0001$ in each case). The amnesia was even less marked with 1-h delay; in this group, the aversion was stronger than in the 30-min delay ($P = 0.01$), but weaker than in the 6-h one ($P = 0.01$).

At P18, the decrease in the AN efficacy was faster than in the younger pups. AN administered at time 0 had a weak efficacy; the conditioned pups receiving AN were different from both the conditioned non-AN-treated and nonconditioned ones ($P < 0.0001$

in both cases). From time 15 min to 24 h every group expressed an aversion identical to that of the conditioned non-AN-treated one ($P > 0.05$).

Reconsolidation

The results confirmed the amnesic effect when AN was given immediately after reactivation and also its lack of effect when it was not paired with a reminder cue.

As observed in the previous experiments, the delay of delivery determined the efficacy of AN treatment (one-way ANOVA, delays 0–24 h; at P3: $F_{(5,41)} = 118, P < 0.0001$; at P10: $F_{(5,47)} = 214, P < 0.0001$; at P18: $F_{(5,45)} = 30.5, P < 0.0001$). The impairment in aversion memory progressively decreased as the interval between cueing and AN injection increased (see Fig. 2B).

Overall, we observed a decrease in time during which AN was effective after reactivation as a function of age. At P3, the group receiving AN 1 h after reactivation had a lower retention than the conditioned and cued non-AN-treated ($P < 0.0001$). At P10, only the group with AN at time 0 differed from the conditioned and cued non-AN-treated ($P < 0.0001$), but the amnesia in this group was complete, since it did not differ from the nonconditioned group. At P18, the group receiving AN at time 0 showed a partial amnesia, since it differed from both the conditioned and nonconditioned ($P < 0.0001$ in each case).

These experiments reveal similar development-related reduction of temporal gradients after acquisition and reactivation. Thus, it seems that the temporal dynamics of consolidation and reconsolidation dependent on protein synthesis shorten with age.

Effect of intraventricular injection of AN at the different ages

The decrease of AN effectiveness in the pre-weaning period could also result from a decrease of AN penetration into the brain tissue. It is known that the blood brain barrier (BBB) matures at about 2 wk after birth (Utsumi et al.

2000); thus, it could result in a longer time required for AN to reach cerebral targets.

From the temporal gradients of efficacy, it appeared that the one-hour delay was a critical moment: AN was still effective at P3, its effectiveness decreased at P10, and it disappeared at P18. If the evolution of the gradients depends on BBB permeability, then intraventricular (i.c.v.) injection, which bypasses this barrier, should allow AN to keep a constant efficacy at the 1-h interval regardless of the age of the animals.

At the three ages we used two groups of conditioned animals: half received an i.c.v. injection of AN 1 h after conditioning at a volume adjusted for age (see Materials and Methods), the

others received a saline injection. At this 1-h interval we observed an evolution of the amnesic effect of AN i.c.v., as a function of age, similar to AN i.p. (see Fig. 3A). At P3, there was a clear retrograde amnesia ($P < 0.0001$); the amnesia was less marked at P10 but still present ($P = 0.016$) and it disappeared at P18. Thus, the putative obstacle created by BBB reinforcement cannot explain the loss of the amnesic effect of AN during development.

Effect of AN on protein synthesis at the different ages

To verify that the decrease in the amnesic effect of AN with age was not due to a decrease in its ability to inhibit protein synthesis, we measured protein synthesis inhibition in the brain induced by the same dose of AN i.p. injected (42 mg/kg) at P3, P10, and P18 as in the previous experiments. Protein synthesis inhibition was assayed by comparing the ratio of amino acid radio-labeled ^{35}S -methionine incorporated in two groups, one AN- and the other saline-injected. Results are presented in Figure 3B. The rates of inhibition at the three ages were of the same order, ~90% (95%, 93%, and 90%, respectively), which was congruent with the inhibition observed with a dose of AN of 30 mg/kg that induced >90% inhibition at a delay of 1 h (Davis et al. 1980).

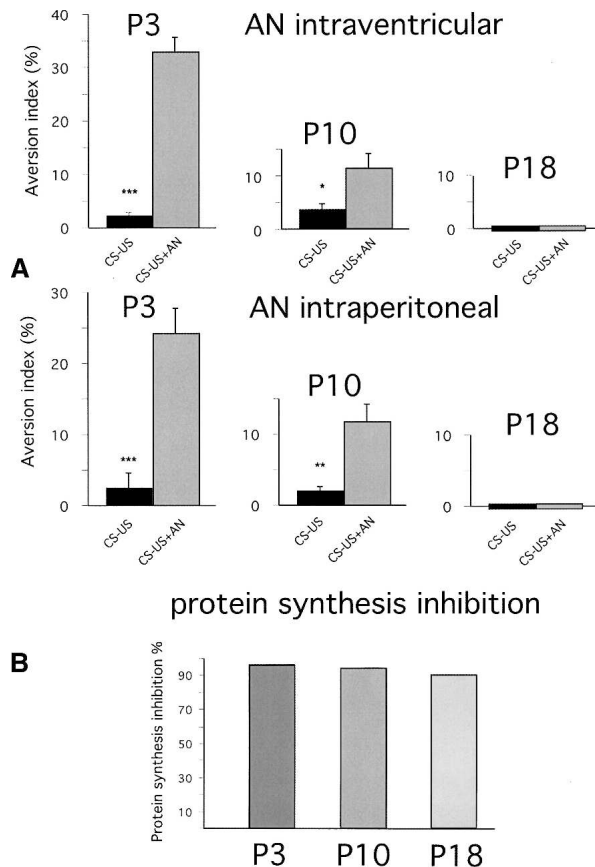


Figure 3. (A) Comparison of the effects of anisomycin one hour after acquisition at P3, P10, P18 when delivered either in intraperitoneal or intraventricular injections. CS-US, conditioned non-AN-treated pups (i.c.v., $n = 12, 10, 8$); CS-US+AN, conditioned pups which received AN (i.c.v., $n = 13, 10, 9$). Intraperitoneal results are extracted from Experiment 2. Error bars indicate SE. *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$. In both conditions the amnesic effect of AN decreases similarly from P3 to P18. (B) Measures of protein synthesis inhibition by comparison of incorporation of ^{35}S -methionine in groups of pups receiving saline versus groups receiving anisomycin. Measures of inhibition were done one hour after injection. At the three ages, the protein synthesis inhibition induced by AN is $\geq 90\%$.

That reinforces the results of intracranial injections; a decrease in efficacy of AN cannot account for the decrease in its amnesic effect.

Temporal dynamics of consolidation and reconsolidation at the same age

The comparison between the temporal dynamics of consolidation and reconsolidation in the second experiment suggested the latter one could be shorter, and that was particularly detectable at P10. At this age AN was still effective 1 h after acquisition but had no effect with 15-min delay after retrieval. However, it must be noted that reconsolidation occurred 2 d after consolidation and the aging of animals could also be the cause of this difference. To test these two possibilities, we measured the duration of efficacy of AN when consolidation occurred at P12 instead of P10. The results showed (Fig. 4) that the temporal gradient of efficacy was halfway between these obtained on P12 for reconsolidation and on P10 for consolidation. Like for reconsolidation, AN had no effect when delivered on 30-min and 1-h time points. But like for consolidation at P10, AN had a partial amnesic effect when delivered 15 min after acquisition. This group differed from both the conditioned non-AN-treated one and the conditioned one which received AN immediately ($P = 0.004$ and $P = 0.0001$, respectively). Thus, it seems that 2 d of development cannot totally account for the decrease of the temporal gradient, as P12 consolidation appears still longer than reconsolidation.

Effect of a high dose of AN on post-weaning rats

Considering the very short period during which the AN was effective at the end of nursing, we tested the effect of AN at a dose of 210 mg/kg, the highest dose generally used in the adult (Davis et al. 1980; Tronel et al. 2005), in post-weaning rats at the age of P35. The animals were autonomous, so they were submitted to a conventional paradigm of conditioned taste aversion where they were allowed to drink aromatized water (CS) from pipettes and 30 min later poisoned (US) by LiCl injection. As the delay of AN efficacy post-trial could be too brief, we also delivered AN half an hour pretrial, in consolidation or reconsolidation conditions.

The results are presented in Figure 5. When AN was injected immediately after training in the conditioned group (CS-US+AN), a partial impairment of the aversion was observed; these rats were different from those of the conditioned non-AN-treated group ($P = 0.017$) and from those of the unconditioned control groups ($P < 0.0005$ in both cases). When AN was administered 30 min before training (AN+CS-US) the impairment of aversion was more obvious, these rats were not significantly different from those of the nonconditioned groups ($P > 0.05$), and they tended to express less aversion than those of the conditioned group injected after training ($P = 0.1$).

Immediately after reactivation AN at 210 mg/kg had no effect. The conditioned rats receiving AN (CS-US/R+AN) were not significantly different from the conditioned non-AN-treated ones ($P > 0.05$), but an effect of AN was found using the same dose administered 30 min before the reactivation session. Rats in this conditioned group (CS-US/AN+R) showed partial impairment of the aversion; these rats were different from those of the other conditioned groups and those of the nonconditioned group ($P < 0.0001$ in all cases).

These results show that at P35 even a high dose of AN delivered immediately after acquisition or reactivation induces a weak amnesia and that dose is more efficient when administered earlier.

Discussion

The main result of these experiments is that the temporal gradient of efficacy of anisomycin to induce amnesia decreases after

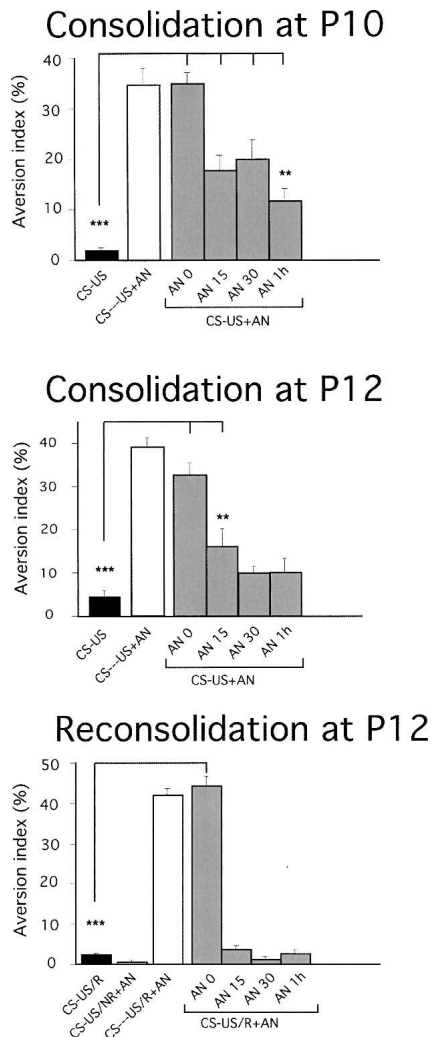


Figure 4. Temporal dynamics of consolidation and reconsolidation at the same age. Consolidation at P12 shows the post-acquisition effect of AN when training was on P12; CS-US, conditioned pups ($n = 10$); CS--US+AN, unconditioned pups ($n = 10$); CS-US+AN, conditioned pups receiving AN at different delays, either 0, 15, 30 min or 1 h after acquisition ($n = 10, 11, 10, 10$). Reconsolidation at P12 shows the post-reactivation effect of AN when training was on P10 and reactivation on P12. Consolidation at P10 and reconsolidation at P12 are extracts from Experiment 2. Error bars indicate SE. $***P < 0.001$; $**P < 0.01$. At P12, AN post-acquisition had an amnesic effect at time 15 min but was ineffective at this delay after reactivation. Thus, at the same age reconsolidation appears shorter than consolidation.

both acquisition and reactivation as a function of animal growth (Fig. 2). This phenomenon allows different interpretations along three lines: (1) It may reflect a decrease of effectiveness of AN to inhibit protein synthesis; (2) the conditions of learning may evolve with age so that the amnesic agent loses its effectiveness; and (3) the processing of memory may become less time-demanding with age.

First, it can be proposed that AN loses its efficacy to induce amnesia during a prolonged period of time because it takes more time to reach its cellular target as the subjects grow. Another possibility is that the catabolism of AN accelerates with age so that inhibition does not last for enough time in the oldest pups. In either case, it will not have sufficient early protein inhibition after learning or reactivation. Two arguments rule out this interpretation: (1) This cannot be due to the reinforcement of the

blood brain barrier since intraventricular injection at 1 h after learning produces the same amnesic effects at the three ages as when given intraperitoneally (Fig. 3A); thus, skirting the blood brain barrier does not extend the time during which AN is effective. (2) The effectiveness of AN measured 1 h after i.p. injection is maintained at the three ages (Fig. 3B). In either case the protein synthesis inhibitions are $\geq 90\%$, above the level required for inducing amnesia (80%–90%) (Davis et al. 1981; Davis and Squire 1984; Milekic and Alberini 2002; Dudai 2004; Luft et al. 2004). It must be noted that at this one-hour delay AN-delivered i.p. is still effective to induce amnesia in P3, the protein synthesis-dependent consolidation is not finished, AN has no effect in P18, and consolidation and reconsolidation appear completed at this delay.

Moreover, we have tested the effect of a high dose of AN (210 mg/kg) which inhibits $>97\%$ of protein synthesis (Milekic and Alberini 2002) on conditioned taste aversion memory in autonomous rats (P35) with AN injection before (30 min) or immediately after acquisition or reactivation. In these conditions the induced amnesia was more marked when AN was injected 30 min before the trial; after acquisition the amnesia was weak and nil when given after reactivation (Fig. 5). These results at P35 with a high dose of AN confirm the effect observed at P18 with a low dose. For all these reasons, it appears that the decrease of the time bound amnesic effect of AN cannot be explained simply by a decrease of effectiveness of AN on protein synthesis with age.

Second, age variations in the time course of AN effectiveness may result from differences with age in the establishment of learned aversion and thus in the level of conditioning. Arguing against this is the fact that there is no obvious change in the rate of conditioned response with age; at the three ages all conditioned saline-treated rats exhibit a strong aversion. But it could be argued that similar rates of conditioning may result from a

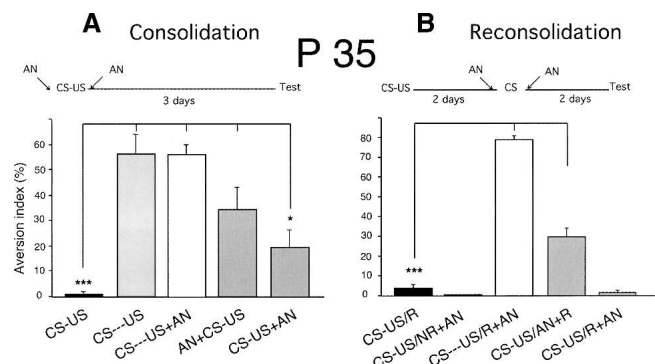


Figure 5. Effect of anisomycin at a dose of 210 mg/kg delivered after or before either acquisition (A) or reactivation (B) in P35 rats. The rats were conditioned on P35 to taste aversion by drinking aromatized water (CS) and then poisoning (US) by LiCl injection. As in the previous experiments, retention test for consolidation took place 3 d after training. For reactivation the cueing episode took place 2 d after training and retention test was 2 d later. The used groups were the same as in Experiment 1; the only differences are that one group received AN 30 min before training (AN+CS-US, $n = 9$) and one before cueing (CS-US/AN+R, $n = 8$). (A) CS-US, conditioned ($n = 11$); CS-US+AN, conditioned receiving AN immediately after training ($n = 11$); CS--US, nonconditioned ($n = 11$); CS--US+AN, nonconditioned receiving AN ($n = 11$). (B) CS-US/R, conditioned and reactivated ($n = 10$); CS-US/R+AN, conditioned and reactivated receiving AN immediately after cueing ($n = 8$); CS--US/R+AN, nonconditioned and cued receiving AN ($n = 10$); CS-US/NR+AN, conditioned but nonreactivated receiving AN ($n = 10$). Error bars indicate SE. $***P < 0.001$; $*P < 0.05$. At P35, a high dose of AN has only a partial amnesic effect and this effect is more obvious when it is given before acquisition or reactivation. In post-trial administration, note the similarity with the effects of AN at P18 obtained in Experiments 1 and 2 though here the dose of AN was fivefold higher.

ceiling effect, the aversion being too strong at either age to reveal any differences in conditioning. These differences could be due to variation of the impact of deprivation on the pups. For instance the stress resulting from dam separation may have hormonal and neural consequences changing during growth. That could induce differences in the internal context of the pups at the time of learning, thereby causing differences in the sensitivity to the amnesic agent. In the same way, a one-night fast may induce different declines in energetic reserves of the pups at P3 and P18. One can think that P3 pups are more dependent on suckling than the P18 ones, so that the younger have a greater decrease in glucose availability that may impair memorization (Gold 2005). But, on the other hand, it could induce a greater hunger in the P3 pups and so a stronger motivation for the milk, which can facilitate learning and make it more resistant to amnesia.

The salience of CS and US used for conditioning may vary with age. In the P3 pups the contrast between taking milk from the surrogate nipple and from the mother may be less obvious than in the P18, even if the milk is aromatized to be distinct from the mother's one. The reduced salience of the CS in that case may lessen conditioning and render the memory trace more sensitive to the amnesic agent (McGaugh 1966; Flood et al. 1972). That would be in accordance with the complete amnesia observed when AN is given after acquisition at P3 and P10, and not at P18 (Figs. 1, 2). However, to assume that the memory is weaker in the P3 pups does not fit well the results obtained after reactivation. Indeed it has been shown that reactivation of a weak trace leads to extinction; consequently, an amnesic treatment acting on this new learning protects the original memory (Eisenberg et al. 2003). That is not the case here, since cueing induces a new period of sensitivity to amnesia of the original memory, thus indicating that memory formed at P3 is a strong one.

Concerning the US (discomfort), its salience may also vary with age, or its reinforcing value could change during the nursing period and so modify the level of conditioning. Nevertheless, there is a strong similarity in the evolution of temporal gradients after both acquisition and reactivation at the different ages, even though the US is missing for reactivation.

That leads to a third line of interpretation, which considers that the time frame of protein synthesis-dependent memory trace stabilization changes as the animal develops. This proposal agrees with conditioned taste aversion data in the adult where the amnesic effect of protein synthesis inhibition is always obtained with treatment delivered before the end of training (Tucker and Oei 1982; Rosenblum et al. 1993; Houpt and Berlin 1999; Berman and Dudai 2001). These data, taken together with the results of the present experiments, suggest that the training-to-treatment time window for impairing long-term memory of conditioned aversion is very short in the adult.

By suggesting that consolidation and reconsolidation grow shorter with age, we do not mean that the temporal gradient of efficacy of AN measures directly the duration of these processes. It is well known that the temporal gradients vary considerably with the nature of the amnesic agent used (McGaugh 1966; Gibbs and Ng 1978; Rosenzweig et al. 1993). However, by using the same dose of AN in the same task, we can have an indication of the duration of this crucial stage for long-term memory formation. With respect to this stage, the durations of consolidation and reconsolidation evolve in parallel during development; in the adult, similarities and differences between them are still being explored (Dudai 2004; Alberini 2005; Tronel et al. 2005; Davis and Laroche 2006; Sara and Hars 2006; Tronson and Taylor 2007). The parallelism observed here during postnatal development suggests that both involve some common processes.

The decrease in time necessary for both consolidation and

reconsolidation may reflect two different phenomena: (1) The processing of memory is similar at the different ages, as it is realized faster in the older rats, then the process accelerates. For instance, if the need for new proteins for stabilization of memory is constant from P3 to P18, then this requirement is more rapidly completed at P18. (2) The processing of memory decreases with development, so the operations need less time to be accomplished at a constant speed. For instance if the need in new proteins declines with age, the pool required for stabilization is produced in a shorter time. Either by an acceleration or a reduction of memory processing the observed result is the same, i.e., a decrease of the duration during which the memory remains sensitive to disruption by AN.

About the effect of AN, our basic assumption is that it impairs memorization by blocking protein synthesis, but it is known that AN, like many drugs, has effects on other biochemical and physiological targets. It has even been proposed that some of these side effects could be the actual causes of its amnesic effect. This issue has been previously debated (see Davis and Squire 1984) but not completely resolved and has currently been reexamined in the light of new data. For instance Gold's group shows that AN triggers an overshoot of norepinephrine (NE) and that an excess in NE around the time of training may impair memory (Canal et al. 2007). On the other hand, Rudy and colleagues propose that AN may induce apoptosis and so damage the neural population supporting the memory (Rudy et al. 2006). AN may also induce a "superinduction" of immediate-early genes, which could impair cellular mechanisms of memory formation (Radulovic and Tronson 2008). This discussion is not closed and there are still a majority of recent papers interpreting the amnesic effect of AN by its blockage of protein synthesis. Hernandez and Abel (2008) argue that recent, more targeted approaches, at the molecular and genetic levels, fit the hypothesis that protein synthesis plays an important role in memory formation. In this line of reasoning we have shown in the same paradigm that MAPK/ERK pathway is necessary for consolidation and reconsolidation of memory in pups (Languille et al. 2007).

It is not impossible that the amnesic effect of protein synthesis inhibitors could be multifaceted, but, regardless of the outcome of this debate, the main fact here is that memory escapes more rapidly from lability with development. Thus, a question arises about the causes of the decrease in time required for memory processing. Brain maturation continues during weeks after birth, neurogenesis and neuronal migrations have not ended, and synaptogenesis and myelination processes are very active (Bayer et al. 1993; Rice and Barone 2000). Considering this, some possibilities among many may be offered for changes in learning ability or memory processing.

Shortening of time required for memory stabilization may result from a preparation of the neural network in which the memory trace is embedded. If the establishment of the memory trace requires modification of the network, these modifications may be easier to implement because of the enrichment of neural connectivity during growth. At the time of new learning, there would be an easier integration of the new information into a well-established underlying network. The fact that at P12 the time window of AN sensitivity was shorter after retrieval than after learning argues in favor of this view; reconsolidation of a memory seems to benefit from the reinforcement previously implemented during its consolidation. On the other hand, in older rats AN never induced a total amnesia like in P3 and P10 pups, even with a high dose of AN given before training. A part of memory escapes from the impairment, which suggests that the memory becomes less dependent on *de novo* protein synthesis with age.

Arousal may have a facilitative effect on acquisition and also

on memorization. Treatments that increase the level of brain activation such as psycho-stimulant drugs or brain stimulation improve memory when administered during consolidation (McGaugh 1966; Bloch 1970) or reconsolidation periods (Deviatti et al. 1977). Enhanced brain activation along with growth may facilitate memory processes and so shorten the time for memory stabilization. That could result from maturation of modulatory systems such as cholinergic and noradrenergic systems (Harley 2004; Moriceau and Sullivan 2004; Field et al. 2007; Mellott et al. 2007), which are both involved in arousal and memory. It could be noted that a release of catecholamines with AN (Canal et al. 2007), given developmental differences in sensitivity to these modulators, may also explain why AN affects pups of different ages differently. For instance, lack of autoinhibition in locus coeruleus could render the pups more sensitive to noradrenaline (Nakamura and Sakaguchi 1990; Moriceau and Sullivan 2004).

Change in memory processes may also result from change in the neural circuits involved. Sullivan and colleagues, using odor-shock conditioning, which induces an approach response before P10 and avoidance afterward, have clearly demonstrated that the paradoxical preference in the younger pups reflects the inability to engage the amygdala at the time of learning (Sullivan 2001). They confirm this key role of the amygdala in pup learning in a paradigm of odor aversion where an odor is paired with lithium chloride injection. They show that conditioning induces an odor aversion in P7, P12, and P23 pups and that the aversion is independent of amygdala in P7 and P12 pups, but implicates it in P23 pups. The neural circuit supporting the same learned behavior may be different in the pup and the weanling rat (Shionoya et al. 2006). Such a change in the substrates of learning may involve differences in memory processing and modify its duration.

Regardless of the mechanisms involved in the memory processes growing shorter, this phenomenon could be one of the factors responsible for the cognitive improvement seen in the course of growth. For instance, the longer period of lability of memory makes it more fragile in the young and should be a factor in infantile amnesia (Campbell and Spear 1972). Of course, in normal life, pups are not given anisomycin, but an early memory should stay more sensitive to retroactive interference, which can impair its later retrieval. By making a new memory less vulnerable, the saving of time may improve the capacity to store new items and to update memory.

Interestingly, a symmetrical phenomenon could exist during aging. Davis and colleagues measured the amnesic effect of AN in mice of three age groups. They find a prolonged gradient of retrograde amnesia in the older mice (14–15 mo) as compared to young (2–3 mo) or intermediate (6–7 mo), and they demonstrated that this prolongation could not be accounted for by differential inhibition of brain protein synthesis (Davis et al. 1981). That suggests the memory processes grow shorter during growth and get longer in old age. Similarities in infants and old rats have been also underlined in the retrieval of memories after forgetting (Spear 1976). Similarities in the dynamics of memory at the beginning and the end of life does not necessarily imply they are attributable to common mechanisms. Nevertheless, modifications in cognitive abilities occurring during growth and senescence could be better understood by taking into account changes in the temporal dynamics of memory processes.

Materials and Methods

Subjects

Male and female Wistar rat pups (originating from Wistar parents; Iffa-Credo) were used as subjects. On the day of birth (P0),

litters were culled to six pups. The litters were kept with their respective mothers until the age of 22 d. The mothers and their litters were housed in standard maternity cages with ad libitum access to food and water, and maintained in a temperature-controlled colony room on a 12-h light/dark cycle. All experimental procedures were performed in conformity with national (JO 887-848) and European (86/609/EEC) legislation.

Anisomycin administration

Intraperitoneal injection (i.p.)

On the days of conditioning or of reactivation, anisomycin (AN) (Sigma), dissolved in 0.9% saline and adjusted to pH 7.2 with 1 N HCl, was injected i.p. (42 mg/kg or 210 mg/kg in the last experiment) after training or reactivation. The dose of 42 mg/kg was previously shown to be effective in producing a total amnesia in P3 pup (Gruest et al. 2004b) and the dose of 210 mg/kg is the upper one commonly used in adult rodent (Davis et al. 1980; Tronel et al. 2005). Control rats were injected with 0.9% saline.

Intraventricular injection (i.c.v.)

One hour after conditioning, animals were briefly anesthetized with inhalation of isoflurane vapor, and AN (25 μ g/ μ L, ~0.3% brain weight: 2 μ L for P3, 2.5 μ L for P10, and 3.5 μ L for P18) was injected in the left ventricle (0.5 mm posterior to bregma, 1 mm lateral to the sagittal suture; depth, 3 mm). Control rats received a saline injection in the same conditions.

Training procedure

We used a paradigm of conditioned taste/odor aversion in pups and P35 rats. In this paradigm, the conditioned stimulus (CS; peach-aromatized drink) was given for 10 min and paired 30 min later with an injection of 0.15 M LiCl (2% body weight, i.p.; Sigma) that causes an immediate malaise (unconditioned stimulus, US). In pups the CS (peach-aromatized milk; Régilait) was given via a surrogate nipple and in P35 rats it was via 12-mL pipettes (peach-aromatized water). In pups and P35, control rats were submitted to an unpaired condition with a long delay (~8 h) between CS and US.

Pups were isolated from the dam ~11 h before training and were exposed in the morning to the surrogate nipple as described in previous articles (Petrov et al. 1997; Gruest et al. 2004b). All pups were returned to their dam at the same time ~3 h after the beginning of conditioning, regardless of treatment delays (see Fig. 6).

P35 rats were water-deprived 36 h before training. During this deprivation, free access to water was permitted for 15 min in the home cages at the end of the afternoon. On the day of training, pipettes filled with the CS were presented to the rats in an experimental room.

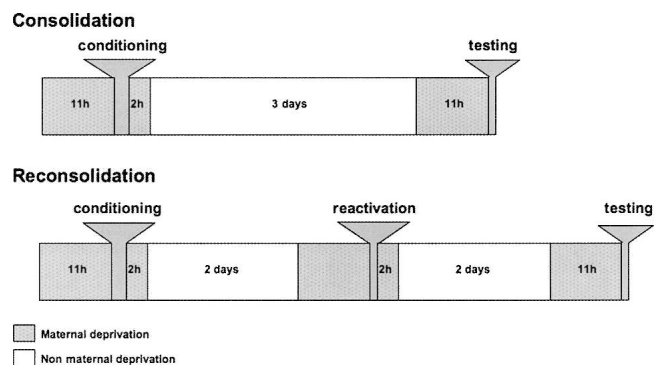


Figure 6. Pup's planning in consolidation and reconsolidation protocols.

Reactivation treatments

The reactivation session occurred 2 d after acquisition. In pups, reactivation consisted of intraoral contact with the surrogate nipple filled with aromatized milk. To equalize reactivation between pups, the nipple was imposed on the pups by putting it into their mouth for a 5-min period. Before cueing, all pups were isolated from the dams as for conditioning.

In P35 rats, reactivation consisted of a 5-min licking session in the experimental room, with pipettes containing peach-aromatized water. Immediately after this session and in order to equalize the treatments between rats, 2 mL of the aromatized water was delivered in the mouth via a syringe.

Testing

Three days after conditioning (consolidation) or 2 d after reactivation (reconsolidation), the CS was presented in the morning for a 10-min session, as described for conditioning.

For pups, this was conducted ~11 h following isolation from the dam. During testing, as for conditioning, the attractiveness of aromatized milk was assessed by the time spent attached to the nipple and the weight gain of pups during the suckling session. The two measures were generally well correlated, and we used the time of attachment as it appeared a more discriminative measure and showed better expression of the active response of the pups. This higher level of sensitivity of attachment has been showed before by Nizhnikov et al. (2002). The total time of attachment to the nipple was measured on-line by two experimenters who were blind to the pretreatment of the pups.

In P35 rats, this session was conducted following water deprivation, as for conditioning. All rats were exposed to pipettes filled with the aromatized water for 10 min. At the end of the session, fluid intake was measured with a precision of 0.1 mL.

Measurement of protein synthesis inhibition

The level of protein synthesis inhibition after i.p. injection of anisomycin was measured via incorporation of ^{35}S -labeled methionine (NEN) into newly synthesized proteins. Fifteen minutes after AN or NaCl 0.9%, animals ($n = 8/\text{group}$) were anesthetized with isoflurane, and 1 μL of ^{35}S -methionine (10 mCi/mL, containing 10 mM 2-mercaptoethanol, a stabilizer) was injected in the left ventricle. One hour after methionine injection, animals were decapitated, and the forebrain was quickly dissected on ice-cold PBS (pH 7.0). We took two tissue samples (40 mm³) per animal and they were analyzed independently.

Protein synthesis inhibition was measured using methods described previously (Luft et al. 2004). Briefly, the tissue sample was homogenized, centrifugated, and the supernatant was collected. Radioactivity of the protein pellet (trichloroacetic acid precipitable cellular protein fraction) and that of the supernatant were counted. For each animal, a pellet-to-supernatant index, I , was computed as the ratio of pellet scintillation counts to supernatant counts. The percentage of protein synthesis inhibition was then calculated using the following formula: $(1 - \text{mean } [I_{\text{AN}}] / \text{mean } [I_{\text{NaCl}}]) \times 100$.

Data analysis

To ensure independence of the data, only one pup from a litter was assigned to a given condition. A taste aversion index was calculated as the relative time spent attached to the nipple: $(\text{time during testing} / \text{total time during conditioning and testing}) \times 100$. This was chosen to limit the potential interindividual variability in the oral grasping response and to take into account the conditioning session. Thus, the more the pups refused the flavored milk nipple (aversion), the lower the score was.

In P35 rats the aversion scores for individual rats were expressed as the relative fluid intake: $(\text{fluid intake during testing} / \text{total fluid intake during conditioning and testing}) \times 100$. As for pups, this score was thus defined to minimize the effect of individual variability in fluid consumption, and the lower the score, the stronger the aversion.

ANOVA and t -tests were used for statistical analyses. Data

from both males and females were combined because ANOVA confirmed that there was no sex difference in any measures reported here.

Acknowledgments

We thank Susan Sara for critical comments on this manuscript; Mauricette Collado-Hilly and Jean-Claude Sulpice for teaching the measure of radiolabeled protein; and Pascale Veyrac, Nathalie Samson, and Gérard Dutrieux for their technical assistance.

References

- Alberini, C.M. 2005. Mechanisms of memory stabilization: Are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci.* **28**: 51–56.
- Bayer, S.A., Altman, J., Russo, R.J., and Zhang, X. 1993. Times tables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology* **14**: 83–144.
- Berman, D.E. and Dudai, Y. 2001. Memory extinction, learning anew, and learning the new: Dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* **291**: 2417–2419.
- Bloch, V. 1970. Facts and hypotheses concerning memory consolidation processes. *Brain Res.* **24**: 561–575.
- Campbell, B.A. and Spear, N.E. 1972. Ontogeny of memory. *Psychol. Rev.* **79**: 215–236.
- Canal, C.E., Chang, Q., and Gold, P.E. 2007. Amnesia produced by altered release of neurotransmitters after intraamygdala injections of a protein synthesis inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**: 12500–12505.
- Cheslock, S.J., Varlinskaya, E.I., Petrov, E.S., and Spear, N.E. 2000. Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling experience: Promotion of nipple attachment in the newborn rat. *Behav. Neurosci.* **114**: 484–495.
- Davis, S. and Laroche, S. 2006. Mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase signalling and memory stabilization: A review. *Genes Brain Behav.* **5**: 61–72.
- Davis, H.P. and Squire, L.R. 1984. Protein synthesis and memory: A review. *Psychol. Bull.* **96**: 518–559.
- Davis, H.P., Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., and Squire, L.R. 1980. Inhibition of cerebral protein synthesis: Dissociation of nonspecific effects and amnesic effects. *Behav. Neural Biol.* **28**: 99–104.
- Davis, H.P., Rosenzweig, M.R., Kinkade, P.T., and Bennett, E.L. 1981. Effects of anisomycin on retention of the passive-avoidance habit as a function of age. *Exp. Aging Res.* **7**: 33–44.
- Devietti, T.L., Conger, G.L., and Kirkpatrick, B.R. 1977. Comparison of the enhancement gradients of retention obtained with stimulation of the mesencephalic reticular formation after training or memory reactivation. *Physiol. Behav.* **19**: 549–554.
- Dudai, Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu. Rev. Psychol.* **55**: 51–86.
- Dudai, Y. and Eisenberg, M. 2004. Rites of passage of the engram: Reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* **44**: 93–100.
- Eisenberg, M., Kobilov, T., Berman, D.E., and Dudai, Y. 2003. Stability of retrieved memory: Inverse correlation with trace dominance. *Science* **301**: 1102–1104.
- Field, S.E., Rickard, N., Toukhsati, S., and Gibbs, M. 2007. Maternal hen calls modulate memory formation in the day-old chick: The role of noradrenaline. *Neurobiol. Learn. Mem.* **88**: 321–330.
- Flood, J.F., Bennett, E.L., Rosenzweig, M.R., and Orme, A.E. 1972. Influence of training strength on amnesia induced by pretraining injections of cycloheximide. *Physiol. Behav.* **9**: 589–600.
- Garcia, J., Ervin, F.R., and Koelling, R.A. 1966. Learning with prolonged delay of reinforcement. *Psychon. Sci.* **5**: 121–122.
- Gibbs, M. and Ng, K.T. 1978. Memory formation for an appetitive visual discrimination task in young chicks. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **8**: 271–276.
- Gold, P.E. 2005. Glucose and age-related changes in memory. *Neurobiol. Aging* **26**: 60–64.
- Gruet, N., Richer, P., and Hars, B. 2004a. Emergence of long-term memory for conditioned aversion in the rat fetus. *Dev. Psychobiol.* **44**: 189–198.
- Gruet, N., Richer, P., and Hars, B. 2004b. Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J. Neurosci.* **24**: 10488–10492.
- Harley, C.W. 2004. Norepinephrine and dopamine as learning signals. *Neural Plast.* **11**: 191–204.

- Hernandez, P.J. and Abel, T. 2008. The role of protein synthesis in memory consolidation: Progress amid decades of debate. *Neurobiol. Learn. Mem.* **89**: 293–311.
- Houpt, T.A. and Berlin, R. 1999. Rapid, labile, and protein synthesis-independent short-term memory in conditioned taste aversion. *Learn. Mem.* **6**: 37–46.
- Kehoe, P. and Blass, E.M. 1986. Conditioned aversions and their memories in 5-day-old rats during suckling. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* **12**: 40–47.
- Languille, S., Alcacer, C., Richer, P., and Hars, B. 2007. Inhibition of MAPK pathway blocks consolidation and reconsolidation of memory in the pup. In *8e Colloque de la Société des neurosciences*, Abstract K.32. Montpellier, France.
- Luft, A.R., Buitrago, M.M., Ringer, T., Dichgans, J., and Schulz, J.B. 2004. Motor skill learning depends on protein synthesis in motor cortex after training. *J. Neurosci.* **24**: 6515–6520.
- McGaugh, J.L. 1966. Time dependent processes in memory storage. *Science* **153**: 1351–1358.
- McGaugh, J.L. 2000. Memory—A century of consolidation. *Science* **287**: 248–251.
- Mellott, T.J., Follettie, M.T., Diesl, V., Hill, A.A., Lopez-Coviella, I., and Blusztajn, J.K. 2007. Prenatal choline availability modulates hippocampal and cerebral cortical gene expression. *FASEB J.* **21**: 1311–1323.
- Milekic, M.H. and Alberini, C.M. 2002. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* **36**: 521–525.
- Moriceau, S. and Sullivan, R.M. 2004. Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. *J. Neurosci.* **24**: 1182–1189.
- Nader, K. 2003. Memory traces unbound. *Trends Neurosci.* **26**: 65–72.
- Nader, K., Schafe, G.E., and Le Doux, J.E. 2000. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* **406**: 722–726.
- Nakamura, S. and Sakaguchi, T. 1990. Development and plasticity of the locus coeruleus: A review of recent physiological and pharmacological experimentation. *Prog. Neurobiol.* **34**: 505–526.
- Nizhnikov, M.E., Petrov, E.S., Varlinskaya, E.I., and Spear, N.E. 2002. Newborn rats' first suckling experience: Taste differentiation and suckling plasticity. *Physiol. Behav.* **76**: 181–198.
- Petrov, E.S., Varlinskaya, E.I., and Smotherman, W.P. 1997. The newborn rat ingests fluids through a surrogate nipple: A new technique for the study of early suckling behavior. *Physiol. Behav.* **62**: 1155–1158.
- Radulovic, J. and Tronson, N.C. 2008. Protein synthesis inhibitors, gene superinduction and memory: Too little or too much protein? *Neurobiol. Learn. Mem.* **89**: 212–218.
- Rice, D. and Barone Jr., S. 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environ. Health Perspect.* **108**: 511–533.
- Rosenblum, K., Meiri, N., and Dudai, Y. 1993. Taste memory: The role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav. Neural Biol.* **59**: 49–56.
- Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., Colombo, P.J., Lee, D.W., and Serrano, P.A. 1993. Short-term, intermediate-term, and long-term memories. *Behav. Brain Res.* **57**: 193–198.
- Rudy, J.W., Biedenkapp, J.C., Moineau, J., and Bolding, K. 2006. Anisomycin and the reconsolidation hypothesis. *Learn. Mem.* **13**: 1–3.
- Sara, S.J. 2000. Retrieval and reconsolidation: Toward a neurobiology of remembering. *Learn. Mem.* **7**: 73–84.
- Sara, S.J. and Hars, B. 2006. In memory of consolidation. *Learn. Mem.* **5**: 515–521.
- Shionoya, K., Moriceau, S., Lunday, L., Miner, C., Roth, T.L., and Sullivan, R.M. 2006. Development switch in neural circuitry underlying odor-malaise learning. *Learn. Mem.* **13**: 801–808.
- Smotherman, W.P. 2002. Classical conditioning in the rat fetus: Temporal characteristics and behavioral correlates of the conditioned response. *Dev. Psychobiol.* **40**: 116–130.
- Smotherman, W., Stickrod, G., and Kimble, D. 1982. In utero taste/odor aversion in the rat. *Physiol. Behav.* **28**: 5–7.
- Spear, N.E. 1976. Ontogenetic factors in the retrieval of memories. *Act. Nerv. Super. (Praha)* **18**: 302–311.
- Sullivan, R.M. 2001. Unique characteristics of neonatal classical conditioning: The role of the amygdala and locus coeruleus. *Integr. Physiol. Behav. Sci.* **36**: 293–307.
- Tronel, S., Milekic, M.H., and Alberini, C.M. 2005. Linking new information to a reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *PLoS Biol.* **3**: 1630–1638.
- Tronson, N.C. and Taylor, J.R. 2007. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat. Rev. Neurosci.* **8**: 262–275.
- Tucker, A.R. and Oei, T.P. 1982. Protein synthesis inhibition and amnesia for saccharin aversion memory in rats after intra-cisternal administration of cycloheximide. *Physiol. Behav.* **28**: 1025–1028.
- Utsumi, H., Chiba, H., Kamimura, Y., Osanai, M., Igarashi, Y., Tobioka, H., Mori, M., and Sawada, N. 2000. Expression of GFR α -1, receptor for GDNF, in rat brain capillary during postnatal development of the BBB. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **279**: C361–C368.

Received January 25, 2008; accepted in revised form April 7, 2008.

CHAPITRE 2

Dynamique de l'expression de la mémoire précoce.

Approach memory turns to avoidance memory with age

Languille S., Richer P., Hars B. (2009)

Behavioral Brain Research 202 : 278-284.

De nombreux changements se produisent au cours du développement ; le raton n'a pas le même répertoire comportemental lors de la formation de la mémoire et lors de l'expression de la mémoire à long terme. Néanmoins, on peut se demander sur quelles bases est exprimée la réponse conditionnée : la réponse comportementale correspond-elle à l'âge de l'acquisition ou bien à l'âge du test de rétention ? Pour répondre à cette question, le paradigme « odeur-choc » est particulièrement intéressant puisque ce conditionnement entraîne une réponse d'approche lorsqu'il est réalisé avant P10, et une réponse d'évitement après P10. Que devient cette réponse d'approche avec le simple passage du temps, plus précisément, est-elle maintenue (appropriée à l'âge de l'acquisition), ou s'inverse-t-elle (appropriée à l'âge du test) ?

Tout d'abord, nous avons vérifié qu'un conditionnement « odeur-choc » réalisé à P6 et à P12 entraîne respectivement une réponse d'approche et une réponse d'évitement 24 heures plus tard. Puis nous avons montré que les ratons conditionnés à P6 expriment une réponse d'évitement lors d'un test de rétention à P13. **La mémoire d'approche formée à P6 s'exprime par un évitement à P13.**

Nous avons également étudié la consolidation de la mémoire à P6 et à P12. Pour cela nous avons testé l'effet de l'anisomycine post-acquisition à P6 et à P12 sur la mémoire à court terme (testée à 4 heures) et sur la mémoire à long terme (testée 24 heures). Aux deux âges, l'anisomycine abolit la mémoire à long terme, mais ne perturbe pas la mémoire à court terme. **La consolidation de la mémoire d'approche (P6) et de la mémoire d'évitement (P12) nécessite la synthèse de nouvelles protéines.** De plus, les ratons ayant reçu de l'anisomycine après le conditionnement à P6 ne présentent plus de réponse d'évitement à P13. **La consolidation dépendant de la synthèse protéique à P6 est nécessaire à l'expression de la mémoire d'évitement à P13.**

Une mémoire d'approche peut s'inverser spontanément en mémoire d'évitement au cours du temps. L'expression de la mémoire est appropriée à l'âge du test et non à l'âge de l'apprentissage.



Research report

Approach memory turns to avoidance memory with age

Solène Languille^{a,b,*}, Paulette Richer^{a,b}, Bernard Hars^{a,b}^a Université Paris-Sud, UMR 8620, Orsay F-91405, France^b CNRS, Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, UMR 8620, Orsay F-91405, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 March 2009

Received in revised form 1 April 2009

Accepted 2 April 2009

Available online 11 April 2009

Keywords:

Early memory

Ontogenesis

Odor-shock learning

Consolidation

Protein synthesis inhibitor

Rat pup

ABSTRACT

Ontogenetic modification of an early memory is relatively poorly understood. And an important question is whether the memory output is more determined by the age at acquisition or at retention? Here we explore the expression of odor-shock conditioning in the rat pup. Acquisition at post-natal day 6 (P6) leads to an approach response and at post-natal day 12 (P12) to an avoidance response when the retention test is 24 h later. In both cases, anisomycin injected immediately post-acquisition induced a retrograde amnesia. Controls show that, in either case, short-term memory measured 4 h after acquisition is not impaired and that anisomycin given after a 4 h delay has no effect. Thus, at the two ages, memory involves a consolidation process. The main result is the spontaneous reversal of the conditioned response from approach acquired at P6 to avoidance when tested at P13. This phenomenon is robust as it is observed in three conditions. Moreover, amnesia induced at P6 is maintained at P13. Results are discussed in terms of maturation and/or competition of the memory traces.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

After birth, newborns receive a large quantity of novel stimulation, providing many learning opportunities. Regardless of the event, aversive or appetitive, pups must collect, store and retain information to survive. Ability to form memories lasting for many days has been shown in early stage of life both in conditioned aversion and in appetitive learning. For example, pups in the first week of life can develop conditioned taste and odor aversions: an initially neutral taste and odor associated with induced nausea will be avoided thereafter [14,18,24,33]. Conditioned avoidance can be induced with a sensorial modality other than chemosensory; indeed tactile stimulus paired with shock in 1-day-old rats leads to avoidance for this texture several days later [11]. Concerning appetitive conditioning, few studies have shown retention of an early memory for many days; newborns are able to express a preference for an odor previously associated with drug injections [19,27] or natural reinforcer – milk or mammary pheromone – [8,17]. In all these paradigms, behavioral responses (avoidance or approach) during testing are in line with the value of the reinforcer (aversive or appetitive) during learning, and the type of response does not change with age. Interestingly, one particular learning, odor-shock conditioning, has been demonstrated to switch during a sensitive period of post-natal development in rat pups. When odor-shock

association is induced in the first days of life (until 10-day-old), this learning paradoxically leads to an approach response 24 h later. The same associative learning causes an avoidance when acquired from the age of 10 post-natal days [6,42], as in the adult [28]. To our knowledge, no one has studied the fate of this early memory when formed in the first post-natal week. What becomes the “approach” memory after the switch at 10 days old; is the response determined by the moment of acquisition or the one of restitution?

To address this question, we verified that eucalyptus odorant (cineol) associated with a tail shock produces an approach or an avoidance response as a function of the age of learning, at 6 and 12 post-natal days (P6 and P12). Furthermore, to know if this learning involved a consolidation process at P6 and at P12, we tested the effect of anisomycin, a protein synthesis inhibitor, on short-term and long-term memory at these two ages. Lastly, we observed how the approach response observed at P6 evolves; if pups conditioned at P6 expressed a memory at P13, what kind of memory is it, appetitive or aversive?

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Male and female rat pups born in our colony from Wistar parents (Iffa-Credo, France) were used as subjects. On the day of birth (termed 0 days of age), litters were culled to eight pups with males and females equalized as far as possible. The mothers and their litters were housed in standard maternity cages with *ad libitum* access to food and water, and maintained in a temperature-controlled colony room on a 12-h light/dark cycle. All experimental procedures were performed in conformity with national (JO 887–848) and European (86/609/EEC) legislation.

* Corresponding author at: Université Paris-Sud, UMR 8620, Orsay F-91405, France. Tel.: +33 1 69 15 49 77; fax: +33 1 69 15 77 26.

E-mail address: solene.languille@u-psud.fr (S. Languille).

2.2. Training

On the day of training, pups were removed from the mother 1 h before training, weighed and placed in an incubator. At the time of training they were placed in the training box and given a 10-min adaptation period to recover from experimental handling.

During a 1 h training session, pups received 14 presentations of 30 s cineol odor (CS) and three successive 0.5 s in 2 s, 0.5 mA tail shocks (US), with an intertrial interval of 4 min. Paired odor-shock subjects received 14 pairing of the 30 s odor with shocks during the last seconds of the odor presentation, while backward odor-shock subjects received the shocks 2 min before odor presentation. Odor-alone subjects received only the cineol odor presentations. Cineol odor was presented on a cosmetic pad (5 ml of 2% cineol solution). During training we recorded the number of limbs and body moving 10 s before the presentation of the odor, as well as during presentation of the odor. This measures generalized behavioral activity and provides a general assessment of learning during training.

2.3. Testing

On the day of testing pups were isolated from their mother in same conditions as for training and tested using a Y-maze. The Y-maze consisted of a departure chamber (13 cm long and 9 cm wide) and two alleys (22 cm long and 9 cm wide) extending at 45° angles. The departure chamber was separated from the alleys via two removable doors. One arm of the maze contained the familiar wood nest odor (20 ml of clean, wood shaving in a petri dish), while the other arm contained the cineol odor (5 ml of cineol dilution on a cosmetic pad). Each pup was placed in the starting chamber and given 5 s for habituation before the doors to the alleys were removed. The pup had 60 s to make a choice, which required entering the alley: half of the body engaged 3 cm beyond the open door. Each subject was given a total of five trials, and the floor was wiped clean (using a paper handkerchief with water) between each trial. The interval between testing trials was 30 s. Observations were made blind to the training condition.

2.4. Anisomycin administration

Anisomycin (Sigma, France), dissolved in 0.9% saline and adjusted to pH 7.2 with 1N HCL, was injected i.p. (42 mg/kg) either immediately after training or 4 h later. Control pups were injected with 0.9% saline. To ensure independence of the data, no more than two pups from a litter were assigned to a given condition and treatment group.

2.5. Groups

At each age, rat pups were subjected to three conditions: either conditioned: odor and electric shock paired (CS–US), or non-conditioned either odor alone (CS) or backward (B); for the latter, the CS and US were explicitly non paired. In each condition, one group received AN and the other saline i.p. immediately after the trial. The same groups were used at the two ages (post-natal day 6: P6, and post-natal day 12: P12) and the following groups were used in the different experiments:

- CS–US: conditioned and saline injected.
- CS–US+AN: conditioned and anisomycin injected.
- CS: odor alone saline injected.
- CS+AN: odor alone anisomycin injected.
- B: CS and US unpaired saline injected.
- B+AN: CS and US unpaired anisomycin injected.
- CS–US+AN4h: conditioned and anisomycin injected 4 h after the end of conditioning.

2.6. Data analysis

A choice index was calculated as the percentage of response toward the cineol versus shaving wood ((cineol-shaving wood)/5) × 100. In case of no choice in 60 s, the score for this trial was 0. When there was no choice on the 5 trials, the pup was excluded. A positive value of this index indicated an approach toward cineol and a negative value indicated an avoidance.

For all experiments we used the analysis of variance (ANOVA) and Fisher post hoc tests to analyze differences between training conditions and drug treatment groups. ANOVA repeated measures and post hoc Fisher tests were used to analyze behavioral modifications between P7 and P13. Data from both male and female pups were combined as analysis of variance confirmed that there was no sex difference in any of the measures reported here.

3. Results

3.1. Experiment 1 (Fig. 1)

This experiment was aimed at verifying that, in our experimental conditions, at post-natal day 6 (P6) the pairing of the cineol

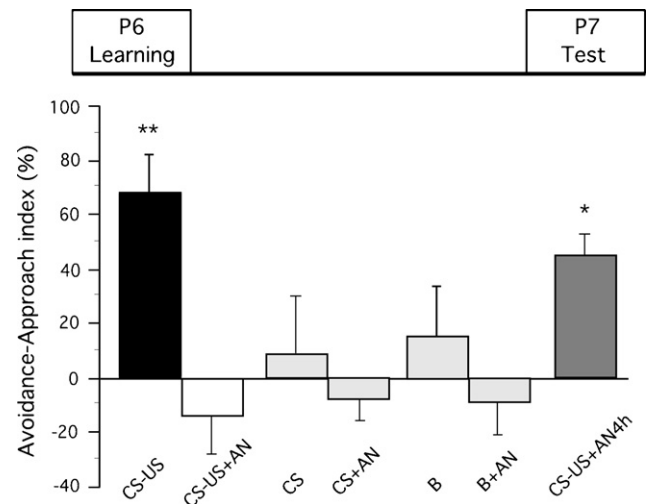


Fig. 1. Behavioral response at P7 when conditioning was at P6 and evaluation of anisomycin effect when injected either immediately or 4 h after training. Rat pups on post-natal day 6 were conditioned by pairing an odor (CS) with an electric shock (US). Response to CS was assessed 24 h later using Y-maze test. Approach responses result in a positive value of the index and avoidance responses result in a negative one. The different groups are: CS–US ($n=9$) conditioned and saline injected. CS–US+AN ($n=9$) conditioned and anisomycin injected. CS ($n=9$): odor alone saline injected. CS+AN ($n=9$): odor alone anisomycin injected. B ($n=8$): CS and US unpaired, saline injected. B+AN ($n=10$): CS and US unpaired anisomycin injected. CS–US+AN4h ($n=12$): conditioned and anisomycin injected 4 h after conditioning. Conditioning at P6 leads to a preference for the odor 24 h later and anisomycin abolishes this response if given soon enough after training. ** $p < .01$. * $p < .05$.

and the tail shock induces an approach response to the odor 24 h later. In this experiment we used three training conditions, conditioned (CS–US), cineol alone (CS) and non-conditioned (B: US–CS Backward); in each condition one group of pups was saline injected and the other received anisomycin (AN) immediately after training. We also tested the effect of an injection of AN delayed of 4 h after training in conditioned pups.

At the retention test 24 h later, one-way ANOVA revealed a significant group effect ($F_{(6,59)} = 5.03$; $p = .0003$). Between groups comparisons shown that the conditioned group receiving saline was significantly different from all the other groups ($p < .01$ in every cases) excepted the conditioned group receiving AN 4 h after training ($p > .05$). On the other hand, there was no difference between the other five groups, in particular the conditioned pups receiving AN immediately were similar to those of the control groups, either CS alone or Backward. The control groups AN treated were not different from control groups saline injected, which indicated that AN had no non-specific effect on behavior at test.

Odor-shock pairing at P6 leads to an approach response toward the conditioned odor on the next day and the protein synthesis inhibitor when given soon enough after training can block memory of that conditioning.

3.2. Experiment 2 (Fig. 2)

To assess the effect of AN on short-term memory at P6 we used four groups of pups, two conditioned (CS–US) and two non-conditioned (B). In each condition one group received AN immediately post-training and the other saline. The four groups were tested 4 h later and again 24 h later.

When the test was at 4 h delay, ANOVA revealed a significant group effect ($F_{(3,24)} = 3.36$; $p = .03$). The conditioned subjects saline treated were not different from the AN treated ones but were different from the non-conditioned groups ($p = .03$ for B and $p = .006$ for B+AN) and these later ones were not different between them.

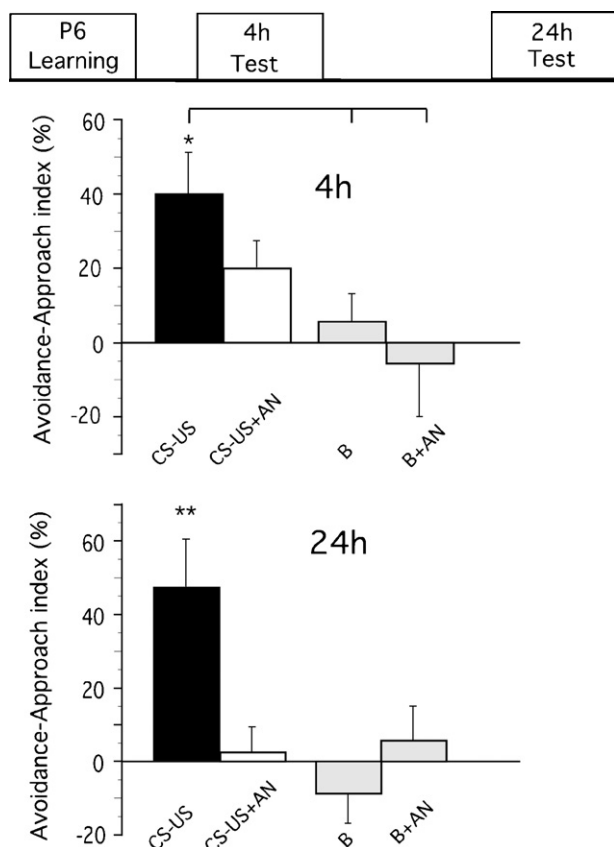


Fig. 2. Impact of anisomycin on short-term memory (4h) at P6. Pups were conditioned, immediately injected with saline or anisomycin, and tested 4 h and 24 h later. The different groups are: CS-US ($n=6$) conditioned and saline injected. CS-US + AN ($n=8$) conditioned and anisomycin injected. B ($n=7$): CS and US unpaired, saline injected. B + AN ($n=7$): CS and US unpaired anisomycin injected. At P6, anisomycin blocks long-term memory, but keeps short-term memory intact. ** $p < .01$. * $p < .05$.

The next day the conditioned saline injected animals were different from the three other groups ($p < .003$ at least in each case).

When AN is given immediately after conditioning the amnesia is complete at 24 h, which confirm the result of Experiment 1, but at 4 h the amnesia is not apparent yet. AN impairs long-term memory but leaves short-term memory intact.

3.3. Experiment 3 (Fig. 3)

This experiment was aimed at verifying that, in our experimental conditions, at post-natal day 12 (P12) the pairing of the cineol and the tail shock induces an avoidance response to the odor 24 h later. As in Experiment 1, we also tested the effect of AN when delivered immediately or 4 h after conditioning.

At the retention test 24 h later, ANOVA revealed a significant group effect ($F_{(6,38)} = 10.84$; $p < .0001$) and paired comparisons shown that the conditioned pups saline injected and those AN treated 4 h after training were different from those of all the other groups ($p < .0001$ in either cases). These five groups were not significantly different, in particular the conditioned immediately treated with AN had similar response to the control groups either CS alone or non-conditioned (B). Proportion test and between groups comparison (P7 vs P13 in the same condition) revealed that there is no approach response in the control groups.

Conditioning at P12 leads to an avoidance response of the conditioned odor at P13 and this conditioning is abolished by AN if given shortly after training.

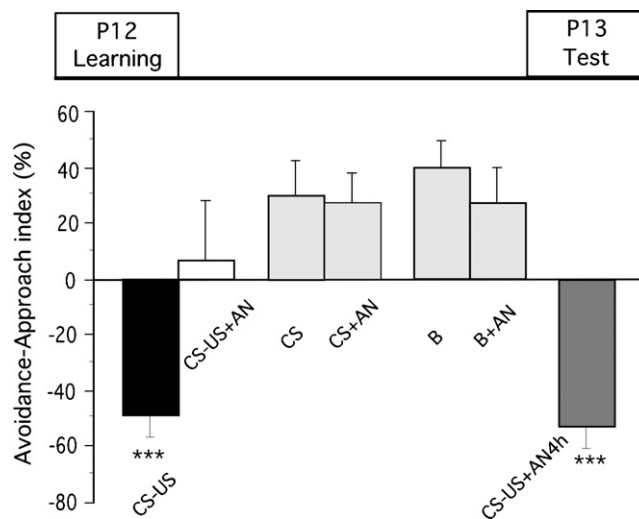


Fig. 3. Behavioral response at P13 when conditioning was at P12 and evaluation of anisomycin effect when injected either immediately or 4 h after training. Rat pups on post-natal day 12 were conditioned and tested 24 h later. The different groups are: CS-US ($n=7$) conditioned and saline injected. CS-US + AN ($n=6$) conditioned and anisomycin injected. CS ($n=6$): odor alone saline injected. CS + AN ($n=6$): odor alone anisomycin injected. B ($n=6$): CS and US unpaired, saline injected. B + AN ($n=6$): CS and US unpaired anisomycin injected. CS-US + AN4h ($n=8$): conditioned and anisomycin injected 4 h after conditioning. Conditioning at P12 leads to an aversion for the odor 24 h later and anisomycin abolishes this response if given soon enough after training. *** $p < .0001$.

3.4. Experiment 4 (Fig. 4)

This experiment was aimed at testing the effect of AN given immediately after training at P12 when the conditioned response was tested 4 h and 24 h later.

When memory was measured at 4 h, an ANOVA revealed a group effect ($F_{(3,20)} = 13.47$; $p < .0001$) and between groups comparisons shown that the two conditioned groups AN treated or not were similar but that each one was different from the non-conditioned groups ($p < .0001$ for saline and $p < .001$ for AN treated). When memory was measured 24 h later the conditioned saline-injected group was different from the three other groups, which did not differ among themselves.

When conditioning is at P12, the short-term memory (4 h) is resistant to the amnesic effect of AN which is manifested in the expression of long-term memory tested the next day.

3.5. Experiment 5 (Fig. 5)

To evaluate the evolution of the memory of the early conditioning we once again took the pups conditioned at P6 (Experiment 1) to test their responses to CS presentation 1 week later, at P13.

ANOVA revealed a group effect ($F_{(6,52)} = 3.01$; $p = .01$). Post hoc comparisons indicated that the saline injected conditioned group was different from all other groups ($p < .05$ in each case) with the exception of the conditioned group treated with AN 4 h after training. All the control groups (non-conditioned) as well as those conditioned immediately AN treated post acquisition did not differ significantly ($p > .05$ in each case).

As the conditioned approach response expressed at P7 turns to avoidance, within group comparisons on the two tests were made. These comparisons showed that conditioned pups treated with saline or AN at 4 h, expressed different responses on the two tests ($p = .002$ and $p = .003$); for the other groups, there was no significant difference between the two tests.

Surprisingly the approach response expressed at P7 reverses to an avoidance response at P13. Moreover the retrograde amnesia

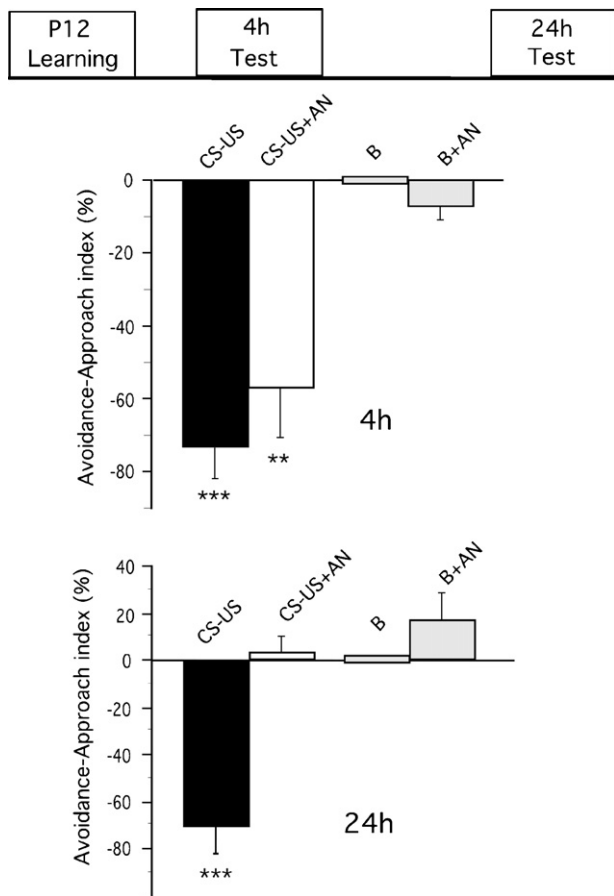


Fig. 4. Impact of anisomycin on short-term memory at P12. Pups were conditioned, immediately injected with saline or anisomycin, and tested 4 h and 24 h later. The different groups are: CS-US ($n = 6$) conditioned and saline injected. CS-US + AN ($n = 6$) conditioned and anisomycin injected. B ($n = 6$): CS and US unpaired, saline injected. B + AN ($n = 6$): CS and US unpaired anisomycin injected. At P12, anisomycin blocks long-term memory, but keeps short-term memory intact. *** $p < .0001$, ** $p < .01$.

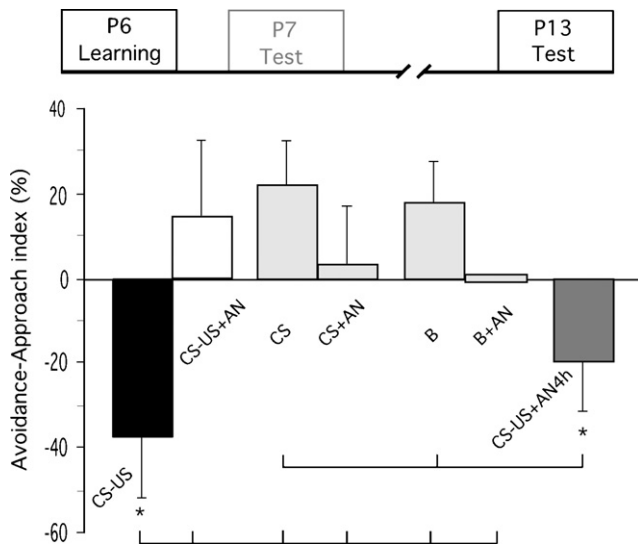


Fig. 5. Re-evaluation at P13 of the behavioral response of the pups conditioned at P6 (pups from Experiment 1). Conditioning at P6 leads to an aversion for the odor 1 week later and the memory impairment induced by AN at P6 persists at P13. There is a reversal of the conditioned response during the 1 week retention interval. $p < .05$.

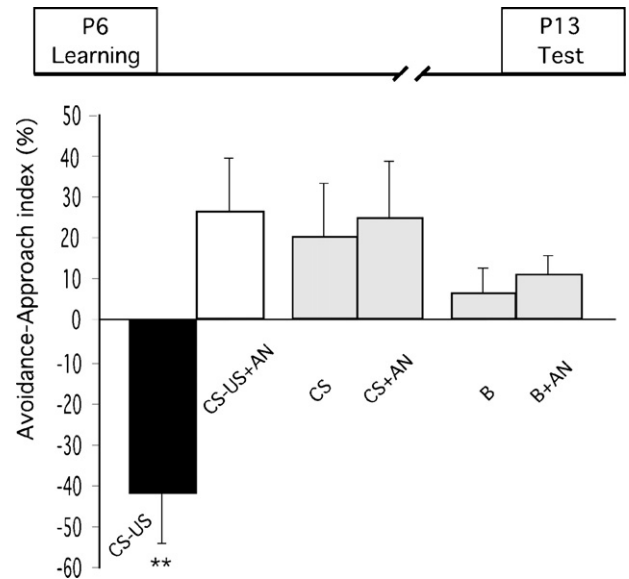


Fig. 6. Behavioral response at P13 when conditioning was at P6 and evaluation of anisomycin effect when injected just after training, without any reactivation of memory during the retention interval. Rat pups on post-natal day 6 were conditioned, immediately injected with saline or anisomycin, and tested 1 week later. The different groups are: CS-US ($n = 10$) conditioned and saline injected. CS-US + AN ($n = 10$) conditioned and anisomycin injected. CS ($n = 9$): odor alone saline injected. CS + AN ($n = 10$): odor alone anisomycin injected. B ($n = 9$): CS and US unpaired, saline injected. B + AN ($n = 9$): CS and US unpaired anisomycin injected. Conditioning at P6 leads to an aversion for the odor 1 week later and anisomycin abolishes this response, results are similar to those in the previous experiment. There is a spontaneous reversal of the conditioned response with the passage of time. ** $p < .01$.

induced by AN delivered immediately post-conditioning maintains at a 1 week delay.

3.6. Experiment 6 (Fig. 6)

The inversion of the conditioned response observed in the previous experiment could be due to the simple passage of time but it could be argued that the retention test interposed at P7 may have induced modification in the subsequent expression of conditioning. To address this issue a new pool of pups was conditioned at P6 and tested only once at P13.

ANOVA revealed a group effect ($F_{(5,50)} = 5.45$; $p = .0004$). Post hoc comparisons showed that conditioned pups receiving saline are different from those in the five other groups ($p < .001$ at least) and pups of these latter groups did not differ between themselves.

These results confirm those of the previous experiment; on one hand the amnesia induced at P6 maintains until P13, on the other hand the odor-shock conditioning induced at P6 spontaneously reverses when tested at P13. The approach conditioned response first established (refer to Experiments 1 and 2) becomes an avoidance response to the CS with the passage of time alone.

4. Discussion

These results confirm that an odor paired with an electric shock leads to two different conditioned responses 24 h later, depending on whether acquisition occurs at post-natal day 6 or 12 (Experiments 1–3). They show that the memory of this conditioning requires consolidation at both P6 and P12 (Experiments 1–4). Moreover, it appears that the conditioned response may reverse spontaneously when acquired at P6 and tested at P13 (Experiments 5 and 6 in three groups).

4.1. First valence of the conditioned response depends of age at acquisition

At P6 conditioning induces an approach response to the conditioned stimulus and at P12 an avoidance response, when tested the following day. Similar change in orientation of the conditioned response has been described previously using similar paradigm [6,32,44]. This result demonstrates that the phenomenon is replicated in our particular experimental conditions. The intriguing result is the approach response in the younger pups, even though the US (mild electric shock) triggers nociceptive reaction during conditioning (vocalization and escape attempts). The interpretation by Camp and Rudy was an incapacity of categorization of aversive events by 6-day-old pups [6]. Sullivan and Wilson proposed that the main source of stimulation at this age being the dam, the pups have a predisposition to learn an approach response [40,44]. It could be noted that the memory formed at acquisition is robust since it has consequence on behavior in spite of an interpolated retention test which does not induce extinction (Experiments 2, 4 and 5).

4.2. Approach and avoidance memories require consolidation

A protein synthesis inhibitor delivered post-trial at P6 and P12 is able to generate retrograde amnesia at both ages. In the adult, this phenomenon was observed many years ago [3] and has since been frequently reported in the literature [1,9,10,15]. The impairment of memory by amnesic agents has led to the idea that the memory trace does not stabilize immediately but needs to consolidate to be maintained [25,26] and the amnesic effect of protein synthesis inhibitors such as anisomycin has introduced the hypothesis that consolidation requires new protein synthesis [9]. The possible mechanisms of amnesia induced by protein synthesis inhibitors have been recently discussed [2,21] because AN not only inhibits protein synthesis but also may deregulate others molecular and physiological parameters including neurotransmitter release [13], activation of signaling pathways and super-induction of genes [29] inducing cell death [34] or survival [15]. Nevertheless, studies using specific inhibitors of transcription or translation factors [4,5,20,23] have confirmed that protein synthesis is required for consolidation of memory in adult. However that may be, there are few data on the consolidation of early learning and we have previously shown that consolidation of conditioned aversion memory in 3-day-old pups is sensitive to AN [14,24] and likewise for a pheromone induced learning in the young rabbit [7]. In the odor-shock paradigm, it has been shown that consolidation can be modulated by opioids at P6 but not at P12 [32] and that CREB and MAPK activation are required for long-term memory formation at P11 [45,46]. Here we show, for the first time, that memory consolidation of odor-shock learning may be blocked by AN, whatever the response to be expressed at behavioral level. Indeed, in either case, whether learning occurred at P6 or P12, the memory expressed 24 h later is abolished by the inhibitor (Experiments 1 and 3). Furthermore, the short-term memory expressed at 4 h appears immune from the deleterious effect of the amnesic agent (Experiments 2 and 4), reinforcing the idea that it acts on consolidation of long-term memory and not by some scrambling effect on learning itself. Moreover, in either case when the inhibitor is delivered with 4 h delay it has no effect on long-term memory, indicating that consolidation sensitive to AN is already accomplished at this delay after acquisition, whatever the conditioned response further manifesting learning.

The similarities observed in the efficacy of the inhibitor to produce retrograde amnesia at P6 and P12 suggest that both memories require comparable consolidation but do not allow consideration of these processes as strictly similar. Indeed, we have shown in previous experiments that the time course of protein synthesis-dependent consolidation may evolve with age from P3 to P18 [24].

Here we did not measure the temporal gradient of efficacy of AN after conditioning. In the aforesaid experiment we observed that at a 1 h delay, the amnesic effect of AN decreases with age and the 4 h delay of treatment was chosen in the present experiments to show that consolidation is time bound. The absence of effect of AN at this delay also rule out any anterograde non-specific effect of AN on retention test.

Last, but not least, the long-term memory formed at P6 which is expressed through an inverse response 7 days later appears similarly impaired by the inhibitor as was the memory expressed at 1 day. That means the amnesia is robust, since it persists for 1 week, whatever the output of the memory be. That also raises question about the original memory formed at P6; as the amnesia generated at P6 concerns the approach memory at P7 but also the avoidance one expressed at P13, a parsimonious interpretation is that the original memory formed at P6, when blocked, can no longer sustain the conditioned response expressed at P13. On the contrary, if anisomycin injected at P6 would have no effect on memory expressed at P13 it would be a strong argument for an “approach” memory distinct from an “avoidance” one. As retrograde amnesia reveals a strong tie between these memories, it suggests that the behavioral outputs expressed at P6 and P13 can be different expressions of a common memory.

4.3. Reversal of memory output from P6 to P12

However, it could be argued that two competitive traces are formed at P6, one corresponding to the approach, the other to avoidance response. Indeed, an aversion for the CS can be acquired at P6 if the US is a stronger electric shock (1.5 mA instead of 0.5 mA) [22,41] and one can assume that a sub-threshold avoidance memory may be formed at P6 with a mild electric shock. Until 10-day-old the “approach” trace would be dominant to control behavior, then it would be the “avoidance” trace which becomes dominant. Retrograde amnesia, even if it favors the single trace hypothesis, does not allow rejection of this second possibility because one can argue that the contemporary latent “avoidance” trace has been also blocked at P6 during its consolidation.

Between these two conceptions a third position could also be held which considers the multidimensional aspect of memory. It is known that the memory formed at the moment of learning is not only composed of items manipulated by the experimenter leading to the target memory expressed later in behavior, but also contains some attributes more or less firmly associated with this target memory [12,35,36]. Complementary with that, it is well known that the conditioned response is not univocal but that the motor conditioned response, often used as index of conditioning, is tied with a whole set of conditioned outputs at the central, vegetative, and behavioral levels. As a consequence of modifications of the interactions between these constituents of memory it has been observed that the behavioral output of memory (“strength of the trace”) may diminish or increase with time (forgetting, kamin effect, reminiscence, incubation, see [37]). As an example of that, we have recently shown that a conditioned approach response to an odor associated with a mammary pheromone need some hours before it could be expressed by the rabbit pup [7].

One of the main issues about early memory is whether it is expressed in a manner appropriate to the pup’s age at training or its age at testing. In a paradigm of approach-avoidance of mother acquired at P10, the approach response prevails in an immediate retention test but the avoidance response becomes dominant at P15 if retention is preceded by a reactivation [43]. In eyeblink conditioning, rats trained at P17 exhibit no conditioned response and they do when training occurs at P20, but training at P17 facilitates conditioning at P20. Thus acquisition occurred in the younger rats and the age at testing appears determinant for the expression of the

conditioned response [39]. On the contrary, in fear conditioning the age at acquisition (P16) controls the expression of the conditioned startle response at testing (P23) [16,31]. So, the sense of memory output may vary with the task, the condition of retention or the index used to reveal memory. In a paradigm similar to the one used in the present experiments, it has been shown that conditioning at P9 (before reversal of the response) induces an approach response at P10, when aversion could normally be learned [42]. To explain the difference with the present results it can be proposed that the very short delay between learning and testing may be insufficient for a complete evolution of the memory trace to allow emergence of the opposite response. Another possibility is that at P10 the maturation of the network involved in the avoidance response may be insufficient to control the previously established approach response.

The constraints in determining the switch between approach and avoidance may be the adaptive value of the response. Sullivan has proposed that the approach response expressed in the 10 first post-natal days would be adaptive from an ethological point of view, the principal source of stimulation, even nociceptive, being the mother; an approach response could correspond to search for the dam [41]. With maturation some differentiated responses may take place, so as learning based on painful stimuli realized in the second post-natal week can lead to an avoidance response. This evolution may correspond at the neural level to the functional development of the amygdala around the post-natal day 10, this structure being necessary for avoidance conditioning. Before P10 the odor-shock memory would be formed and stored in the olfactory bulb/anterior piriform cortex circuitry, after P10 odor-shock conditioning would involve the amygdala/posterior piriform cortex circuitry [30,40–42]. Our results are not in opposition to this assumption but different interpretations could be made. First, a double trace is formed at P6 and the trace stored in the amygdala gains control over behavior after P10. Second, a single trace is stored in the olfactory bulb at P6 but can be expressed via the amygdala after P10 which inverse its behavioral expression. Third, the trace first formed in the bulb is re-encoded in the amygdala around P10 where its value changes. Further experiments could test these different issues, for instance by blocking the amygdala at different time points after acquisition.

To our knowledge there is no example of a complete inversion of the memory output with the simple passage of time, except in the present instance. By extension of a multidimensional view of the memory trace we propose that this trace may comprise different outputs even when contradictory, and this is also compatible with the proposition of multiple-memory system which emerge at different points during ontogeny [38]. Depending on some internal and/or external constraints, the composite memory may yield different behavioral read out.

In conclusion, this model of memory asks fundamental questions about the fate of an early memory trace. It appears that if the behavioral expression of memory may be determined by the age at acquisition [31] it can also be controlled by the age at testing. This model allows exploration of what is encoded at the time of learning by revealing change in the expression of the engram with development. More specifically it could be useful to explore how noxious early events may have different impact on behavior depending on age.

Acknowledgements

The authors are grateful to Susan Sara and Sabrina Davis for critical comments on this manuscript, to Pascale Veyrac, Nathalie Samson, Lamia Abassebay, Valérie Halin-Marsaux and Gérard Dutrieux for their technical assistance, and to Boris Gourévitch for statistical analysis.

References

- Alberini CM. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 2005;28: 51–6.
- Alberini CM. The role of protein synthesis during the labile phases of memory: revisiting the skepticism. *Neurobiol Learn Mem* 2008;89: 234–46.
- Barondes SH, Cohen HD. Comparative effects of cycloheximide and puromycin on cerebral protein synthesis and consolidation of memory in mice. *Brain Res* 1967;4:44–51.
- Bourtchuladze R, Frenguelli B, Blendy J, Cioffi D, Schutz G, Silva AJ. Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell* 1994;79:59–68.
- Bozon B, Kelly A, Josselyn SA, Silva AJ, Davis S, MAPK LS. CREB and zif268 are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond B: Biol Sci* 2003;358:805–14.
- Camp LL, Rudy JW. Changes in the categorization of appetitive and aversive events during postnatal development of the rat. *Dev Psychobiol* 1988;21:25–42.
- Coureaud G, Languille S, Schaal B, Hars B. Pheromone-induced olfactory memory in newborn rabbits: involvement of consolidation and reconsolidation processes, submitted.
- Coureaud G, Moncombe AS, Montigny D, Dewas M, Perrier G, Schaal B. A pheromone that rapidly promotes learning in the newborn. *Curr Biol* 2006;16:1956–61.
- Davis HP, Squire LR. Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull* 1984;96:518–59.
- Dudai Y. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 2004;55:51–86.
- Gemberling GA, Domjan M. Selective associations in one-day-old rats: taste-toxicosis and texture-shock aversion learning. *J Comp Physiol Psychol* 1982;96:105–13.
- Gisquet-Verrier P, Dekeyne A, Alexinsky T. Differential effects of several retrieval cues over times: Evidence for time-dependent reorganization of memory. *Anim Learn Behav* 1989;17:394–408.
- Gold PE. Protein synthesis inhibition and memory: formation vs amnesia. *Neurobiol Learn Mem* 2008;89:201–11.
- Gruest N, Richer P, Hars B. Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J Neurosci* 2004;24:10488–92.
- Hernandez PJ, Abel T. The role of protein synthesis in memory consolidation: progress amid decades of debate. *Neurobiol Learn Mem* 2008;89:293–311.
- Hunt PS, Fanselow MS, Richardson R, Mauk MD, Freeman Jr JH, Stanton ME. Synapses, circuits, and the ontogeny of learning. *Dev Psychobiol* 2007;49: 649–63.
- Johanson IB, Hall WG, Polefrone JM. Appetitive conditioning in neonatal rats: conditioned ingestive responding to stimuli paired with oral infusions of milk. *Dev Psychobiol* 1984;17:357–81.
- Kehoe P, Blass EM. Behaviorally functional opioid systems in infant rats: I. Evidence for olfactory and gustatory classical conditioning. *Behav Neurosci* 1986;100:359–67.
- Kehoe P, Blass EM. Conditioned opioid release in ten-day-old rats. *Behav Neurosci* 1989;103:423–8.
- Kelleher 3rd RJ, Govindarajan A, Jung HY, Kang H, Tonegawa S. Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory. *Cell* 2004;116:467–79.
- Klann E, Sweatt JD. Altered protein synthesis is a trigger for long-term memory formation. *Neurobiol Learn Mem* 2008;89:247–59.
- Kucharski D, Spear NE. Conditioning of aversion to an odor paired with peripheral shock in the developing rat. *Dev Psychobiol* 1984;17:465–79.
- Lamprecht R, Hazvi S, Dudai Y. cAMP response element-binding protein in the amygdala is required for long- but not short-term conditioned taste aversion memory. *J Neurosci* 1997;17:8443–50.
- Languille S, Gruest N, Richer P, Hars B. The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during post-natal development. *Learn Mem* 2008;15:434–42.
- McGaugh JL. Time dependent processes in memory storage. *Science* 1966;153:1351–8.
- McGaugh JL. Memory—a century of consolidation. *Science* 2000;287:248–51.
- McLean JH, Darby-King A, Harley CW. Potentiation and prolongation of long-term odor memory in neonate rats using a phosphodiesterase inhibitor. *Neuroscience* 2005;135:329–34.
- Otto T, Cousins G, Rajewski K. Odor-guided fear conditioning in rats: I. Acquisition, retention, and latent inhibition. *Behav Neurosci* 1997;111: 1257–64.
- Radulovic J, Tronson NC. Protein synthesis inhibitors, gene superinduction and memory: too little or too much protein? *Neurobiol Learn Mem* 2008;89:212–8.
- Raineki C, Shionoya K, Sander K, Sullivan RM. Ontogeny of odor-LiCl vs. odor-shock learning: similar behaviors but divergent ages of functional amygdala emergence. *Learn Mem* 2009;16:114–21.
- Richardson R, Fan M. Behavioral expression of learned fear in rats is appropriate to their age at training, not their age at testing. *Anim Learn Behav* 2002;30:394–404.
- Roth TL, Sullivan RM. Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. *Physiol Behav* 2003;78:135–42.
- Rudy JW, Cheatele MD. Odor-aversion learning in neonatal rats. *Science* 1977;198:845–6.

- [34] Rudy JW, Biedenkapp JC, Moineau J, Bolding K. Anisomycin and the reconsolidation hypothesis. *Learn Mem* 2006;13:1–3.
- [35] Sara SJ. Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem* 2000;7:73–84.
- [36] Spear NE. Retrieval of memory in animals. *Psychol Rev* 1973;80:163–94.
- [37] Spear NE. The processing of memories forgetting and retention. Hillsdale, NJ: Laurence Erlbaum Associates; 1978.
- [38] Stanton ME. Multiple memory systems, development and conditioning. *Behav Brain Res* 2000;110:25–37.
- [39] Stanton ME, Fox GD, Carter CS. Ontogeny of the conditioned eyeblink response in rats: acquisition or expression? *Neuropharmacology* 1998;37:623–32.
- [40] Sullivan RM. Unique characteristics of neonatal classical conditioning: the role of the amygdala and locus coeruleus. *Intergr Physiol Behav Sci* 2001;36:293–307.
- [41] Sullivan RM, Wilson DA. Dissociation of behavioral and neural correlates of early associative learning. *Dev Psychobiol* 1995;28:213–9.
- [42] Sullivan RM, Landers M, Yeaman B, Wilson DA. Good memories of bad events in infancy. *Nature* 2000;407:38–9.
- [43] Weihmuller FB, Collier AC. The role of age-dependent behaviors in the retention of an approach-avoidance response in preweanling rats. *Dev Psychobiol* 1990;23:265–83.
- [44] Wilson DA, Sullivan RM. Neurobiology of associative learning in the neonate: early olfactory learning. *Behav Neural Biol* 1994;61:1–18.
- [45] Zhang JJ, Okutani F, Inoue S, Kaba H. Activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase signaling pathway leading to cyclic AMP response element-binding protein phosphorylation is required for the long-term facilitation process of aversive olfactory learning in young rats. *Neuroscience* 2003;121:9–16.
- [46] Zhang JJ, Okutani F, Inoue S, Kaba H. Activation of the cyclic AMP response element-binding protein signaling pathway in the olfactory bulb is required for the acquisition of olfactory aversive learning in young rats. *Neuroscience* 2003;117:707–13.

Abrupt emergence of long-lasting memory in the pre-weanling rat

Languille S., Richer P., Hars B. (2009)

Behavioral Brain Research, *sous presse*.

De nombreuses données ont montré que la mémoire précoce est sujette à un oubli plus rapide que la mémoire établie à l'âge adulte. Néanmoins, peu d'études ont observé l'évolution de la rétention à long terme d'un apprentissage réalisé très précocement (avant le sevrage). À l'aide de notre paradigme d'apprentissage réalisable dès le 3^{ème} jour post-natal et efficace jusqu'au sevrage, nous avons déterminé le décours de l'oubli de l'aversion gustative conditionnée au cours du développement post-natal.

Nous avons réalisé une CTA chez des rats de 5 âges différents : P3, P10, P12, P15 et P18, puis nous avons testé leur rétention à différents délais. Quelque soit l'âge du conditionnement, les rats présentent une forte aversion lors du test de rétention à 3 jours ; ils ont donc bien tous appris la CTA. Les rats conditionnés à P3 et P10 présentent un oubli apparent dès 1 semaine post-acquisition, les rats conditionnés à P12 présentent un oubli dès 2 semaines post-acquisition, alors que les rats conditionnés à P15 et à P18 expriment une aversion 52 semaines après l'apprentissage. De manière surprenante, 3 semaines après le conditionnement à P10, les rats présentent une légère préférence pour le CS.

Une mémoire de CTA formée avant P12 est oubliée rapidement, alors que le même apprentissage réalisé après P15 est retenu pendant au moins 1an.

Une CTA apprise avant P12 ne semble pas persister longtemps. Néanmoins, il est possible que la trace mnésique « oubliée » soit encore présente, mais inaccessible. Afin d'observer une éventuelle restauration de la mémoire précoce, nous avons étudié si une mémoire précoce « oubliée » pouvait faciliter un réapprentissage chez le jeune adulte. Le reconditionnement 5 semaines après l'apprentissage à P3, P10 et P12 n'est pas potentialisé par l'apprentissage précoce. Néanmoins, un apprentissage précoce peut faciliter un réapprentissage chez l'adulte puisqu'une mémoire établie à P15 et P18 qui subit un processus d'extinction (4 essais espacés de 3 semaines) entraîne une augmentation de l'aversion suite à un reconditionnement 12 semaines après l'apprentissage. **La mémoire formée avant P12 semble ne pas être récupérable chez le jeune adulte.**

La rétention à très long terme apparaît brusquement entre 12 et 15 jours post-natals.

Short communication

Abrupt emergence of long-lasting memory in the pre-weanling rat

Solène Languille^{1,2}, Paulette Richer^{1,2}, Bernard Hars^{1,2}

¹ Univ Paris-Sud, UMR 8620, Orsay, F-91405, France

² CNRS, Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, UMR 8620, Orsay, F-91405, France

Corresponding author:

Solène Languille, Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, CNRS UMR 8620, Université Paris-Sud, Bât. 446, F-91405 Orsay, France

Phone: +33 1 69 15 49 77- Fax: + 33 1 69 15 77 26

E-mail: solene.languille@u-psud.fr

Running title: Abrupt emergence of long-lasting memory

Keywords : Memory, forgetting, ontogenesis, infantile amnesia, conditioned aversion

Abstract

During the course of ontogenesis does long-lasting memory emerge progressively or abruptly, and when? To examine this question, rat pups were conditioned at different ages (3, 10, 12, 15 or 18 day-old) and tested at different retention intervals: from three days to one year. Conditioned aversion memory established before 12 day-old lasts for only one week, but when acquired after 15 days, memory survives for more than one year. This defines a short temporal window of 3 days for sudden emergence of a remote memory. Our result offers a precise temporal target to explore the mechanisms involved in long maintenance of memory.

Text

Many studies have shown that memory is forgotten more rapidly in young animals than in adults, which corresponds to the so-called *infantile amnesia* [7]. This rapid rate of forgetting has been extensively demonstrated in 18- to 30-day-old rats, however few studies have analyzed the evolution of resistance to forgetting during post-natal development [5, 8, 24]. One constraint is to use a memory test that can be learned by pups of all ages. Conditioned taste aversion (CTA), which consists of associating a novel taste with a malaise, is distinguishable from other types of memory in pre-weanling rats because of its biological relevance for the organism [5]. CTA involves sensory and motor systems of suckling which are well developed in newborn [15, 23], meaning it is possible to test it in very young rodent pups. Indeed, we have previously shown that rat pups from 3 to 18 day-old (P3/P18) can acquire and express a CTA memory 3 days later [18]. Moreover, although CTA is reputed to be time resistant in the adult [16, 20]; it is not known whether it is as robust when acquired at pre-weaning age. Here, we have studied the influence of age on the kinetics of long-term retention of CTA acquired before weaning: at P3, P10, P12, P15 and P18. The experiments focus on whether long-term memory resistance appears abruptly or varies during the nursing period, and whether early forgetting persists or whether it recovers after some weeks?

We have used a paradigm of CTA where the conditioned stimulus (CS; peach-aromatized milk) was presented via a surrogate nipple for 10min and paired 30min later with an injection of LiCl (150mM, 2% body weight, i.p.) which causes an immediate malaise (unconditioned stimulus, US) (previous description in [12, 18]). At each age, pups were submitted to two conditions: either conditioned (CS-US) or unconditioned (CS...US); for the latter, the CS and the US were separated by a long delay (\approx 8h). To ensure independence of the data, only one pup from a litter was assigned to a given condition.

Regardless of the age of conditioning, each pup was tested at one single retention interval. Pups conditioned at P3, P10 or P12 were tested at 3 days, 1 week, 2 weeks, 3 weeks, 4 weeks or 5 weeks (except during the immediate post-weaning period). Pups conditioned at P15 or P18 were tested at 3 days, 2 weeks, 3 weeks, 9 weeks or 52 weeks. When testing occurred before weaning (at the 21st postnatal day), the peach-aromatized milk was presented in the morning for a 10-min session. During testing, as for conditioning, the attractiveness of aromatized milk was assessed by the time spent attached to the nipple. The total time of attachment to the nipple was measured on-line by two experimenters who were blind to the pretreatment of the pups. An aversion index 1 was calculated as the relative time spent attached to the nipple: (time during testing/total time during conditioning and testing) x 100. Thus, the more the pups refused the flavored milk nipple (aversion), the lower the score was. When testing occurred after weaning, this session was conducted following 3d of water deprivation (excluding a test in the week of weaning). During deprivation, rats were habituated to drink water from two graded pipettes for 10min/day in individual testing cage in an experimental room at about 10:00, and had free access to water for 15min in the home cages at 16:00. On the day of testing, all rats were exposed for 10min to two pipettes filled with peach-aromatized water. During testing, as for habituation, fluid intake was measured with a precision of 0.1ml. For individual animals, the aversion index 2 was expressed as fluid intake relative to water consumption: (fluid intake during testing/ (fluid intake during testing + mean water intake during last two days of habituation)) x 100. As for pups, this score was thus defined to minimize the effect of individual variability in fluid consumption and the lower the score the stronger the aversion. Data from both males and females were combined for all experiments as t-test confirmed there were no sex differences in any of measures reported here.

Pups conditioned at P3 expressed a clear aversion when compared with the unconditioned pups at a 3-day retention test interval ($t(18) = 8.98$; $p < .0001$; **Fig 1**). When testing occurred later (1, 2, 4 or 5 weeks after conditioning), there was no significant difference between groups ($p > .05$ for each interval). Aversion memory formed at P3 is no longer expressed 1 week after acquisition.

Pups conditioned at P10 expressed a clear aversion when compared with unconditioned pups at a 3-day retention test interval ($t(14) = 9.19; p < .0001$). When testing occurred 1, 4 or 5 weeks after conditioning, there was no significant difference between groups ($p > .05$ in each case). Pups conditioned at P10 showed an apparent forgetting of aversion memory from 1 week post-acquisition, as did P3 conditioned pups. At a 3-week retention interval, the conditioned pups expressed preference for the CS compared with unconditioned pups ($t(16) = -2.52; p < .05$), suggesting that conditioned pups had forgotten the aversion but they remembered the CS marked by the US. Such preference has been previously reported twenty-five days after a garlic-illness association at P10 [24]. This observation is in agreement with a multidimensional view of the memory trace where the target memory appears to be lost when the CS still has a transient (for 1 week) impact on the behavioral output. This suggests that different components of the memory trace could be differentially resistant to forgetting.

Pups conditioned at P12 expressed aversion when compared with unconditioned pups at an interval of 3-days and 1-week (3 days: $t(16) = 12.25; p < .0001$. 1 week: $t(14) = 3.95; p < .01$). When testing occurred later (2, 3, 4 or 5 weeks after conditioning), there was no significant difference between groups ($p > .05$ in every cases). Aversion memory established at P12 is still expressed 1 week after conditioning, but no longer at 2 weeks.

For each retention interval, pups conditioned at P15 or P18 expressed aversion when compared with unconditioned pups (**Fig 2**): 3 days ($t(13) = 11.42; p < .0001$. $t(14) = 13.37; p < .0001$), 2 weeks ($t(12) = 7.14; p < .0001$. $t(12) = 7.41; p < .0001$), 3 weeks ($t(12) = 3.60; p < .01$. $t(14) = 3.87; p < .01$), 9 weeks ($t(15) = 2.35; p < .05$. $t(25) = 3.59; p < .01$), and 52 weeks ($t(19) = 2.62; p < .01$. $t(17) = 3.43; p < .01$). Aversion at P15 and at P18 was similar at each retention delay, suggesting that retention did not evolve between P15 and P18. The main point here is that, despite a progressive reduction in aversion with time, pre-weaned rats remembered CTA one year later. It is currently accepted that CTA is a robust form of learning that can be retained for several weeks, months and years, but very few study have observed retention of CTA for some months: 2/3 months [4, 20, 21], 6 months [16]. Thus we present the first evidence showing CTA retention at a one year delay. Moreover, this result is even more striking as conditioning occurred in pre-weanling rats, and memory was expressed in a context completely different from that of learning.

Rat pups at P3, P10 and P12 are able to express conditioned taste aversion a few days after acquisition, but aversion does not persist until post-weaning. However, some data have suggested that early gustatory/olfactory experiences should have an impact on adult behavior [10, 19, 25]. Even though the aversion disappears, it is possible that the memory trace is still there, but inaccessible due to retrieval deficit. To determine whether there are long-term consequences of this early conditioning, we assessed the ease with which the adolescent rat can re-learned a mild taste aversion.

To verify that juvenile rats (P38) are able to learn a mild CTA, naïve rats were offered two pipettes of peach-aromatized water for 10min, and paired 30min later with a low dose of LiCl (47mM, 2% body weight, i.p). Free access to water was permitted for 1h in the home cages at 15:00 (to prevent dehydration due to malaise). The next day, rats were exposed to two pipettes filled with peach-aromatized water for 10min, and aversion levels were analyzed in conditioned group (CS-US)₂ and unconditioned group (CS...US)₂. Pups from the conditioned group showed aversion 24h after acquisition when compared to those of the unconditioned group ($t(20) = -5.19; p < .001$; **Fig 3A**), indicating that rats learned a mild CTA.

We then used this paradigm of low conditioning (CS-US)₂ to show whether early conditioned groups (CS-US)₁ expressed stronger aversion after late re-conditioning compared with the early unconditioned groups (CS...US)₁. Five weeks after the first conditioning at P3, P10 or P12, pups of both groups were conditioned with a low dose of LiCl after CS presentation, and taste aversion was tested the next day. Regardless of the age of early conditioning, there was no significant difference

between groups ($p > .05$ in every cases; **Fig 3B**). Taste aversion conditioning at P3, P10 or P12 has no facilitative effect on re-learning in the adolescent rat.

This previous experiment showed that a forgotten learning acquired before P12 does not improve later re-learning. To test if learning established in older neonates can promote a subsequent second learning as it has been shown in other tasks [10, 19, 25], we tested the impact on re-learning of an extinguished memory established after P15. Conditioned and unconditioned rat pups at P15 or at P18 were repeatedly tested at 3, 6, 9 and 12 weeks; these four presentations of the CS corresponded to extinction trials. For each extinction trial, there was no difference between conditioned groups at P15 and at P18 ($p > .5$; **Fig 3C**), and between unconditioned groups at P15 and P18 ($p > .5$). The conditioned response decreased progressively during the extinction trials, and the early memory was totally extinguished at the fourth trial, 12 weeks after learning ($t(28) = .51$; $p > .5$). Response strength, measured by resistance to extinction did not differ between P15 and P18, suggesting that P15 had not formed weaker associations between taste and illness than P18. The last extinction trial (12 weeks after learning) was followed by a low dose of LiCl to generate mild CTA (CS-US)₂ which was tested 24h later. After re-learning, the previously conditioned groups (CS-US)₁ expressed stronger aversion than the previously unconditioned groups (CS...US)₁ (at P15: $t(12) = 4.93$; $p < .001$. at P18: $t(14) = 3.25$; $p < .01$; **Fig 3C**). This indicates that an extinguished early memory (formed at P15 and P18) facilitated re-learning in the adult. The lack of facilitation in re-conditioning of a forgotten memory formed at P3, P10 or P12 may suggest that the impairment was not due to retrieval deficit. However, it is not possible to state that a lack of memory recovery excludes a retrieval deficit explanation. It could be argued that our conditions of recovery may not be efficient for a memory trace established in young pups; indeed recovery of avoidance memory by reactivation is more difficult in younger than in older pups [27, 28].

Our results show rapid forgetting of taste aversion memory formed before post-natal day 12, whereas the same learning acquired after post-natal day 15 is retained for at least one year. Thus, the capacity of long-term retention for conditioned taste aversion (CTA) occurs in the pre-weaned rat within a very short time-window from P12 to P15. This finding reinforces those of previous experiments using conditioning and testing conditions that are different to ours, and evaluation of retention at shorter delays. Indeed, a switch in retention was observed around P15 in CTA retention measured ten days after one acquisition trial [5] and twenty-five days after two trials of CTA with P14-15 expressing aversion but not P12-13 [24]. Drastic changes in retention were not specific to CTA: similarly, retention of fear conditioning strongly increases around P15, as P17-19 show retention forty-two days later, whereas P14-16 retained the memory for only ten days [8]. This abrupt change before weaning led Coulter to make a link with the abrupt loss of memory (before 3-4 years) characteristic of infantile amnesia in humans [3, 31].

However, retention of CTA can still evolve after P15-P18. Indeed, it has been shown that the conditioned response increases gradually after weaning [14, 24, 29]. In other tasks conducted after weaning, such as passive or active avoidance and spatial learning, it seems that there is a gradual and non an abrupt increase of long-term retention [2, 6, 9]. Although a progressive improvement of long-term memory is possible after weaning, the formation of CTA memory undergoes a brief critical period where forgetting resistance increases drastically.

This sudden increase in retention in pre-weaning rat could be due to acquisition, storage and/or retrieval modifications. Changes in the strength of learning may result from changes of stimuli salience (e.g., the gustatory/olfactory component of the CS, the surrogate nipple acceptance) in relation to the natural behavioral activities with age. For example, during the conditioning the P15 and P18 pups spend less time attached to the nipple than the younger ones (mean of 500s versus 300s); but the quantity of flavored milk drunk is constant (mean of 0,6 ml for P10, P12, P15 and P18) except the P3 which drunk less (0,2 ml). It is possible that shorter daily experience with a mother's nipple (in natural condition) and lower acceptance of the surrogate nipple (as indicated by

the time of grasping in experimental condition) can promote a stronger, and therefore more persistent aversion in late pre-weanlings. Nevertheless, there is no difference in retention between different ages when testing occurs 3 days after conditioning, suggesting that animals of all ages are equally able to acquire and express memory. That does not rule out differences in the level of acquisition which could be masked by a ceiling effect in aversion, but it allows us to consider that differences in forgetting may result also from differences in memorization.

Forgetting resistance must be due to rapid brain development during nursing period. Memory formed in the first two post-natal weeks may depend on different neural mechanisms than those associated with memory processes at a later age. If different mechanisms are recruited at the time of acquisition (before P12) and at the time of retention that may induce a retrieval deficit that cause forgetting. In contrast, if the same neural supports are implicated in conditioning (after P15) and in retention, retrieval is facilitated. The retrieval deficit hypothesis may explain that an extinguished memory formed after P15 can be recovered through reconditioning, however this explanation is questionable for the pups conditioned before P12 as our reminder treatment does not improve the reconditioning.

Interestingly, we have previously shown that memory consolidation requires less time during post-natal development [18]. The temporal gradient of efficacy of an amnesic agent lasts for more than 1h at P3, it reduces at P10 and P12 and is less than 15min at P18, which suggests a parallel between the speed of memory stabilization and its resistance to forgetting. Therefore, when the neurobiological processes of consolidation improve in efficacy there is a gain in strength of the trace. It is possible to suggest that when neural pathways are ready to store a pattern corresponding to a specific representation, this pattern, which is easily built, is more resistant to impairment. Consequently one may assume that when memory is more rapidly consolidated, memory is better retained, this correlation between the kinetics of consolidation and memory maintenance may provide a means for understand their relationships. It could be noted that conditioned aversion established prenatally can be retained in the long-term (at least 2-4 weeks) [13, 26, 30], suggesting that *in utero* conditions which drastically limit the interfering stimuli, may allow for stronger learning, better consolidation and therefore longer retention.

In the pre-weanling rat, the emergence of the ability to acquire and retain CTA occurs around the same time as the development of ingestive behaviors when pups are first reported to ingest solid food, about P15 [1]. From an adaptive point of view, the ability to retain learned aversions becomes functional just as the animal may need it to avoid illness-inducing foods in its environment in such a way that it improves its chance of survival.

Conditioned aversion appears to be a very useful task for studying memory evolution with age as it can be acquired very early in life [11, 12, 18, 22] and throughout adulthood [14, 17]. By determining a short time-window where long-time resistant memory emerges, the present paradigm may provide a useful tool for studying the neural changes necessary and sufficient for the formation of remote memories.

Acknowledgments

We thank Jean-Marc Edeline and Catherine Oualian for help with the water deprivation of rats, Valérie Halin-Marsaux, Pascale Veyrac and Nathalie Samson for their technical contributions.

References

- [1] Babicky A, Parizek J, Ostadalova I, Kolar J. Initial solid food intake and growth of young rats in nests of different sizes. *Physiol Bohemoslov*, 1973; 22: 557-66.
- [2] Brown RW, Kraemer PJ. Ontogenetic differences in retention of spatial learning tested with the Morris water maze. *Dev Psychobiol*, 1997; 30: 329-41.
- [3] Bruce D, Dolan A, Phillips-Grant K. On the transition from childhood amnesia to the recall of personal memories. *Psychol Sci*, 2000; 11: 360-4.
- [4] Burritt EA, Provenza FD. Food aversion learning in sheep: persistence of conditioned taste aversions to palatable shrubs (*Cercocarpus montanus* and *Amelanchier alnifolia*). *J Anim Sci*, 1990; 68: 1003-7.
- [5] Campbell BA, Alberts JR. Ontogeny of long-term memory for learned taste aversions. *Behav Neural Biol*, 1979; 25: 139-56.
- [6] Campbell BA, Campbell EH. Retention and extinction of learned fear in infant and adult rats. *J Comp Physiol Psychol*, 1962; 55: 1-8.
- [7] Campbell BA, Spear NE. Ontogeny of memory. *Psychol Rev*, 1972; 79: 215-36.
- [8] Coulter X, Collier AC, Campbell BA. Long-term retention of early Pavlovian fear conditioning in infant rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, 1976; 2: 48-56.
- [9] Feigley DA, Spear NE. Effect of age and punishment condition on long-term retention by the rat of active- and passive-avoidance learning. *J Comp Physiol Psychol*, 1970; 73: 515-26.
- [10] Galef BG, Henderson PW. Mother's milk: a determinant of the feeding preferences of weaning rat pups. *J Comp Physiol Psychol*, 1972; 78: 213-219.
- [11] Gemberling GA, Domjan M. Selective associations in one-day-old rats: taste-toxicosis and texture-shock aversion learning. *J Comp Physiol Psychol*, 1982; 96: 105-13.
- [12] Gruet N, Richer P, Hars B. Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J Neurosci*, 2004; 24: 10488-92.
- [13] Gruet N, Richer P, Hars B. Emergence of long-term memory for conditioned aversion in the rat fetus. *Dev Psychobiol*, 2004; 44: 189-98.
- [14] Guanowsky V, Misanin JR, Riccio DC. Retention of conditioned taste aversion in weanling, adult, and old-age rats. *Behav Neural Biol*, 1983; 37: 173-8.
- [15] Hall WG, Rosenblatt JS. Development of nutritional control of food intake in suckling rat pups. *Behav Biol*, 1978; 24: 413-27.
- [16] Houpt TA, Philopena JM, Joh TH, Smith GP. c-Fos induction in the rat nucleus of the solitary tract correlates with the retention and forgetting of a conditioned taste aversion. *Learn Mem*, 1996; 3: 25-30.
- [17] Ingram DK, Peacock LJ. Conditioned taste aversion as a function of age in mature male rats. *Exp Aging Res*, 1980; 6: 113-23.
- [18] Languille S, Gruet N, Richer P, Hars B. The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during postnatal development. *Learn Mem*, 2008; 15: 434-42.
- [19] Le Magnen J, Tallon S. Food preferences of young rats induced by maternal feeding. *C R Seances Soc Biol Fil*, 1968; 162: 387-90.
- [20] Martin GM, Timmins WK. Taste-sickness associations in young rats over varying delays, stimulus, and test conditions. *Anim Learn Behav*, 1980; 8: 529-533.
- [21] Matsuzawa T, Hasegawa Y, Gotoh S, Wada K. One-trial long-lasting food-aversion learning in wild Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Behav Neural Biol*, 1983; 39: 155-9.
- [22] Nizhnikov ME, Petrov ES, Spear NE. Olfactory aversive conditioning in the newborn (3-hr-old) rat impairs later suckling for water and milk. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, 2002; 28: 277-83.
- [23] Petrov ES, Varlinskaya EI, Bregman K, Smotherman WP. Sustained attachment to the nipple in the newborn rat depends on experience with the nipple, milk, and the expression of oral

- grasping. *Behav Neurosci*, 1999; 113: 211-21.
- [24] Schweitzer L, Green L. Acquisition and extended retention of a conditioned taste aversion in preweanling rats. *J Comp Physiol Psychol*, 1982; 96: 791-806.
- [25] Sevelinges Y, Desgranges B, Ferreira, G. The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. *Learn Mem*, 2009; 16: 235-42.
- [26] Smotherman WP. Odor aversion learning by the rat fetus. *Physiol Behav*, 1982; 29: 769-71.
- [27] Spear NE, Parsons PJ. Analysis of a reactivation treatment: Ontogenic determinants of alleviated forgetting. In: Davis RT, Medin DL, Roberts WA, editors. *Processes of Animal Memory*. Hillsdale, NJ: Erlbaum, Inc. 1976, 135–165
- [28] Spear NE, Smith GJ. Alleviation of forgetting in preweanling rats. *Dev Psychobiol*, 1978; 11: 513-29.
- [29] Steinert PA, Infurna RN, Spear, NE. Long-term retention of a conditioned taste aversion in preweanling and adult rats. *Animal Learning & Behavior*, 1980; 8: 375-381.
- [30] Stickrod G, Kimble DP, Smotherman WP. In utero taste/odor aversion conditioning in the rat. *Physiology & Behavior*, 1982; 28: 5-7.
- [31] Waldfogel S. The frequency and affective character of childhood memories. *Psychological Monographs*, 1948, 62:(Whole No. 291).

Figure legends

Figure 1

Memory of conditioned taste aversion as function of age (P3, P10 and P12) and retention interval. Training was at different ages before weaning: P3, P10 and P12. Testing was at different intervals: 3 days, 1 w, 2 w, 3 w, 4 w and 5 weeks. The lower the index, the more the aversion. Pups of CS-US group ■ received aromatized milk (CS) paired with malaise (US) induced by LiCl and those of CS...US group □ were submitted to an unpaired condition (\approx 8h between CS and US). The aversion is expressed at 3 days in all cases, but disappears at 1 week for P3 and P10, and at 2 weeks for P12. *** $p < .001$. ** $p < .01$. * $p < .05$.

Figure 2

Memory of conditioned taste aversion as function of age (P15 and P18) and retention interval. Pups conditioned ■ and unconditioned □ at P15 and at P18 were tested at different intervals: 3 days, 2 w, 3 w, 9 w and 52 weeks. In both cases, aversion is still expressed one year after learning. *** $p < .001$. ** $p < .01$. * $p < .05$.

Figure 3

Relearning in autonomous rat of a forgotten or extinguished early memory.

A) Naïve young rats are submitted to a mild conditioned taste aversion (CTA). Pups conditioned ■ and unconditioned □ at P38 were tested the next day.

B) Pups previously conditioned (CS-US)₁ ■ or unconditioned (CS...US)₁ □ at P3, P10, and P12 were submitted to a mild CTA (CS-US)₂ 5 weeks later, and aversion was tested the next day. Forgotten early memory does not induce any facilitation of relearning.

C) Pups conditioned ▲■ and unconditioned △□ at P15 or P18 were tested at 3, 6, 9 and 12 weeks. Aversion memory extinguishes in three trials. After extinction, pups are submitted to a mild CTA. Extinguished early memory, established at P15 or P18, facilitates relearning. *** $p < .001$. ** $p < .01$.

Figure 1

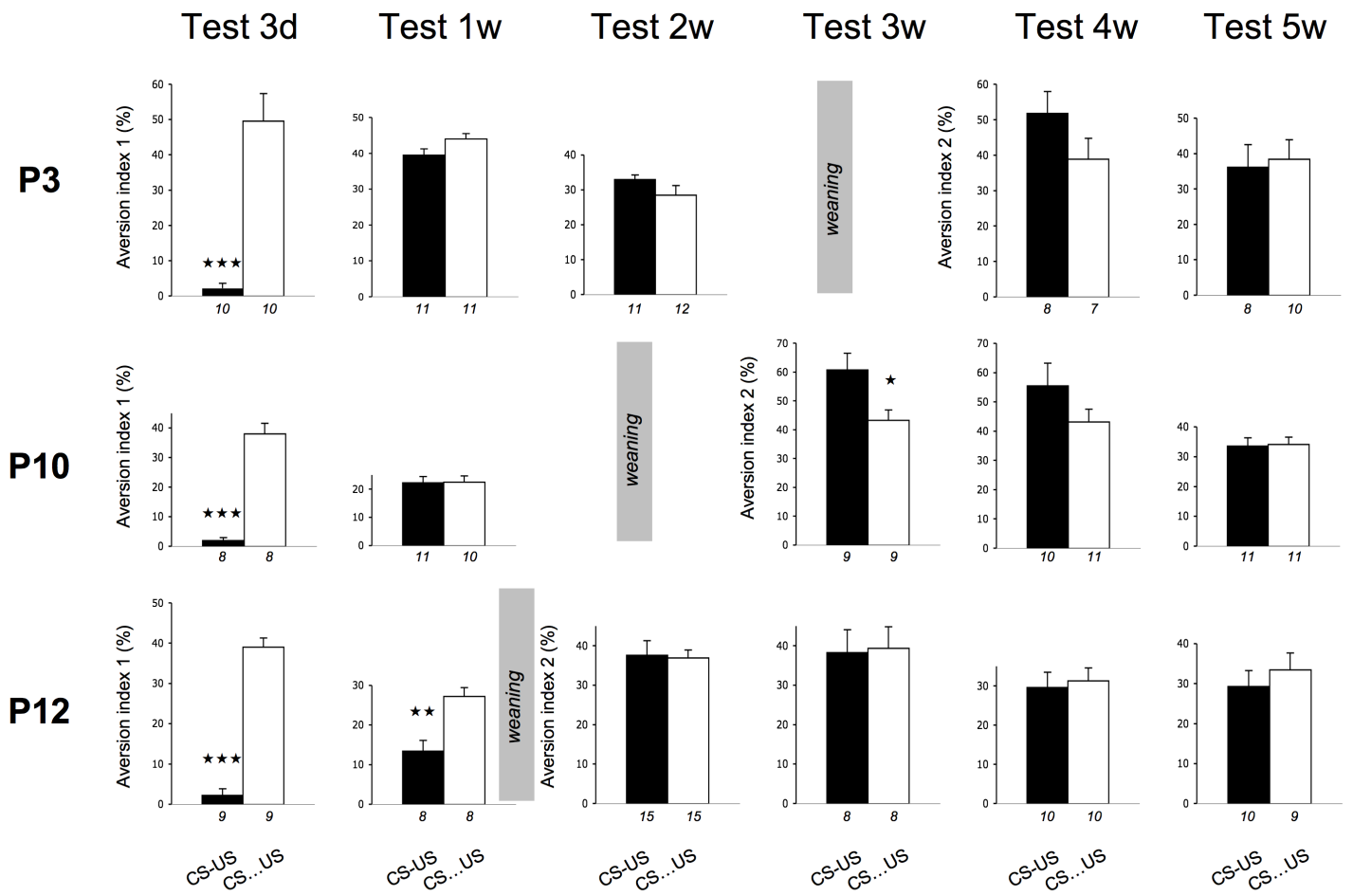


Figure 2

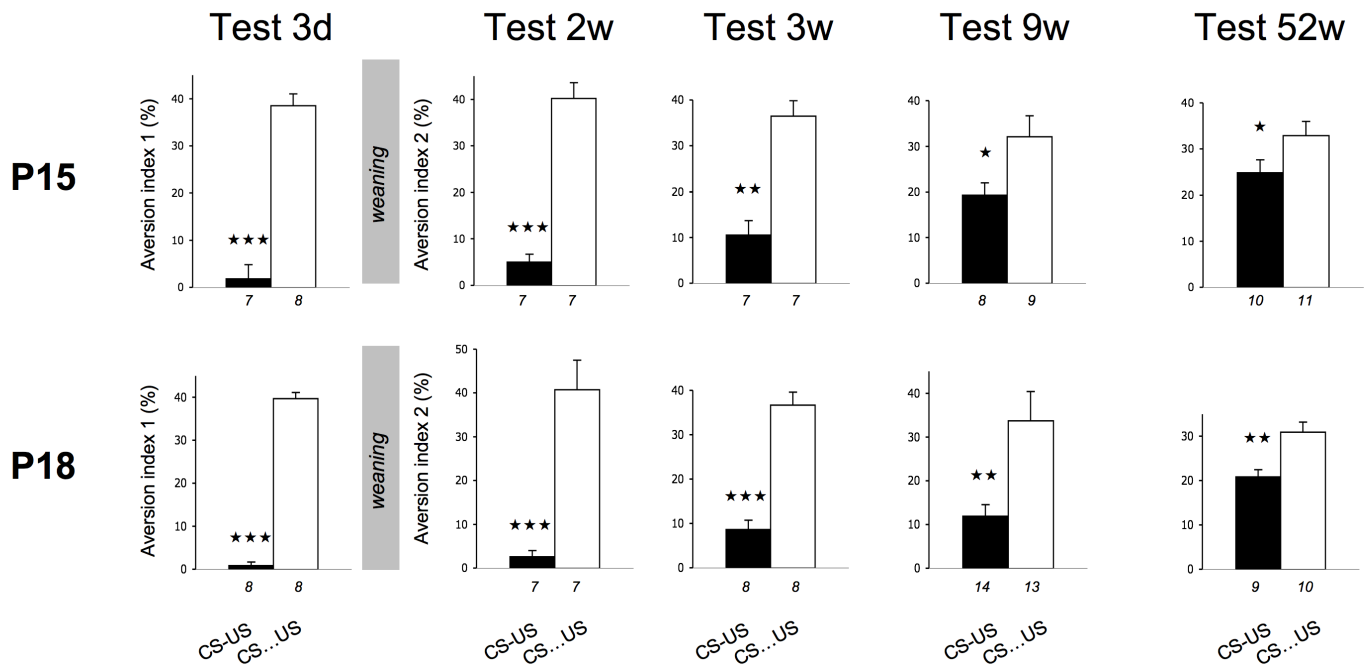
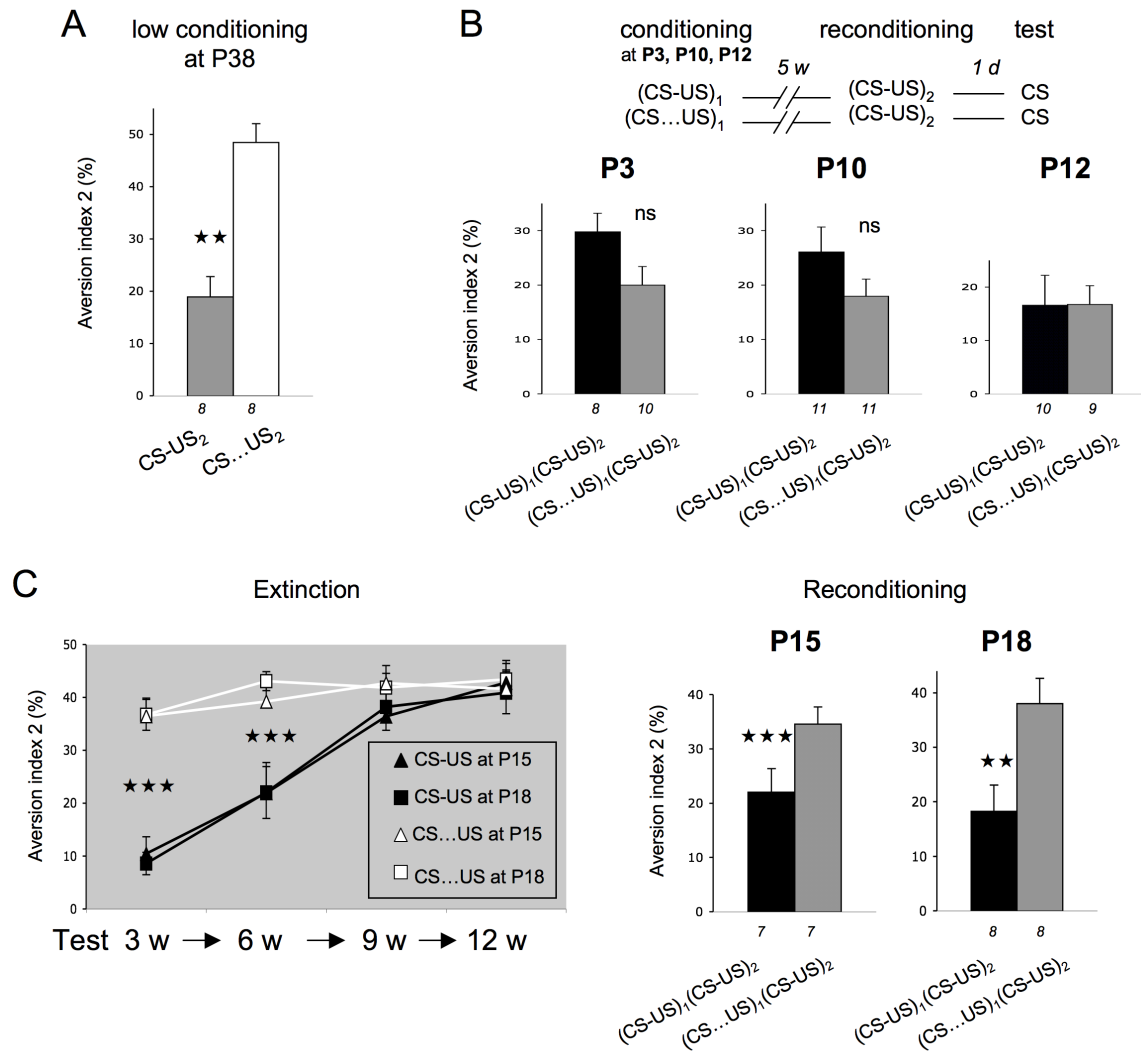


Figure 3



DISCUSSION

L'objectif de cette thèse était d'explorer la dynamique de la mémoire précoce chez des rats : la consolidation et la reconsolidation d'une part, et l'expression du souvenir d'autre part. Les études que nous avons menées nous ont permis de démontrer que :

- La cascade moléculaire des MAPK est impliquée dans la consolidation et la reconsolidation d'une mémoire précoce, dès 3 jours post-nataux.
- Les dynamiques temporelles de la consolidation et de la reconsolidation se raccourcissent au cours du développement post-natal.
- Une mémoire d'approche formée précocement peut s'inverser en mémoire d'évitement avec l'âge.
- La rétention à très long terme apparaît brusquement au cours du développement post-natal.

Ces résultats révèlent que la mémoire précoce présente déjà les caractéristiques de base de la mémoire chez l'adulte, mais que celles-ci évoluent au cours du développement post-natal.

I) Similitudes entre une mémoire précoce et une mémoire d'adulte

I.1) Existence de la consolidation et de la reconsolidation

Nos études ont permis de confirmer l'existence de la consolidation et de la reconsolidation d'une mémoire d'aversion gustative conditionnée chez le raton âgé de 3 jours, observée précédemment par notre équipe (Gruest et al., 2004b ; **articles 1 & 2**). Ces processus mnésiques ne sont pas spécifiques au conditionnement aversif, puisque nous avons pu mettre en évidence la consolidation et la reconsolidation d'un apprentissage appétitif chez le lapereau de 1-2 jours (**annexe 4**). Il semble donc possible de généraliser les notions de consolidation et de reconsolidation de la mémoire, dès les premiers jours de la vie.

I.2) Mécanismes moléculaires de la consolidation et de la reconsolidation

Nous avons identifié certains des mécanismes moléculaires requis pour la consolidation et la reconsolidation d'une mémoire précoce. Comme chez l'adulte, la synthèse de nouvelles protéines est nécessaire à la stabilisation d'une mémoire précoce aversive (CTA à P3, P10, P12 et P18 et évitement olfactif conditionné à P12 ; **articles 2 & 3**), mais également d'une mémoire appétitive (préférence olfactive conditionnée chez le raton à P6 et chez lapereau à P2 ; **articles 3 & 5**). En amont de la synthèse protéique, l'activation de la cascade des MAPK est requise pour la consolidation et la reconsolidation d'une CTA dès P3 (**article 1**). Ces résultats renforcent les quelques données de la littérature sur la mémoire précoce montrant d'une part la nécessité de la synthèse protéique lors de la

consolidation et de la reconsolidation de la CTA à P3 (Gruest et al., 2004), et d'autre part l'implication des MAPK lors de la consolidation d'un évitement olfactif conditionné à P11 (Zhang et al., 2003b). Comme chez l'adulte, la synthèse de nouvelles protéines et l'activation de la cascade des MAPK sont requises pour la stabilisation de la mémoire lors de la consolidation et de la reconsolidation d'une mémoire et ceci dès le 3^{ème} jour post-natal.

Nous avons observé que les gradients temporels d'efficacité de l'inhibiteur des MAPK (SL327) sont plus courts que ceux de l'inhibiteur de la synthèse protéique (anisomycine) post-acquisition et post-réactivation. Par exemple, 1h après la réactivation, le SL327 ne perturbe plus la reconsolidation alors que l'anisomycine a encore un effet amnésiant (**articles 1 & 2**). Ainsi, le SL327 est efficace moins longtemps que l'anisomycine, ce qui est en accord avec le fait que les MAPK agissent en amont de la synthèse protéique. Il est à noter que l'effet de l'inhibition des MAPK sur la synthèse protéique a été démontré sur des cultures cellulaires (Takei et al., 2001; Kelleher et al., 2004), mais nous n'avons trouvé aucune étude de ce type in vivo. Pour tester le degré d'inhibition de la synthèse protéique induit par l'inhibiteur des MAPK chez le raton de 3 jours, nous avons quantifié l'incorporation d'un acide aminé marqué (³⁵S-méthionine) dans les protéines nouvellement synthétisées du cerveau après injection du SL327 ou de l'anisomycine. Notre analyse montre que l'inhibiteur des MAPK, même s'il bloque la phosphorylation des MAPK/ERK (**article 1**), a un faible effet sur l'inhibition de la synthèse protéique (14%) en comparaison avec l'anisomycine (95%) (**annexe 1**). L'inhibition de 14% des protéines nouvellement synthétisées est suffisante pour avoir un effet amnésiant total, équivalent à celui obtenu avec l'anisomycine. Deux explications peuvent être proposées:

a) l'inhibiteur des MAPK permet de cibler plus précisément les nouvelles protéines requises pour la consolidation de la mémoire. Seules ces 14% de protéines nouvellement synthétisées sont indispensables à la consolidation; le reste des protéines ne serait pas utile à la consolidation et ne serait pas activé par la cascade des MAPK. Cette proposition est en accord avec l'idée que la synthèse protéique est nécessaire à la stabilisation de la mémoire.

b) l'inhibiteur des MAPK perturbe faiblement la synthèse protéique, car l'effet amnésiant de l'inhibiteur des MAPK n'est pas dû à son action sur l'inhibition de la synthèse protéique. En effet, la cascade des MAPK n'agit pas uniquement sur l'expression génique, mais elle permet également la phosphorylation d'autres protéines cytoplasmiques. On peut penser que c'est par l'activation de ces protéines cytoplasmiques que les MAPK permettent la consolidation, ce qui serait en accord avec l'hypothèse de Routtenberg et Rekart proposant que la consolidation est supportée par des modifications post-traductionnelles de protéines (ici par l'activation des MAPK) et non par la synthèse de nouvelles protéines.

L'implication de la synthèse protéique dans la stabilisation de la mémoire reste une question débattue, d'autant plus si l'on tient compte des effets collatéraux des inhibiteurs de la synthèse protéique (cf chapitre *1.4 Mémoire et synthèse protéique*).

1.3) Comparaison consolidation/reconsolidation

1.3.1) *Mécanismes moléculaires et structures cérébrales*

Chez le nouveau-né comme chez l'adulte, la consolidation et la reconsolidation impliquent tous deux la synthèse de nouvelles protéines et l'activation des MAPK, ce qui est en accord avec l'idée que la reconsolidation reprend des étapes communes à la consolidation. Cependant cela n'implique pas forcément que les processus mis en jeu lors de la consolidation et de la reconsolidation soient absolument identiques. Une analyse biochimique nous a permis de mettre en évidence une différence entre la consolidation et la reconsolidation : les MAPK de l'amygdale sont activées lors de la consolidation, mais pas lors de la reconsolidation d'une CTA chez le raton (**article 1**). Ces données semblent être en accord avec celles de la CTA chez l'adulte qui montrent d'une part qu'il y a phosphorylation des MAPK dans l'amygdale après CTA (Swank, 2000), et d'autre part que l'amygdale est impliquée dans la consolidation mais pas dans la reconsolidation (Bahar et al., 2004). Puisque nous avons montré que l'inhibition des MAPK perturbait la reconsolidation, l'activation des MAPK doit se faire dans une autre structure que l'amygdale lors de la reconsolidation. De nombreuses expériences chez l'adulte ont montré que la consolidation et la reconsolidation pouvaient engager des régions cérébrales différentes (cf chapitre 1.3.4 *Comparaison consolidation/reconsolidation* ; **tableau 3**). Dans le même sens, une étude récente, réalisée chez le rat adulte, a montré que la synthèse protéique doit être inhibée simultanément dans le cortex insulaire et l'amygdale (le noyau central) après une réactivation pour perturber l'aversion gustative précédemment consolidée, alors que la perturbation de l'amygdale ou du cortex insulaire est suffisante pour perturber la consolidation (Garcia-DeLa Torre et al., 2009). Cette étude suggère donc que l'amygdale seule et le cortex insulaire seul ne suffisent pas pour une reconsolidation de la CTA, mais que l'activation des deux structures est indispensable. La reconsolidation, bien qu'ayant de nombreux points communs avec la consolidation, n'apparaît pas être une récapitulation complète des mécanismes de la consolidation.

1.3.2) *Dynamique temporelle*

Au niveau des cinétiques de ces deux processus, nous avons constaté que les mécanismes de stabilisation de la MLT post-acquisition et post-réactivation s'exécutent dans des échelles de temps comparables de l'ordre de l'heure (**articles 1 & 2**). Cependant les gradients temporels d'efficacité de l'anisomycine sont plus courts post-réactivation que post-acquisition, et ceci aux différents âges. Une différence de décours temporel entre la consolidation et la reconsolidation a déjà été observée pour une tâche d'évitement passif chez la souris adulte (Judge & Quartermain, 1982) et chez le poussin (Anokhin et al., 2002). Ces données indiquent que la reconsolidation se fait plus rapidement que la consolidation, et

supportent l'idée que la reconsolidation correspondrait à une « remise à jour » du souvenir plutôt qu'à un processus complet de réencodage mnésique. La reconsolidation ne devrait pas refaire l'ensemble des modifications fonctionnelles apparues lors de la formation de la mémoire à long terme ; ce qui serait en accord avec l'hypothèse selon laquelle la restabilisation est plus rapide que la construction et la stabilisation de nouvelles synapses.

I.4) Mémoire à court terme /mémoire à long terme: processus parallèles ou séquentiels ?

Dans la littérature, la mémoire à long terme (MLT) est couramment considérée comme le produit de la mémoire à court terme (MCT). Les agents amnésiants (tels que les inhibiteurs de la synthèse protéique) perturberaient la consolidation en empêchant la transformation de la MCT en MLT. Implicitement, ces deux étapes sont considérées comme séquentielles : la MLT se construirait à partir de la MCT par le processus de consolidation.

En accord avec les données chez l'adulte, nous avons montré que la formation de la MLT, mais pas celle de la MCT, est sensible aux inhibiteurs des MAPK et de la synthèse protéique, que ce soit post-acquisition ou post-réactivation chez le nouveau-né (**articles 1 & 3, annexe 4**). Ces deux types de mémoires ne reposent donc pas sur les mêmes supports moléculaires. Néanmoins cette dichotomie au niveau des mécanismes moléculaires ne signifie pas pour autant que la MCT se consolide en MLT. On peut également envisager que la MCT et la MLT se forment simultanément et de manière indépendante; cette hypothèse de processus mnésiques parallèles fût énoncée pour la première fois par McGaugh (McGaugh, 1966).

Deux arguments semblent aller à l'encontre d'une relation séquentielle entre la MCT et la MLT :

a) Discordance temporelle entre l'expression de la MCT et la stabilité de la MLT. Nous avons montré que la MCT était exprimé 3 heures après le conditionnement d'aversion gustative ou sa réactivation, alors que l'inhibiteur des MAPK n'a déjà plus d'effet sur la MLT lorsqu'il est administré 1 heure après l'essai (**article 1**). Ces résultats suggèrent que la MLT est déjà formée alors que la MCT est toujours présente, ces deux processus mnésiques semblent donc être relativement indépendants. Néanmoins, il est à noter que le gradient temporel d'efficacité d'un agent amnésiant particulier ne mesure pas le temps total de la formation de la MLT, puisque les fenêtres temporelles de labilité de la trace varient en fonction des agents amnésiants. La mémoire n'est peut être pas totalement consolidée quand la MCT s'exprime encore. De plus, il est possible que la consolidation se fasse en plusieurs vagues de synthèse protéique (cf introduction) ; néanmoins l'agent amnésiant (anisomycine ou inhibiteur des MAPK) n'a pas d'effet perturbateur lorsqu'il est administré 3 h, 6 h ou 24 h après la CTA (**articles 1 & 2**), ce qui révèle aucune seconde vague dans nos conditions.

b) Formation d'une MLT sans MCT. Nous avons constaté que suite à une association entre une odeur et une phéromone mammaire, les lapereaux ne présentent pas de MCT détectable 4 heures plus tard (**annexe 4**). La première mémoire exprimée 8 heures après l'apprentissage est déjà sensible à l'anisomycine, elle peut donc être considérée comme une MLT (dépendante de la synthèse protéique). La MLT semble pouvoir s'établir sans l'expression préalable d'une MCT. Une telle discontinuité entre la MCT et la MLT ne semble pas être spécifique à cet apprentissage précoce particulier, puisque plusieurs études ont montré que la MCT peut être affectée sans perturber la MLT chez l'humain (Shallice & Warrington, 1970; Ranganath & Blumenfeld, 2005), le rongeur (Izquierdo et al., 2002; Sanderson et al., 2009) et la Drosophile (Mery et al., 2007).

Les processus de consolidation et de reconsolidation ne semblent pas résulter de la simple transformation de la MCT en MLT. Les processus de mémorisation à court terme et de consolidation seraient des processus parallèles et non séquentiels. Et nous proposons d'étendre cette hypothèse de parallélisme entre la MCT et la MLT au processus de reconsolidation.

Les caractéristiques générales de la mémoire précoce semblent être identiques à celles de l'adulte : les processus de stabilisation post-acquisition et post-réactivation, les mécanismes moléculaires de bases de la consolidation et de la reconsolidation, et l'indépendance de la mémoire à court terme et de la mémoire à long terme. Il est à noter que ces caractéristiques mnésiques sont également présentes chez les invertébrés tels que l'Aplysie et la Drosophile, suggérant une conservation au cours de l'évolution des espèces.

II) Différences entre une mémoire précoce et une mémoire d'adulte

II.1) Évolution de la mémoire au cours du développement post-natal

Jusqu'à présent, nous avons relaté les similitudes entre la mémoire chez le nouveau-né et l'adulte. Néanmoins, au cours du développement post-natal, nous avons montré une évolution de la mémoire à 3 niveaux : la cinétique de la consolidation et de la reconsolidation (**article 2**), l'expression comportementale de la mémoire (**articles 3 & 4**) et la rétention à long terme (**article 4**).

II.1.1) Évolution des processus de stabilisation de la mémoire

Nous avons constaté que la durée des processus de consolidation et de reconsolidation décroît progressivement au cours du développement post-natal (**article 2**). De P3 à P18, on passe d'une consolidation réalisée en 1 heure à une consolidation accomplie en moins de 15 minutes. À P15, La cinétique de la consolidation du CTA est tellement rapide qu'elle n'est plus apparente (**article 2**). De même, le processus de consolidation semble très rapide chez l'adulte, puisque le traitement amnésiant doit toujours être administré avant l'apprentissage pour être efficace (Haupt & Berlin, 1999; Berman & Dudai, 2001). On ne peut cependant pas exclure que la cinétique de la consolidation continue à raccourcir, faiblement, entre le stade jeune (1 mois) et le stade adulte (4mois et plus), comme cela a été observé pour des apprentissages d'évitements passif et actif (Thompson, 1957; Doty & Doty, 1964).

II.1.2) Évolution de l'expression de la mémoire

Chez l'adulte, plusieurs expériences ont montré une augmentation des performances mnésiques à mesure que le temps passe, dans un délai de quelques jours (effet kamin¹, incubation², réminescence³). Chez le nouveau-né, l'expression de la mémoire évolue également avec le temps, mais d'une manière particulière. À court terme, nous avons observé non pas une augmentation, mais une apparition de la réponse comportementale 8 heures après l'association odeur-phéromone mammaire chez le lapereau (**annexe 4**). Et de manière surprenante, nous avons mis en évidence pour la première fois l'inversion d'une mémoire précoce dans deux tâches d'apprentissages. Premièrement, une mémoire d'approche à P7 s'inverse en mémoire d'évitement à P13 dans le cas du conditionnement « odeur-choc » (**article 3**). Deuxièmement, une aversion conditionnée à P13 semble changer en préférence conditionnée à P31, suite à l'acquisition d'une CTA à P10 (**article 4**).

¹ Effet kamin : rétention anormalement faible entre 1h et 6h après un conditionnement de peur, alors que la rétention est bonne peu après l'apprentissage et 24h plus tard.

² Incubation : augmentation de la réponse de peur conditionnée à mesure que le temps passe.

³ Réminescence : amélioration des performances en rétention d'habilités perceptives et motrices au cours du temps.

II.1.3) *Évolution de la rétention à très long terme*

La rétention à très long terme de la mémoire de la CTA apparaît brusquement entre P12 et P15. Ce qui est impressionnant, c'est la rétention de l'aversion 1 an après le conditionnement à P15 et à P18 : la CTA résiste à l'oubli. Chez l'adulte, il est couramment admis que la CTA est un apprentissage robuste qui peut être retenu des semaines, des mois et même des années. Mais en réalité peu d'études ont analysé la rétention de la CTA à très long terme : 2/3 mois (Martin & Timmins, 1980; Matsuzawa et al., 1983; Burritt & Provenza, 1990), et 6 mois (Houpt et al., 1996). Notre étude est donc la première démonstration d'une rétention de la CTA à un délai de 1 an. Ce résultat est d'autant plus spectaculaire que le conditionnement a été réalisé chez des rats avant le sevrage (P15, P18), et que la mémoire est exprimée dans des conditions de test (pipettes remplies d'eau à la pêche présentées dans une cage) qui sont différentes de celles du conditionnement (tétine remplie de lait à la pêche présentée à la main).

L'observation d'un changement abrupt en rétention est assez rare dans la littérature. En effet, la plupart des études sur l'amnésie infantile sont réalisées chez des rats entre P20 et P40, et montrent une évolution graduelle de la rétention à long terme. Dans notre cas, malgré des performances de rétention de CTA identiques entre P15 et P18 (**article 4**), il est cependant possible que la rétention à long terme puisse encore un peu évoluer après le sevrage : la rétention de l'aversion est plus faible chez des jeunes sevrés (P18-23) que chez des rats plus âgés (Steinert et al., 1980; Schweitzer & Green, 1982; Guanowsky et al., 1983).

Ce changement drastique de la rétention ne semble pas être spécifique à la CTA, puisqu'une disparition abrupte de l'oubli a été observée entre P14-16 et P17-19 dans une tâche de peur conditionnée (Coulter et al., 1976). Cette apparition de la rétention à très long terme chez les rats vers P15 (entre P12 et P15 pour la CTA, entre P14-16 et P17-19 pour le conditionnement de peur) rappelle fortement la perte abrupte des souvenirs qui caractérise l'amnésie infantile chez l'humain. Coulter a donc proposé que le rapide oubli avant P12 correspond à de l'amnésie infantile, comme elle est décrite chez le jeune enfant de moins de 3 ans (Coulter, 1979).

II.2) Implication de la mémoire dans l'adaptation au changement de l'environnement

Les nouveau-nés sont capables d'apprendre une aversion conditionnée vis-à-vis d'un goût nouveau dans un contexte de tétée. Cet apprentissage pourrait paraître sans valeur adaptative par le fait que le raton va refuser de se nourrir, entraînant ainsi sa mort. Dans des conditions naturelles, les rats seraient capables d'apprendre une aversion par rapport à un nouveau stimulus issu de l'alimentation de la mère. Il est fort probable que la mère, ayant perçue le même stimulus, établisse également une aversion gustative. Dans le cas où la

substance toxique (ex : atropine) est sans effet aversif sur la mère elle-même, mais induit un malaise chez ses ratons, la mère est capable d'apprendre une aversion vis-à-vis d'une substance qu'elle a ingéré avant le malaise de leurs petits, via des indices olfactifs présents dans l'urine et les fécès des ratons (Gemberling, 1984). Suite à l'acquisition directe ou indirecte (via ses petits) de l'aversion, la mère n'ingérera plus l'aliment toxique, et les ratons ne seront pas resoumis à cet aliment tant qu'ils dépendront de leur mère pour la nutrition. La rétention de la CTA ne semble donc pas primordiale durant la période de lactation. En accord avec cette idée, l'oubli rapide de la CTA formée avant P12 (**article 4**) peut être envisagé comme une stratégie adaptative : les informations inutiles sont éliminées du répertoire (Rovee-Collier & Cuevas, 2009).

La rétention à long terme de la CTA apparaît vers P15, or c'est justement à cet âge que les ratons commencent à changer d'alimentation : ils goûtent à la nourriture solide. À partir de 15 jours post-natales, les ratons peuvent ingérer des aliments variés dont certains peuvent être toxiques. Mais une fois qu'ils ont appris qu'un aliment est dangereux, ils sont capables d'adapter leur comportement afin de sélectionner une nourriture saine. Il semble donc que la capacité à retenir à long terme apparaisse à un âge déterminant d'un point de vue éthologique.

De même, lorsque les réponses comportementales s'inversent avec l'âge, elles semblent être relativement adaptées aux conditions de vie du nouveau-né. La réponse paradoxale d'approche avant P10 lors du conditionnement « odeur-choc » serait liée au fait que le choc rappelle les stimulations de la mère (piétinement, prise par la nuque, morsure...) (Sullivan et al., 2000a). Nous avons montré que cette réponse d'approche s'inverse en réponse d'évitement (**article 3**); ainsi la réponse comportementale est en accord avec l'âge du test et non avec celui du conditionnement. Plusieurs travaux ont mis en évidence une réponse comportementale en rapport avec l'âge du test (Johanson & Hall, 1984; Weihmuller & Collier, 1990; Hartshorn, 2003). Cependant les études de Rick Richardson suggèrent le contraire : la présentation du SC 24 heures après un conditionnement de peur à P16 entraîne une variété de réponses comportementales : évitement, immobilité, mais pas de réponses de sursaut. Lors d'un test de rétention à P23, âge où le raton peut apprendre une réponse de sursaut, les ratons conditionnés à P16 expriment leur peur par les mêmes types de réponses qu'à P17, suggérant que l'expression de la peur conditionnée est appropriée à l'âge de l'apprentissage, mais pas à celui du test (Richardson et al., 2000; Richardson & Fan, 2002). L'expression comportementale d'un souvenir semble donc varier en fonction des tâches, des conditions de rétention et des index de rétention.

A deux périodes différentes au cours du développement post-natal, nous pouvons remarquer que la dynamique de la mémoire précoce concorde avec l'évolution des

conditions environnementales du fait du gain en autonomie: inversion de la mémoire vers P10 lors du conditionnement « odeur-choc » d'une part et rétention à très long terme de la CTA entre P12 et P15 d'autre part.

II.3) Évolution de la mémoire : ontogénèse et vieillissement

Les modifications de la mémoire ne semblent pas être spécifiques de la période post-natale. Qu'il s'agisse de la dynamique de la stabilisation ou de la rétention à long terme, la mémoire semble évoluer de manière symétrique au cours du développement post-natal et au cours du vieillissement. Cette similitude entre l'ontogénèse et la sénescence rappelle la loi de l'évolution-dissolution de Jackson, postulant que les fonctions neuronales qui apparaissent les premières dans l'évolution sont aussi celles qui apparaissent en premier au cours du développement et qui disparaissent en dernier au cours du vieillissement (Jackson, 1884). Par exemple, au cours du vieillissement, les fonctions sensorielles déclinent dans l'ordre inverse de leur apparition : l'olfaction et la sensibilité thermique, qui apparaissent en premier, sont plus résistantes à la sénescence que l'audition et la vision.

La cinétique de la consolidation se raccourcit au cours du développement post-natal, mais elle semble évoluer symétriquement au cours du vieillissement. En effet, la cinétique de la consolidation d'un évitement est prolongée chez les rats âgés (20 mois) et chez des souris âgées (14-15 mois) respectivement par rapport à des rats de 4, 9 et 12 mois et des souris de 2-3 et 6-7 mois (Doty & Doty, 1964; Davis et al., 1981). Il semble donc que la dynamique temporelle des processus mnésiques se raccourcit au cours de la croissance puis se rallonge au cours du vieillissement. Cette similitude ne permet cependant pas d'affirmer que l'évolution de ces cinétiques implique les mêmes processus.

Des similitudes dans les décours de l'oubli ont été observées entre le jeune et le vieux rat : aux deux âges, l'évitement passif est retenu moins de 10 jours, alors qu'un rat d'âge intermédiaire présente une bonne rétention pendant plus de 30 jours (cité par Campbell et al., 1984). Néanmoins, à l'inverse de l'oubli observé chez le raton de moins de 12 jours (**article 4**), la CTA semble hautement résistante à l'oubli chez le rat âgé (15-16 mois et 18-19 mois) (Ingram & Peacock, 1980; Guanowsky et al., 1983), suggérant une différence de dynamique de rétention à long terme entre le nouveau-né et l'individu âgé. Il semble donc qu'une similitude entre le jeune et le vieux rat soit observable pour des apprentissages apparaissant assez tardivement, au-delà de P12 (évitement passif, apprentissage spatial - piscine de Morris ou labyrinthe radial), mais pas pour des tâches qui peuvent être acquises très précocement (ex : aversion gustative conditionnée).

La comparaison du développement et de la dissolution de la mémoire suggère d'une part une symétrie des cinétiques de consolidation et d'autre part une symétrie de la résistance à l'oubli (mais pour certaines tâches seulement).

III) Hypothèses sur les causes de l'évolution de la mémoire

Au cours du développement post-natal, les caractéristiques de la mémoire peuvent évoluer en fonction des modifications du système nerveux, et ceci à différentes étapes : de sa formation à son maintien. Nous analyserons si l'évolution de la mémoire peut s'expliquer par 1) des différences de capacités d'apprentissage, 2) des modifications du système nerveux entre le moment de l'acquisition et celui de la restitution, et/ou 3) des différences dans l'état de maturation du système nerveux au moment de la formation du souvenir.

III.1) Maturation des capacités d'apprentissage

III.1.1) *Aversion gustative conditionnée*

Le raccourcissement des gradients temporels d'efficacité de l'anisomycine (**article 2**) et l'augmentation de la résistance à l'oubli (**article 4**) peuvent tous deux résulter d'une différence dans l'établissement de la CTA, et ainsi de la force du conditionnement. Des différences d'apprentissage avec l'âge peuvent être dues à la variation de l'impact de la privation (stress, motivation) nécessaire à l'établissement de la CTA, à la maturation des capacités associatives (délai SC-SI ; cf chapitre *II.1.3 Maturation de l'apprentissage*) et à l'amélioration de la perception des stimuli. Par exemple, la saillance et la valeur renforçatrice du SI (malaise induit par le LiCl) pourraient s'accroître au cours du développement post-natal, et ainsi augmenter le degré de conditionnement. On remarque cependant qu'il y a une forte similitude dans l'évolution des gradients temporels d'efficacité de l'agent amnésiant post-acquisition et post-réactivation avec l'âge (**article 2**), alors que le SI est absent pour la réactivation, ce qui contredit cette proposition.

L'analyse de nos résultats indique que l'aversion mesurée 3 jours après l'apprentissage est identique aux différents âges ; l'index d'aversion relatif¹ est constant autour de 95%. Ainsi, il ne semble pas y avoir de différences de force d'apprentissage avec l'âge.

III.1.2) « Odeur-choc »

La modification de la valeur du SI avec l'âge a été proposée pour expliquer la réponse paradoxale d'approche suite à un conditionnement « odeur-choc ». Camp et Rudy considèrent que l'administration de choc électrique (.35mA) entraîne une activation comportementale des rats à P6, identique à celle induite par l'infusion de lait. De ce fait, ils suggèrent que les stimuli, définis comme aversif (choc) et appétitif (lait), sont catégorisés de la même manière par le raton de 6 jours (Camp & Rudy, 1988). Un argument supplémentaire peut être apporté à l'idée que la valeur du renforcement change avec l'âge. Nous avons observé que la réponse spontanée des rats vis-à-vis d'une odeur aversive (toluquinone, substance répulsive sécrétée par un Myriapode) évolue avec l'âge : une réponse d'approche

¹ index d'aversion relatif (%) : $100 \times \left[1 - \frac{\text{index d'aversion du groupe conditionné}}{\text{index d'aversion du groupe non conditionné}} \right]$

à P9 et une réponse d'évitement à P12 (**annexe 2**). Ces résultats rappellent fortement ceux obtenus après un conditionnement « odeur-choc ». Ainsi, il n'est pas impossible que la valeur renforçatrice du stimulus puisse changer avec l'âge et affecter la réponse comportementale, que celle-ci soit spontanée ou conditionnée. Cette proposition de changement de valeur du choc est néanmoins à nuancer, puisque : 1) les rats à P6 expriment un comportement (vocalisations et tentatives de fuite) indiquant qu'ils perçoivent le choc comme un stimulus douloureux (Emerich et al., 1985; White et al., 1992) ; 2) les rats avant P10 ne sont pas incapables de catégoriser puisqu'ils peuvent acquérir un conditionnement d'évitement avec un choc de plus forte intensité (Kucharski & Spear, 1984; Sullivan & Wilson, 1995) ; 3) les seuils de détection du choc ne semblent pas varier au cours du développement post-natal (Stehouwer & Campbell, 1978). Ces points suggèrent que le stimulus « choc » ne change pas de valeur de renforcement avec l'âge.

En conclusion de cette discussion, la maturation des capacités d'apprentissage avec l'âge ne semble pas être à l'origine de l'évolution de la mémoire ; nous interpréterons nos résultats en termes de modifications des processus de consolidation et/ou de maintien à long terme de la mémoire.

III.2) Maturation du système nerveux entre le moment de l'acquisition et celui de la restitution

L'inversion de la mémoire avec l'âge (**articles 3 & 4**) et l'amnésie infantile (**article 4**) peuvent être dues à des modifications au sein du système nerveux se manifestant plusieurs jours après l'acquisition. En effet, il est possible que la trace formée précocement soit remaniée plus tardivement par des modifications structurelles. Soit la trace originelle est modifiée mais reste exprimable et la réponse comportementale ne sera plus la même ; ce qui pourrait expliquer une inversion de la mémoire. Soit la trace n'est plus disponible sous sa forme originelle car diluée, voire effacée, et elle ne peut plus être exprimée ; ce qui correspondrait à une amnésie infantile.

III.2.1) *Inversion de la mémoire : trace modifiée ?*

Changement de catégorisation de la trace

L'inversion de la mémoire implique bien évidemment que l'une des réponses comportementales (l'approche à P7 pour le conditionnement odeur-choc, et la préférence à P31 pour la CTA) ne correspond pas à la réponse classiquement associée à cet apprentissage. Les rats expriment une réponse conditionnée vis-à-vis du SC, mais cette réponse n'est pas toujours compatible avec la valeur du SI. Dans le cas du conditionnement

« odeur-choc » (**article 3**), on peut envisager un changement de catégorisation de la trace mnésique : la trace serait modifiée avec l'âge en rapport avec un changement de valeur du choc (cf chapitre précédent *III.1 Maturation des capacités d'apprentissage*). Cette proposition ne peut pas expliquer l'inversion suite à la CTA (**article 4**), étant donné que le chlorure de lithium garde sa valeur aversive au cours du développement. La préférence observée suite à une CTA à P10 suggère que la trace mnésique du SC n'est pas toujours associée logiquement à celle du SI. La trace du SC a perdu la valeur acquise lors du conditionnement, mais elle a bénéficié d'un marquage du SI. Ainsi, lors de la présentation du SC, les rats expriment un comportement d'approche, parce qu'ils connaissent le SC mais ils essaient de retrouver la valeur qui lui était associée.

Simple ou double trace

Jusqu'ici, nous avons envisagé une trace unique, néanmoins nous pouvons proposer l'existence de deux traces en compétition. Lors de l'apprentissage « odeur-choc », deux traces seraient formées conjointement: l'une appétitive et l'autre aversive. En effet, des rats de 6 jours peuvent apprendre une aversion suite au conditionnement « odeur-choc », lorsque le choc est plus intense (1.5mA au lieu de 0.5mA) (Kucharski & Spear, 1984; Sullivan & Wilson, 1995). On peut donc penser qu'un choc de moyenne intensité peut induire la formation d'une mémoire d'évitement sous-liminaire à P6. La trace d'approche serait dominante jusqu'à P10, puis la trace d'évitement l'emporterait. En ce qui concerne la CTA, la trace d'aversion serait dominante à P13 alors que la trace de préférence serait dominante à P31, néanmoins aucun argument expérimental ne permet d'envisager la formation d'une trace de préférence suite à l'acquisition d'une CTA.

Modifications structurelles

Qu'il s'agisse d'une simple ou d'une double trace, les modifications des structures cérébrales et des circuits neuronaux au cours du développement post-natal peuvent être à l'origine de l'inversion de la mémoire avec l'âge.

Comme nous l'avons déjà vu (cf chapitre *II.1.4 Développement des structures cérébrales*), la mémoire de l'association odeur-choc avant P10 est formée et stockée dans le circuit bulbe olfactif/cortex pyriforme antérieur, alors que la mémoire d'évitement après P10 implique le circuit amygdale/cortex pyriforme postérieur (Moriceau et al., 2006; Raineki et al., 2009). La modification des circuits neuronaux semble avoir un impact sur l'apprentissage (approche puis évitement), mais elle peut également influencer sur l'évolution de la trace mnésique. Trois cas de figures sont envisageables pour expliquer l'inversion :

a) Changement du circuit d'expression. La trace stockée dans le circuit bulbe olfactif/cortex pyriforme antérieur à P6 est exprimée via le circuit amygdale/cortex pyriforme postérieur après P10.

b) Changement du lieu de stockage. La trace stockée dans le circuit bulbe olfactif/cortex pyriforme antérieur à P6 est ré-encodée dans le circuit amygdale/cortex pyriforme postérieur après P10.

c) Changement de dominance de la double trace. Une double trace est formée à P6 : la trace d'approche dans le circuit bulbe olfactif/cortex pyriforme antérieur et la trace d'évitement dans le circuit amygdale/cortex pyriforme postérieur. La réponse comportementale serait contrôlée par le premier circuit avant P10, puis par le second circuit sans que la trace ait besoin d'être transformée.

En ce qui concerne la CTA, les structures cérébrales impliquées chez le nouveau-né ne sont pas connues. Hormis notre étude qui a permis de montrer l'activation de l'amygdale après l'acquisition de la CTA chez le raton, aucune étude ne s'est intéressée aux structures de la CTA chez le nouveau-né. Néanmoins, notre conditionnement, bien qu'utilisant un paradigme de CTA, est réalisé avec du lait aromatisé à la pêche comme SC ; on peut donc considéré que notre apprentissage est un conditionnement d'aversion gustatif/olfactif, et non pas uniquement gustatif. La modification des circuits impliquées dans le conditionnement odeur-malaise (Shionoya et al., 2006) peut perturber la trace stockée. Comme nous l'avons déjà proposé, la trace du SI a pu être perdue, laissant la trace du SC marquée. Les ratons connaissent le SC mais ont perdu sa signification. Lors du test de rétention, l'animal sera attiré par ce SC connu afin de retrouver la valeur qui lui était associée. Les modifications neuronales pourraient donc être à l'origine de l'inversion de la mémoire de la CTA, que nous observons.

III.2.2) *Oubli : trace totalement effacée ?*

Avec l'âge, les modifications neuronales ont peut être délayé la trace originelle, il est possible qu'elle soit toujours présente mais inaccessible (non exprimable), et qu'elle puisse être récupérée dans des conditions favorables. Une mémoire oubliée peut être restaurée par la présentation d'indices de rappel (réactivation) ou par un nouvel essai de conditionnement (réinstallation) ; ceci a été observé de l'animal à l'humain, et du nouveau-né à l'adulte (revues : Gordon, 1981; Rovee-Collier & Hayne, 1987; cf introduction). Néanmoins, une seule étude a mis en évidence l'atténuation de l'oubli d'une mémoire précoce chez des ratons de moins de 16 jours. Cette étude indique que la réactivation atténuée plus fortement l'oubli d'une mémoire formée à P12 qu'à P9, mais n'a pas d'effet sur la mémoire formée à P7 (Spear & Smith, 1978). Notre étude confirme la difficulté à récupérer une mémoire précoce: la mémoire « oubliée » des ratons conditionnés à P3, P10 ou P12 n'a pas eu d'effet facilitateur sur un reconditionnement (de faible intensité) 5 semaines plus tard (**article 4**). L'absence d'effet n'est pas due à l'impossibilité d'observer une facilitation du conditionnement puisque la mémoire « éteinte » établie à P15 ou P18 a un effet facilitateur sur le reconditionnement chez l'adulte (P100). Chez le bébé, l'équipe de Rovee-Collier a

montré que la récupération de la trace dépend de différents facteurs dont l'efficacité évolue avec l'âge :

- la force et la durée de la réactivation (Joh et al., 2002; Galluccio & Rovee-Collier, 2005). Les nouveau-nés ont besoin d'indices de rappel plus efficaces (plus intense et de plus longue durée) pour faciliter la récupération. Dans notre cas, il s'agit d'un reconditionnement (induisant une aversion) et non un simple indice de rappel, il paraît donc difficile de trouver des stimuli plus efficaces.

- le délai entre le moment où l'oubli apparaît et la réactivation (Joh et al., 2002; Galluccio & Rovee-Collier, 2005).

- le délai entre le moment de la réactivation et le test de rétention (Hildreth & Rovee-Collier, 2002; Hsu et al., 2005; Hsu & Rovee-Collier, 2006). Plus on retarde le test par rapport à la réactivation, plus l'effet de la réactivation est dissipé. L'équipe de Rovee-Collier considère que le décours de l'oubli post-réactivation est identique à celui post-acquisition et déclare : « réactiver une mémoire double sa *vie* » (Rovee-Collier & Cuevas, 2009).

Nos résultats montrent qu'un apprentissage précoce à P3, P10 ou P12 n'a pas d'impact sur l'établissement d'un ré-apprentissage chez le jeune adulte. Ces résultats semblent être en contradiction avec plusieurs données montrant qu'une expérience précoce influence le comportement chez l'adulte. En effet, des expériences olfactives/gustatives durant la période post-natale peuvent modifier l'établissement d'un nouvel apprentissage à l'âge adulte (Blais et al., 2006; Sevelinges et al., 2007; Sevelinges et al., 2009b; Sevelinges et al., 2009c), et altérer le comportement alimentaire (Le Magnen & Tallon, 1968; Galef & Henderson, 1972; Bilko et al., 1994; Sevelinges et al., 2009b), reproducteur (Mainardi et al., 1965; Fillion & Blass, 1986) et maternel (Marr & Gardner, 1965; Shah et al., 2002). Il est important de remarquer que ces travaux impliquent des expériences répétées tous les jours de la naissance au sevrage (exception pour (Galef & Henderson, 1972): 4 jours d'exposition, (Sevelinges et al., 2007): 5 jours d'exposition et (Sevelinges et al., 2009c): 18 jours d'exposition). Ainsi notre absence d'effet sur le reconditionnement chez l'adulte peut être due au fait que notre conditionnement est réalisé en un seul essai (relativement court : 10min de SC suivi 30min plus tard du LiCl) d'une part et à un âge très précoce (avant P12) d'autre part. L'étude de Sevelinges et al. suggère que l'absence d'effet à long terme d'une expérience olfactive avant P12 est due à un phénomène d'interférence : les événements présents entre P12 et le sevrage interfèrent avec la mémoire formée précocement entraînant son oubli (Sevelinges et al., 2009c). Dans nos conditions expérimentales, il se pourrait donc qu'un souvenir établi en un seul essai avant P12 soit totalement perdu pour le jeune adulte.

III.3) État de maturation du système nerveux au moment de l'encodage

L'évolution des cinétiques de consolidation/reconsolidation (**article 2**) et l'évolution de la rétention à très long terme (**article 4**) pourraient être dues à la maturation neuronale aux différents moments de l'acquisition. En effet, les nombreuses modifications neuronales survenant entre P12 et P15 pourraient être à l'origine du raccourcissement des cinétiques de stabilisation et du basculement du décours de l'oubli pendant cette période.

III.3.1) *Modifications des mécanismes moléculaires*

Les mécanismes moléculaires subissent des modifications au cours du développement ; ce qui est le cas par exemple, des récepteurs NMDA et de la cascade des MAPK impliqués dans la stabilisation de la MLT chez le nouveau-né (Weldon et al., 1997; Zhang et al., 2003b; **article 1**).

La proportion des sous-unités des récepteurs NMDA évolue de la naissance à P20 : l'expression des sous-unités NR2A augmente de façon plus importante que celle des sous-unités NR2B; les ratons ont plus de NR2B alors que les adultes ont plus de NR2A (Zhong et al., 1995). De plus les récepteurs NMDA-NR2A sont extra-synaptiques, alors que les récepteurs NMDA-NR2B sont intra- et extra-synaptiques. Ces changements d'expression de sous-unités sont liés à des changements fonctionnels des récepteurs NMDA au cours du développement : les neurones exprimant NR2A sont plus sensibles au glutamate et à la glycine (Zhong et al., 1996), et ont un courant post-synaptique plus rapide (Flint et al., 1997). Des études montrent que le remplacement des sous-unités NR2B par les sous-unités NR2A est corrélé avec le changement des capacités d'apprentissages associatifs dans différentes tâches (Dumas, 2005). Notons que le décours de l'altération de la composition des récepteurs NMDA de l'amygdale n'a pas été étudié, il se situe entre P5 (NR2B dominants) et P21 (NR2A dominants). Il serait intéressant d'étudier si les capacités d'apprentissages aversifs pourraient être dues à des modifications des récepteurs NMDA dans l'amygdale.

Nous avons montré que la cascade des MAPK/ERK est nécessaire lors de la mémorisation chez le nouveau-né. Malgré tout, il est possible que la cascade des MAPK activée chez le nouveau-né ne soit pas exactement la même que chez l'adulte. En effet, la cascade des MAPK est complexe et il existe plusieurs voies avec différentes molécules ERK. Nous avons observé l'activation de ERK1/2 après l'acquisition de la CTA chez le nouveau-né ; mais une autre voie de signalisation MAPK, impliquant MEK5 et ERK5, pourrait être également mise en jeu. En effet, MEK5 a les mêmes motifs de phosphorylation que MEK1/2 et peut donc être bloquée par les inhibiteurs de MEK1/2 (dont le SL327) (Kamakura et al., 1999). De plus ERK5 est plus fortement exprimé au stade foetal et après la naissance, et son expression décroît au cours du développement (Liu et al., 2003). On peut donc envisager que ERK5 intervient principalement dans la mémorisation chez le nouveau-né, et qu'elle est progressivement relayée par ERK1/2 chez l'adulte.

Il est donc possible que les mécanismes moléculaires impliqués dans la formation de la MLT évoluent et deviennent de plus en plus efficaces au cours du développement, permettant ainsi une consolidation/reconsolidation pendant un temps plus court, ainsi qu'un maintien à plus long terme de la trace avec l'âge.

III.3.2) *Modifications des structures cérébrales*

Outre les modifications moléculaires, la maturation des structures cérébrales et des circuits neuronaux (neurogenèse, migrations neuronales, myélinisation, connexions entre les structures cérébrales) peuvent également faciliter la mémorisation et expliquer l'évolution de la rétention au cours du développement post-natal. Parmi les changements structurels (cf chapitre *II.1.4 Développement des structures cérébrales*), nous ne prendrons ici qu'un exemple, celui de l'amygdale, structures cérébrales impliquées dans l'aversion conditionnée chez l'adulte. Chez le nouveau-né, l'implication de l'amygdale dans différents apprentissages n'est pas claire. En effet, des analyses par autoradiographies 2-DG ont suggéré que l'amygdale n'est pas impliquée dans le conditionnement « odeur-choc » avant P12 (Sullivan et al., 2000a), dans l'aversion olfactive (odeur-malaise) avant P23 (Shionoya et al., 2006). Néanmoins, une étude lésionnelle montre que l'amygdale est impliquée dans l'apprentissage d'une préférence olfactive lors d'un conditionnement « odeur-brossage » dès P6 (Sullivan & Wilson, 1993). De plus, notre analyse biochimique montre que les MAPK de l'amygdale sont activées lors de la consolidation de la CTA dès l'âge de 3 jours, suggérant que l'amygdale est impliquée dans la CTA dès P3. Néanmoins, étant donné que l'amygdale n'est pas totalement mature à P3, son activation n'est peut-être pas optimale. Le niveau d'activation de l'amygdale peut varier au cours du développement post-natal mais aussi en fonction des tâches d'apprentissage. Cette modification d'activation de l'amygdale avec l'âge induirait une évolution de la dynamique de la mémoire.

L'activation de l'amygdale semble être étroitement liée à l'établissement d'un conditionnement aversif. Néanmoins, Shionoya et al. ont montré que le conditionnement « odeur-malaise » est réalisable à P7 et P12 alors que l'amygdale n'est pas impliquée dans cette tâche avant P23. Le bulbe olfactif est impliqué dans cet apprentissage à P7 et P12, mais pas à P23. Ces résultats montrent que les circuits neuronaux supportant une même réponse conditionnée peuvent être différents entre le raton pré-sevrage et le raton post-sevrage (Shionoya et al., 2006).

En rapport avec la maturation des structures cérébrales, il est possible que le processus de consolidation à très long terme (consolidation systémique) s'améliore au cours du développement post-natal. Il ne s'agit plus d'une stabilisation de la mémoire qui se produit en quelques minutes voire heures après l'apprentissage (consolidation cellulaire), mais un processus lent de réorganisation dans le temps pendant des semaines des circuits neuronaux qui supportent la mémoire. Un tel processus de consolidation systémique a été

mis en évidence dans le cas de tâche dépendante de l'hippocampe (cf chapitre 1.1.6 *Consolidation à très long terme*). De plus, des données récentes suggèrent l'existence d'une consolidation à très long terme pour des tâches indépendantes de l'hippocampe, comme l'aversion gustative conditionnée. Par exemple, Ding et ses collaborateurs ont montré que l'inactivation du cortex cingulaire antérieur perturbe la rétention de l'aversion gustative testée 1 mois après l'apprentissage, mais n'a aucun effet sur la rétention testée 1 jour plus tard (Ding et al., 2008). La mise en jeu du cortex cingulaire antérieur pour une mémoire de CTA « ancienne » (1 mois) mais pas pour une mémoire « récente » (1 jour) s'apparente à une consolidation systémique : il y a réorganisation des supports neuronaux de la mémoire avec le temps. Dans notre cas, on peut envisager que l'état de maturation d'une structure cérébrale (telle que le cortex cingulaire antérieure) au moment de l'apprentissage soit à l'origine de la capacité de rétention à très long terme. En d'autre terme, l'apparition de la rétention à très long terme entre P12 et P15 serait liée à l'émergence de la consolidation systémique.

Néanmoins, à la différence des précédents travaux sur la consolidation systémique qui montraient un désengagement d'une structure et l'engagement d'une autre au cours du temps, aucun travail n'a mis en évidence un désengagement d'une structure cérébrale dans le cas de l'aversion gustative/olfactive. L'équipe de Ferreira a montré que le cortex insulaire est requis pour un rappel récent et pour un rappel ancien de l'aversion gustative (Desgranges et al., 2009), et que l'amygdale est impliquée dans un rappel récent et ancien d'aversion olfactive (Sevelinges et al., 2009a).

Notons que les modifications moléculaires et structurelles sont programmées génétiquement, mais qu'elles sont aussi sensibles à l'expérience individuelle. Grâce à des expériences préalables, le réseau neuronal serait préparé, et un apprentissage nouveau bénéficierait d'une économie d'énergie et par conséquent d'une stabilisation plus rapide de la trace. Le fait que la reconsolidation soit plus rapide que la consolidation est un argument en faveur de cette hypothèse de la préparation du réseau : la reconsolidation a bénéficié du « pattern » précédemment formé lors de la consolidation.

III.3.3) *Relation entre consolidation et rétention à long terme ?*

Dans cette hypothèse de maturation neuronale au moment de l'acquisition, il est envisageable que le maintien de la trace à très long terme soit lié au raccourcissement des cinétiques de consolidation. La relation consolidation-rétention à long terme est en accord avec la proposition de Squire : « d'une part la consolidation du souvenir est représentée par le renforcement de certaines connexions neuronales, et d'autre part l'oubli est associé à la perte graduelle jusqu'à être complète de certaines de ces connexions qui ont à l'origine servi à représenter les informations stockées » (Squire, 1987). Ce qui nous conduit à l'hypothèse suivante : au cours du développement post-natal, les processus de mémorisation sont

réalisés plus rapidement et plus efficacement, ce qui permet un meilleur maintien de la trace et donc une rétention du souvenir à plus long terme. En d'autres termes, la maturation du système nerveux permettrait un stockage de plus en plus rapide et efficace du souvenir et un maintien de la trace pendant une plus longue période.

En accord avec cette idée, les performances mnésiques peuvent être augmentées en administrant des agents « facilitateurs » lors de la consolidation ; ceci a largement été démontré chez l'adulte (revues : McGaugh, 1989; Carew, 1996). De plus, deux études ont mis en évidence une atténuation de l'oubli d'apprentissage précoce (évitement passif à P16) par l'administration post-acquisition d'agents pharmacologiques (glucose, adrénaline et noradrénaline) (Gold et al., 1982; Flint & Riccio, 1999). Néanmoins cette augmentation de la rétention n'a été observée que 24 heures après l'apprentissage ; il n'est pas sûr que cet effet dure à plus long terme.

Nous avons étudié l'effet d'agents facilitateurs sur la rétention à long terme d'un apprentissage précoce (**annexe 3**). Nous avons choisi deux agents facilitateurs agissant respectivement en amont et en aval de la voie de signalisation moléculaire activée lors de la consolidation : un agoniste des récepteurs NMDA (D-cyclosérine) et un inhibiteur des déacétylases des histones (trichostatine A). La trichostatine A entraîne un prolongement de l'acétylation des histones permettant une amélioration de la transcription nécessaire à la consolidation de la mémoire. Chez l'adulte, l'administration au moment de l'acquisition de la D-cyclosérine (Quartermain et al., 1994; Land & Riccio, 1997; Thompson & Disterhoft, 1997; Nunnink et al., 2007) et de la trichostatin A (Korzus et al., 2004; Yeh et al., 2004; Vecsey et al., 2007) induit une amélioration de la mémoire mesurée 24 heures plus tard. La trichostatin A semble bien agir sur la consolidation et non sur l'apprentissage, puisqu'il n'y a pas de modifications des performances à court terme (Korzus et al., 2004). Nous avons administré la D-cyclosérine (100% et 50% de la dose efficace chez l'adulte) ou la trichostatin A (3 doses différentes non léthales pour le raton: 20µg/ml, 10µg/ml ou 5µg/ml) respectivement 15 min et 2 h avant la CTA chez des ratons à P3. Nous avons testé la rétention à long terme de ces ratons à P10 puis à P35. Quelque soit le délai de rétention, les ratons conditionnés recevant la D-cyclosérine ou la trichostatin A ne présentent pas plus d'aversion conditionnée que les ratons conditionnés injectés avec le véhicule (**annexe 3**). Les deux drogues n'ont pas prolongé la mémoire formée à P3. Cette absence d'effet peut être due à différents facteurs, non exclusifs les uns des autres :

- Pas d'implication des récepteurs NMDA et de l'acétylation des histones dans les apprentissages précoces. Dans le cas des récepteurs NMDA, cette proposition peut être rejetée puisque l'administration d'un antagoniste des récepteurs NMDA empêche l'apprentissage d'une CTA dès la naissance (Mickley et al., 1998), et la formation d'un apprentissage olfactif appétitif à P6 (Weldon et al., 1997).

- Inefficacité des drogues dans le cas d'une CTA avec un long interval SC-SI. Récemment,

Davenport & Houpt ont montré que la D-cyclosérine induisait une facilitation de l'apprentissage de CTA lorsque le délai SC-SI est court (0 min), mais pas lorsqu'il est long (35 min) (Davenport & Houpt, 2009). Il est donc probable que l'absence d'effet facilitateur soit due au fait que notre paradigme est avec un délai de 30 min entre le SC et le SI. En ce qui concerne la trichostatin A, aucune étude n'a montré d'effet facilitateur sur la CTA chez l'adulte. Il reste donc à déterminer si la trichostatin A peut faciliter un tel apprentissage avec un long délai entre le SC et le SI.

Il est important de noter que dans leur étude, Davenport & Houpt ont facilité une CTA de faible intensité, induite par une faible dose de LiCl (20mg/kg au lieu de 150mg/kg dans notre paradigme). Cette différence de force d'apprentissage peut expliquer le fait que nous n'observons pas d'effet facilitateur lorsque la CTA est plus intense. Ce qui suggère qu'on peut faciliter un apprentissage de faible intensité, mais pas un apprentissage établi dans des conditions optimales.

- Pas de relation entre facilitation de la mémorisation et prolongement de la durée de rétention. Chez le nouveau-né, comme chez l'adulte, un agent facilitateur peut améliorer la réponse comportementale lors d'un test de rétention quelques jours après l'apprentissage (Gold et al., 1982; Flint & Riccio, 1999). L'équipe de John McLean a indiqué que des agents pharmacologiques activant la voie de l'AMPC (inhibiteurs de la phosphodiesterase 4 et de la calcineurine) administrés lors du conditionnement « odeur-isoprotérénol (à faible dose) » entraînent un prolongement de la mémoire pendant 96 heures (McLean et al., 2005; Christie-Fougere et al., 2009). Dans ces expériences, les auteurs utilisent un apprentissage de très faible intensité ; la performance des animaux non traités par l'agent facilitateur est faible dès le test à 24 heures. Ainsi, la force de l'apprentissage peut être optimisée par l'agent facilitateur, ce qui permet le maintien de la mémoire 96 heures plus tard. Cependant ils n'observent pas de prolongement de la mémoire 1 semaine après l'apprentissage. Ces données suggèrent qu'un agent facilitateur peut améliorer la réponse comportementale (testée à 24 heures), mais qu'elle ne semble pas prolonger la rétention d'un souvenir à long terme (au moins 1 semaine plus tard).

Au cours du développement post-natal, nous avons observé une évolution graduelle des cinétiques de consolidation (de P3 à P18) d'une part et une brusque émergence de la rétention à long terme (entre P12 et P15) d'autre part. Cette différence de décours peut être considérée comme un argument en faveur d'une relative indépendance entre le processus de consolidation et le processus de maintien à très long terme du souvenir. La consolidation ne participerait pas directement au maintien à très long terme de la trace ; la consolidation serait requise pour l'expression d'une mémoire précoce aversive et appétitive durant quelques jours seulement (**article 4** ; Coureaud et al., 2006). Cette proposition reste cependant à nuancer, car le maintien à long terme ne dépend peut-être pas de la durée de

la consolidation, mais peut-être d'un autre aspect de la consolidation comme la sensibilité de la trace à l'agent amnésiant juste après l'apprentissage. Ainsi, lorsque l'anisomycine est administrée juste après l'apprentissage, elle a un effet amnésiant total de P3 à P12, et un faible effet à P18. La stabilité de la trace juste après l'apprentissage à P18 peut être l'un des facteurs déterminants au maintien de la trace à très long terme. Une évolution conjointe de la consolidation et de la rétention à long terme peut donc être envisagée au cours du développement post-natal.

III.4) Conclusion & Perspectives

L'ensemble de nos résultats montre d'une part que la mémoire précoce a des propriétés et des caractéristiques identiques à la mémoire de l'adulte, et d'autre part que les dynamiques de la stabilisation et de l'expression de la mémoire évoluent au cours du développement post-natal. À partir des hypothèses proposées précédemment (différentes modifications neuronales), il serait intéressant d'étudier les causes de l'évolution de la mémoire avec l'âge. Parmi les perspectives à envisager, nous pouvons en proposer 2 :

- La voie de signalisation moléculaire de la stabilisation de la mémoire.

La cascade des MAPK est activée lors de l'acquisition et de la réactivation par des signaux pré-synaptiques qui agissent au niveau post-synaptique par l'intervention de différents récepteurs. Étant donné les modifications d'expression des récepteurs NMDA au cours du développement, il serait intéressant d'étudier l'éventuelle variation d'implication dans la formation de la mémoire précoce, à l'aide d'un antagoniste sélectif de ce récepteur (ex : MK801).

- L'évolution de l'implication des structures cérébrales.

Afin d'étudier les structures impliquées dans la mémoire à chaque âge, on peut soit étudier l'effet du blocage de la structure cible sur la formation de la mémoire à long terme, soit analyser l'activation de la structure après conditionnement. Nous avons essayé de réaliser des injections d'agent amnésiant dans l'amygdale chez le nouveau-né, cependant malgré des dizaines d'essais nous n'avons jamais pu cibler les 2 amygdales pour le même animal à cause des difficultés de stéréotaxie sur un crâne mou. Les analyses immunochimiques (western-blot, immunohistologie) ou d'imageries in vivo semblent être utilisables pour l'étude des circuits neuronaux chez le nouveau-né. Par exemple, la comparaison des marquages d'activation neuronale (ex : c-fos) entre les rats conditionnés à P3 et à P18 permettrait de déterminer quelles sont les structures impliquées comme support de la mémoire à chaque âge et de détecter les modifications des structures concernées.

BIBLIOGRAPHIE

- Abt JP, Essman WB, Jarvik ME (1961) Ether-induced retrograde amnesia for one-trial conditioning in mice. *Science* 133:1477-1478.
- Ader R, Peck JH (1977) Early learning and retention of a conditioned taste aversion. *Dev Psychobiol* 10:213-218.
- Adler SA, Wilk A, Rovee-Collier C (2000) Reinstatement versus reactivation effects on active memory in infants. *J Exp Child Psychol* 75:93-115.
- Agranoff BW (1968) Memory and protein synthesis. *Scientific American* 216:115-122.
- Agranoff BW, Klinger PD (1964) Puromycin effect on memory fixation in the Goldfish. *Science* 146:952-953.
- Akirav I, Maroun M (2006) Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cereb Cortex* 16:1759-1765.
- Alarcon JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, Barco A (2004) Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP \pm mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron* 42:947-959.
- Alberini CM (2009) Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. *Physiol Rev* 89:121-145.
- Alberini CM, Milekic MH, Tronel S (2006) Mechanisms of memory stabilization and destabilization. *Cell Mol Life Sci* 63:999-1008.
- Alberts JR (1976) Olfactory contributions to behavioral development in rodents, in: *Mammalian Olfaction, Reproductive Processes and Behavior*. Academic Press, New York
- Allin JT, Banks EM (1971) Effects of temperature on ultrasound production by infant albino rats. *Dev Psychobiol* 4:149-156.
- Allin JT, Banks EM (1972) Functional aspects of ultrasound production by infant albino rats (*Rattus norvegicus*). *Anim Behav* 20:175-185.
- Alpern HP, Kimble DP (1967) Retrograde amnesic effects of diethyl ether and bis(trifluoroethyl) ether. *J Comp Physiol Psychol* 63:168-171.
- Alpern HP, McGaugh JL (1968) Retrograde amnesia as a function of duration of electroshock stimulation. *J Comp Physiol Psychol* 65:265-269.
- Altman J, Sudarshan K (1975) Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim Behav* 23:896-920.
- Amsel A, Burdette DR, Letz R (1976) Appetitive learning, patterned alternation, and extinction in 10-d-old rats with non-lactating suckling as reward. *Nature* 262:816-818.
- Anokhin KV, Tiunova AA, Rose SP (2002) Reminder effects - reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *Eur J Neurosci* 15:1759-1765.

- Bibliographie -

- Arias C, Spear NE, Molina JC, Molina A (2007) Rapid acquisition of operant conditioning in 5-day-old rat pups: a new technique articulating suckling-related motor activity and milk reinforcement. *Dev Psychobiol* 49:576-588.
- Artinian J, De Jaeger X, Fellini L, de Saint Blanquat P, Roulet P (2007) Reactivation with a simple exposure to the experimental environment is sufficient to induce reconsolidation requiring protein synthesis in the hippocampal CA3 region in mice. *Hippocampus* 17:181-191.
- Artinian J, McGauran AM, De Jaeger X, Mouldous L, Frances B, Roulet P (2008) Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial memory consolidation but also reconsolidation. *Eur J Neurosci* 27:3009-3019.
- Astic L, Saucier D (1981) Ontogenesis of the functional activity of rat olfactory bulb: autoradiographic study with the 2-deoxyglucose method. *Brain Res* 254:243-256.
- Atkinson RC, Shiffrin RM (1968) Human memory: a proposed system and its control processes. In: Spence KW and Spence JT (Eds), *The Psychology of Learning and Motivation: Advances in Research and Theory*, Vol 2 Academic Press, New York:89–195.

- B -

- Bacher LF, Smotherman WP, Robertson SS (2001) Effects of warmth on newborn rats' motor activity and oral responsiveness to an artificial nipple. *Behav Neurosci* 115:675-682.
- Bahar A, Dorfman N, Dudai Y (2004) Amygdalar circuits required for either consolidation or extinction of taste aversion memory are not required for reconsolidation. *Eur J Neurosci* 19:1115-1118.
- Balcom FW, Coleman WR, Norman JL (1981) Taste aversion learning and long-term retention in juvenile rats. *Psychol Rep* 49:266.
- Barkai E, Saar D (2001) Cellular correlates of olfactory learning in the rat piriform cortex. *Rev Neurosci* 12:111-120.
- Barondes SH, Cohen HD (1966) Puromycin effect on successive phases of memory storage. *Science* 151:594-595.
- Bayer SA (1980) Quantitative 3H-thymidine radiographic analyses of neurogenesis in the rat amygdala. *J Comp Neurol* 194:845-875.
- Bayer SA, Altman J, Russo RJ, Zhang X (1993) Times tables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology* 14: 83-144.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Igaz LM, Bevilaqua LR, Izquierdo I, Medina JH (2007) Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF-dependent phase in the hippocampus. *Neuron* 53:261-277.
- Belelovsky K, Kaphzan H, Elkobi A, Rosenblum K (2009) Biphasic activation of the mTOR pathway in the gustatory cortex is correlated with and necessary for taste learning. *J*

- Neurosci 29:7424-7431.
- Berdel B, Morys J, Maciejewska B (1997) Neuronal changes in the basolateral complex during development of the amygdala of the rat. *Int J Dev Neurosci* 15:755-765.
- Berman DE, Dudai Y (2001) Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* 291:2417-2419.
- Bermudez-Rattoni F, Forthman DL, Sanchez MA, Perez JL, Garcia J (1988) Odor and taste aversions conditioned in anesthetized rats. *Behavioral Neuroscience* 102:726-732.
- Bernardi RE, Lattal KM, Berger SP (2007) Anisomycin disrupts a contextual memory following reactivation in a cocaine-induced locomotor activity paradigm. *Behav Neurosci* 121:156-163.
- Bernstein IL, Koh MT (2007) Molecular signaling during taste aversion learning. *Chem Senses* 32:99-103.
- Biedenkapp JC, Rudy JW (2004) Context memories and reactivation: constraints on the reconsolidation hypothesis. *Behav Neurosci* 118:956-964.
- Bilko A, Altbacker V, Hudson R (1994) Transmission of food preference in the rabbit: the means of information transfer. *Physiol Behav* 56:907-912.
- Blais I, Terkel J, Goldblatt A (2006) Long-term impact of early olfactory experience on later olfactory conditioning. *Dev Psychobiol* 48:501-507.
- Blaiss CA, Janak PH (2007) Post-training, but not post-reactivation, administration of amphetamine and anisomycin modulates Pavlovian conditioned approach. *Neurobiol Learn Mem* 25:25.
- Blass EM, Teicher HH, Cramer CP, Bruno JP, Hall WG (1977) Olfactory, thermal and tactile control of suckling in preauditory and previsual rats. *J Comp Physiol Psychol* 91:1248-1260.
- Bloch V, Denti A, Hennevin E (1966) Effets de la stimulation réticulaire sur la phase de consolidation de la trace mnésique. *CR Acad Sc (Paris)* 266:384-387.
- Bloch V, Deweer B, Hennevin E (1970) [Suppression of retrograde amnesia and consolidation of one-trial learning through stimulation of the reticular formation]. *Physiol Behav* 5:1235-1241.
- Blumberg MS, Alberts JR (1990) Ultrasonic vocalizations by rat pups in the cold: an acoustic by-product of laryngeal braking? *Behav Neurosci* 104:808-817.
- Blundell J, Kouser M, Powell CM (2008) Systemic inhibition of mammalian target of rapamycin inhibits fear memory reconsolidation. *Neurobiol Learn Mem* 90:28-35.
- Boccia M, Freudenthal R, Blake M, de la Fuente V, Acosta G, Baratti C, Romano A (2007) Activation of hippocampal nuclear factor-kappa B by retrieval is required for memory reconsolidation. *J Neurosci* 27:13436-13445.

- Bibliographie -

- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM (2005) Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: Effects of a new different learning task. *Neuroscience* 135:19-29.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM (2006) Post-retrieval effects of icv infusions of hemicholinium in mice are dependent on the age of the original memory. *Learn Mem* 13:376-381.
- Bolles RC, Woods PJ (1965) The ontogeny of behavior in the albino rat. *Animal Behaviour* 12:427-441.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671-675.
- Bordner KA, Spear NE (2006) Olfactory learning in the one-day old rat: reinforcing effects of isoproterenol. *Neurobiol Learn Mem* 86:19-27.
- Botwinick CY, Quartermain D (1974) Recovery from amnesia induced by pre-test injections of monoamine oxidase inhibitors. *Pharmacol Biochem Behav* 2:375-379.
- Bourtchouladze R, Abel T, Berman N, Gordon R, Lapidus K, Kandel ER (1998) Different training procedures recruit either one or two critical periods for contextual memory consolidation, each of which requires protein synthesis and PKA. *Learn Mem* 5:365-374.
- Bovet D, Bignami G, Robustelli F (1963) [The action of nicotine on conditioning to the avoidance reaction in the rat.]. *C R Hebd Seances Acad Sci* 256:778-780.
- Bovet D, Bovet-Nitti F, Oliviero A (1969) Genetic aspects of learning and memory in mice. *Science* 163:139-149.
- Bozon B, Davis S, Laroche S (2003a) A requirement for the immediate early gene *zif268* in reconsolidation of recognition memory after retrieval. *Neuron* 40:695-701.
- Bozon B, Kelly A, Josselyn SA, Silva AJ, Davis S, Laroche S (2003b) MAPK, CREB and *zif268* are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:805-814.
- Bradley PM, Galal KM (1988) State-dependent recall can be induced by protein synthesis inhibition: behavioural and morphological observations. *Brain Res* 468:243-251.
- Brown RW, Kraemer PJ (1997) Ontogenetic differences in retention of spatial learning tested with the Morris water maze. *Dev Psychobiol* 30:329-341.
- Brown TE, Wilson AR, Cocking DL, Sorg BA (2009) Inhibition of matrix metalloproteinase activity disrupts reconsolidation but not consolidation of a fear memory. *Neurobiol Learn Mem* 91:66-72.
- Brown TE, Forquer MR, Cocking DL, Jansen HT, Harding JW, Sorg BA (2007) Role of matrix metalloproteinases in the acquisition and reconsolidation of cocaine-induced conditioned place preference. *Learn Mem* 14:214-223.
- Bruce D, Dolan A, Phillips-Grant K (2000) On the transition from childhood amnesia to the recall of personal memories. *Psychol Sci* 11:360-364.

- Bibliographie -

- Bull R, Ferrera E, Orrego F (1976) Effects of anisomycin on brain protein synthesis and passive avoidance learning in newborn chicks. *J Neurobiol* 7:37-49.
- Bures J, Buresova W (1963) Cortical spreading depression as a memory disturbing factor. *J Comp Physiol Psychol* 56:268-272.
- Burritt EA, Provenza FD (1990) Food aversion learning in sheep: persistence of conditioned taste aversions to palatable shrubs (*Cercocarpus montanus* and *Amelanchier alnifolia*). *J Anim Sci* 68:1003-1007.
- Butler J, Rovee-Collier C (1989) Contextual gating of memory retrieval. *Dev Psychobiol* 22:533-552.

- C -

- Cahill L, Pham CA, Setlow B (2000) Impaired memory consolidation in rats produced with beta-adrenergic blockade. *Neurobiol Learn Mem* 74:259-266.
- Cahill L, Weinberger NM, Roozendaal B, McGaugh JL (1999) Is the amygdala a locus of "conditioned fear"? Some questions and caveats. *Neuron* 23:227-228.
- Caldwell DF, Werboff J (1962) Classical conditioning in newborn rats. *Science* 136:1118-1119.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I (2004) Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 11:572-578.
- Camp LL, Rudy JW (1988) Changes in the categorization of appetitive and aversive events during postnatal development of the rat. *Dev Psychobiol* 21:25-42.
- Campbell BA, Campbell EH (1962) Retention and extinction of learned fear in infant and adult rats. *J Comp Physiol Psychol* 55:1-8.
- Campbell BA, Jaynes J (1966) Reinstatement. *Psychol Rev* 73:478-480.
- Campbell BA, Jaynes J (1969) Effect of Duration of Reinstatement on Retention of A Visual Discrimination Learned in Infancy *Developmental Psychology* 1:71-74.
- Campbell BA, Spear NE (1972) Ontogeny of memory. *Psychol Rev* 79:215-236.
- Campbell BA, Alberts JR (1979) Ontogeny of long-term memory for learned taste aversions. *Behav Neural Biol* 25:139-156.
- Campbell BA, Jaynes J, Misanin JR (1968) Retention of a light-dark discrimination in rats of different ages. *J Comp Physiol Psychol* 66:467-472.
- Campbell BA, Misanin JR, White BC, Lytle LD (1974) Species differences in ontogeny of memory: Indirect support for neural maturation as a determinant of forgetting. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 87:193-202.
- Campbell BA, Sananes CB, Gaddy JR (1984) Animal models of infantile amnesia, benign senescent forgetfulness, and senile dementia. *Neurobehav Toxicol Teratol* 6:467-471.

- Bibliographie -

- Canal CE, Chang Q, Gold PE (2007) Amnesia produced by altered release of neurotransmitters after intraamygdala injections of a protein synthesis inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:12500-12505.
- Carew TJ (1996) Molecular enhancement of memory formation. *Neuron* 16:5-8.
- Carman HM, Booze RM, Mactutus CF (2002) Long-term retention of spatial navigation by preweanling rats. *Dev Psychobiol* 40:68-77.
- Cestari V, Costanzi M, Castellano C, Rossi-Arnaud C (2006) A role for ERK2 in reconsolidation of fear memories in mice. *Neurobiol Learn Mem* 86:133-143.
- Chang FC, Scott TR (1984) Conditioned taste aversions modify neural responses in the rat nucleus tractus solitarius. *J Neurosci* 4:1850-1862.
- Cherkin A (1969) Kinetics of memory consolidation: role of amnesic treatment parameters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 63:1094-1101.
- Cherkin A (1972) Retrograde amnesia in the chick: Resistance to the reminder effect. *Physiol Behav* 8:949-955.
- Cheslock SJ, Varlinskaya EI, Petrov ES, Spear NE (2000) Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling experience: promotion of nipple attachment in the newborn rat. *Behav Neurosci* 114:484-495.
- Child FM, Epstein HT, Kuzirian AM, Alkon DL (2003) Memory reconsolidation in *Hermisenda*. *Biol Bull* 205:218-219.
- Chorover SL, Schiller PH (1966) Reexamination of prolonged retrograde amnesia in one-trial learning. *J Comp Physiol Psychol* 61:34-41.
- Christie-Fougere MM, Darby-King A, Harley CW, McLean JH (2009) Calcineurin inhibition eliminates the normal inverted U curve, enhances acquisition and prolongs memory in a mammalian 3'-5'-cyclic AMP-dependent learning paradigm. *Neuroscience* 158:1277-1283.
- Chwang WB, O'Riordan KJ, Levenson JM, Sweatt JD (2006) ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. *Learn Mem* 13:322-328.
- Chwang WB, Arthur JS, Schumacher A, Sweatt JD (2007) The nuclear kinase mitogen- and stress-activated protein kinase 1 regulates hippocampal chromatin remodeling in memory formation. *J Neurosci* 27:12732-12742.
- Colombo PJ (2004) Learning-induced activation of transcription factors among multiple memory systems. *Neurobiol Learn Mem* 82:268-277.
- Colon-Cesario M, Wang J, Ramos X, Garcia HG, Davila JJ, Laguna J, Rosado C, Pena de Ortiz S (2006) An inhibitor of DNA recombination blocks memory consolidation, but not reconsolidation, in context fear conditioning. *J Neurosci* 26:5524-5533.
- Cooper RM, Koppenaal RJ (1964) Suppression and recovery of a one-trial avoidance response after a single ECS. *Psychon Sci* 1:303-304.

- Bibliographie -

- Cornwell AC, Fuller JL (1960) Conditioned responses in young puppies. *J Comp Physiol Psychol* 54:13-15.
- Cornwell-Jones C, Sobrian SK (1977) Development of odor-guided behavior in Wistar and Sprague-Dawley rat pups. *Physiol Behav* 19:685-688.
- Costa-Mattioli M, Sossin WS, Klann E, Sonenberg N (2009) Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory. *Neuron* 61:10-26.
- Coulter X (1979) *The determinants of infantile amnesia*. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Coulter X, Collier AC, Campbell BA (1976) Long-term retention of early Pavlovian fear conditioning in infant rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 2:48-56.
- Coureaud G, Languille S, Schaal B, Hars B (2009) Pheromone-induced olfactory memory in newborn rabbits: Involvement of consolidation and reconsolidation processes. *Learn Mem* 16:470-473.
- Coureaud G, Moncomble AS, Montigny D, Dewas M, Perrier G, Schaal B (2006) A pheromone that rapidly promotes learning in the newborn. *Curr Biol* 16:1956-1961.
- Crockett WH, Noble ME (1963) Age of learning, severity of negative reinforcement, and retention of learned responses. *J Genet Psychol* 103:105-112.
- Cui W, Smith A, Darby-King A, Harley CW, McLean JH (2007) A temporal-specific and transient cAMP increase characterizes odorant classical conditioning. *Learn Mem* 14:126-133.
- Cui Z, Lindl KA, Mei B, Zhang S, Tsien JZ (2005) Requirement of NMDA receptor reactivation for consolidation and storage of nondeclarative taste memory revealed by inducible NR1 knockout. *Eur J Neurosci* 22:755-763.

- D -

- Da Silva WC, Bonini JS, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2008) Inhibition of mRNA synthesis in the hippocampus impairs consolidation and reconsolidation of spatial memory. *Hippocampus* 18:29-39.
- Davenport RA, Houpt TA (2009) D-cycloserine enhances short-delay, but not long-delay, conditioned taste aversion learning in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 91:596-603.
- Davis HP, Squire LR (1984) Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull* 96:518-559.
- Davis HP, Rosenzweig MR, Bennett EL, Squire LR (1980) Inhibition of cerebral protein synthesis: dissociation of nonspecific effects and amnesic effects. *Behav Neural Biol* 28:99-104.
- Davis HP, Rosenzweig MR, Kinkade PT, Bennett EL (1981) Effects of anisomycin on retention of the passive-avoidance habit as a function of age. *Exp Aging Res* 7:33-44.
- Davis M (1994) The role of the amygdala in emotional learning. *Int Rev Neurobiol* 36:225-266.

- Davis RE, Klinger PD (1969) Environmental control of amnesia effects of various agents in Goldfish. *Physiol Behav* 4:269-271.
- Davis RL (2004) Olfactory learning. *Neuron* 44:31-48.
- Davis S, Laroche S (2006) Mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase signalling and memory stabilization: a review. *Genes Brain Behav* 5:61-72.
- Dawson RG, McGaugh JL (1969) Electroconvulsive shock effects on a reactivated memory trace: further examination. *Science* 166:525-527.
- De Almeida MA, Izquierdo I (1984) Effect of the intraperitoneal and intracerebroventricular administration of ACTH, epinephrine, or beta-endorphin on retrieval of an inhibitory avoidance task in rats. *Behav Neural Biol* 40:119-122.
- Debiec J, Ledoux JE (2004) Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience* 129:267-272.
- Debiec J, LeDoux JE, Nader K (2002) Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron* 36:527-538.
- Debiec J, Doyere V, Nader K, Ledoux JE (2006) Directly reactivated, but not indirectly reactivated, memories undergo reconsolidation in the amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:3428-3433.
- Desgranges B, Sevelinges Y, Bonnefond M, Levy F, Ravel N, Ferreira G (2009) Critical role of insular cortex in taste but not odour aversion memory. *Eur J Neurosci* 29:1654-1662.
- DeVietti TL, Holliday JH (1972) Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace: a replication. *Psychon Sci* 29:137-138.
- Devietti TL, Hopfer TM (1974) Complete amnesia induced by ECS and complete recovery of memory following reinstatement treatment. *Physiol Behav* 12:599-603.
- DeVietti TL, Kirkpatrick BR (1976) The amnesia gradient: inadequate as evidence for a memory consolidation process. *Science* 194:438-440.
- Devietti TL, Conger GL, Kirkpatrick BR (1977) Comparison of the enhancement gradients of retention obtained with stimulation of the mesencephalic reticular formation after training or memory reactivation. *Physiol Behav* 19:549-554.
- Deweere B, Sara S, Hars B (1980) Contextual cues and memory retrieval in rats: Alleviation of forgetting by a pretest exposure to background stimuli. *Animal Learning & Behavior* 8:265-272.
- Diergaarde L, Schoffelmeer AN, De Vries TJ (2006) Beta-adrenoceptor mediated inhibition of long-term reward-related memory reconsolidation. *Behav Brain Res* 170:333-336.
- Ding HK, Teixeira CM, Frankland PW (2008) Inactivation of the anterior cingulate cortex blocks expression of remote, but not recent, conditioned taste aversion memory. *Learn Mem* 15:290-293.
- Dobbing J (1974) The later growth of the brain and its vulnerability. *Pediatrics* 53:2-6.

- Bibliographie -

- Doty BA, Doty LA (1964) Effect of age and chlorpromazine on memory consolidation. *J Comp Physiol Psychol* 57:331-334.
- Doty RL (1986) Odor-guided behavior in mammals. *Experientia* 42:257-271.
- Dray SM, Taylor AN (1982) ACTH4-10 enhances retention of conditioned taste aversion learning in infant rats. *Behav Neural Biol* 35:147-158.
- Dudai Y (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51-86.
- Dudai Y (2006) Reconsolidation: the advantage of being refocused. *Curr Opin Neurobiol* 22:22.
- Dudai Y, Morris RG (2000) To consolidate or not to consolidate: What are the questions? In *Brain, Perception, Memory Advances in Cognitive Sciences*, ed JJ Bulhuis, Oxford: Oxford Univ Press:149-162.
- Dudai Y, Eisenberg M (2004) Rites of passage of the engram; reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 44:93-100.
- Dudycha GJ, Dudycha MM (1941) Childhood memories: A review of the literature. *Psychological Bulletin* 38:668-682.
- Dumas TC (2005) Developmental regulation of cognitive abilities: modified composition of a molecular switch turns on associative learning. *Prog Neurobiol* 76:189-211.
- Duncan CP (1949) The retroactive effect of electroshock on learning. *Journal of Comparative Physiological Psychology*.
- Duvarci S, Nader K (2004) Characterization of fear memory reconsolidation. *J Neurosci* 24:9269-9275.
- Duvarci S, Nader K, LeDoux JE (2005) Activation of extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein kinase cascade in the amygdala is required for memory reconsolidation of auditory fear conditioning. *Eur J Neurosci* 21:283-289.
- Duvarci S, Nader K, LeDoux JE (2008) De novo mRNA synthesis is required for both consolidation and reconsolidation of fear memories in the amygdala. *Learn Mem* 15:747-755.

- E -

- Ebbinghaus H (1885) *Über das Gedächtnis: Untersuchungen zur experimentellen Psychologie*. Duncker & Humboldt, Leipzig, Germany.
- Egger G (1974) Escape learning: acquisition and extinction rates as a function of age in rats. *Dev Psychobiol* 7:281-288.
- Eisenberg M, Dudai Y (2004) Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in *Medaka*: old fears don't die. *Eur J Neurosci* 20:3397-3403.

- Bibliographie -

- Eisenberg M, Kobilko T, Berman DE, Dudai Y (2003) Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science* 301:1102-1104.
- Emerich DF, Scalzo FM, Enters EK, Spear NE, Spear LP (1985) Effects of 6-hydroxydopamine-induced catecholamine depletion on shock-precipitated wall climbing of infant rat pups. *Dev Psychobiol* 18:215-227.
- Eriksson M, Taskinen M, Leppä S (2007) Mitogen activated protein kinase-dependent activation of c-Jun and c-Fos is required for neuronal differentiation but not for growth and stress response in PC12 cells. *J Cell Physiol* 210:538-548.

- F -

- Fanselow MS, Gale GD (2003) The amygdala, fear, and memory. *Ann N Y Acad Sci* 985:125-134.
- Feigley DA, Spear NE (1970) Effect of age and punishment condition on long-term retention by the rat of active- and passive-avoidance learning. *J Comp Physiol Psychol* 73:515-526.
- Ferreira G, Ferry B, Meurisse M, Levy F (2006) Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behav Neurosci* 120:952-962.
- Fillion TJ, Blass EM (1986) Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. *Science* 231:729-731.
- Fischer A, Sananbenesi F, Schrick C, Spiess J, Radulovic J (2004) Distinct roles of hippocampal de novo protein synthesis and actin rearrangement in extinction of contextual fear. *J Neurosci* 24:1962-1966.
- Flexner JB, Flexner LB (1967) Restoration of expression of memory lost after treatment with puromycin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 57:1651-1654.
- Flexner JB, Flexner LB, Stellar E (1963) Memory in mice as affected by intracerebral puromycin. *Science* 141:57-59.
- Flexner LB, Flexner JB (1968) Intracerebral saline: Effect on memory of trained mice treated with puromycin. *Science* 159:330-331.
- Flexner LB, Goodman RH (1975) Studies on memory: inhibitors of protein synthesis also inhibit catecholamine synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72:4660-4663.
- Flexner LB, Flexner JB, Roberts RB (1967) Memory in mice analyzed with antibiotics. Antibiotics are useful to study stages of memory and to indicate molecular events which sustain memory. *Science* 155:1377-1383.
- Flexner LB, Flexner JB, De La Haba G, Roberts RB (1965) Loss of memory as related to inhibition of cerebral protein synthesis. *J Neurochem* 12:535-541.
- Flint AC, Maisch US, Weishaupt JH, Kriegstein AR, Monyer H (1997) NR2A subunit expression shortens NMDA receptor synaptic currents in developing neocortex. *J Neurosci* 17:2469-2476.

- Bibliographie -

- Flint RW, Jr., Riccio DC (1997) Pretest administration of glucose attenuates infantile amnesia for passive avoidance conditioning in rats. *Dev Psychobiol* 31:207-216.
- Flint RW, Jr., Riccio DC (1999) Post-training glucose administration attenuates forgetting of passive-avoidance conditioning in 18-day-old rats. *Neurobiol Learn Mem* 72:62-67.
- Flint RW, Jr., Marino CL (2007) Cycloheximide impairs reconsolidation of a contextually reactivated memory in a conditioned taste aversion paradigm. *Behav Neurosci* 121:433-438.
- Flint RW, Jr., Valentine S, Papandrea D, Jr. (2007) Reconsolidation of a long-term spatial memory is impaired by cycloheximide when reactivated with a contextual latent learning trial in male and female rats. *Neuroscience* 148:833-844.
- Flood JF, Bennett EL, Orme AE, Rosenzweig MR, Jarvik ME (1978) Memory: modification of anisomycin-induced amnesia by stimulants and depressants. *Science* 199:324-326.
- Flory GS, Langley CM, Pfister JF, Alberts JR (1997) Instrumental learning for a thermal reinforcer in 1-day-old rats. *Dev Psychobiol* 30:41-47.
- Forcato C, Burgos VL, Argibay PF, Molina VA, Pedreira ME, Maldonado H (2007) Reconsolidation of declarative memory in humans. *Learn Mem* 14:295-303.
- Frankland PW, Ding HK, Takahashi E, Suzuki A, Kida S, Silva AJ (2006) Stability of recent and remote contextual fear memory. *Learn Mem* 13:451-457.
- Freeman FM, Rose SP, Scholey AB (1995) Two time windows of anisomycin-induced amnesia for passive avoidance training in the day-old chick. *Neurobiol Learn Mem* 63:291-295.
- Frenkel L, Maldonado H, Delorenzi A (2005) Memory strengthening by a real-life episode during reconsolidation: an outcome of water deprivation via brain angiotensin II. *Eur J Neurosci* 22:1757-1766.
- Freud S (1901) *Psychopathologie de la vie quotidienne. Application de la psychanalyse à l'interprétation des actes de la vie quotidienne.*
- Freudenthal R, Romano A (2000) Participation of Rel/NF-kappaB transcription factors in long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *Brain Res* 855:274-281.
- Freudenthal R, Boccia MM, Acosta GB, Blake MG, Merlo E, Baratti CM, Romano A (2005) NF-kappaB transcription factor is required for inhibitory avoidance long-term memory in mice. *Eur J Neurosci* 21:2845-2852.

- G -

- Gainutdinova TH, Tagirova RR, Ismailova AI, Muranova LN, Samarova EI, Gainutdinov KL, Balaban PM (2005) Reconsolidation of a context long-term memory in the terrestrial snail requires protein synthesis. *Learn Mem* 12:620-625.

- Bibliographie -

- Galea LA, Ossenkopp KP, Kavaliers M (1994) Developmental changes in spatial learning in the Morris water-maze in young meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Behav Brain Res* 60:43-50.
- Galef BG, Henderson PW (1972) Mother's milk: a determinant of the feeding preferences of weaning rat pups. *J Comp Physiol Psychol* 78:213-219.
- Galluccio L, Rovee-Collier C (2005) Updating reactivated memories in infancy: II. Time passage and repetition effects. *Dev Psychobiol* 47:18-30.
- Garcia J, Koelling RA (1967) A comparison of aversions induced by x-rays, toxins, and drugs in the rat. *Radiat Res Suppl* 7:439-450.
- Garcia J, Ervin F, Koelling RA (1966) Learning with prolonged delay of reinforcement. *Psychon Sci* 5:121-122.
- Garcia J, Lasiter PS, Bermudez-Rattoni F, Deems DA (1985) A general theory of aversion learning. *Ann N Y Acad Sci* 443:8-21.
- Garcia-DeLaTorre P, Rodriguez-Ortiz CJ, Arreguin-Martinez JL, Cruz-Castaneda P, Bermudez-Rattoni F (2009) Simultaneous but not independent anisomycin infusions in insular cortex and amygdala hinder stabilization of taste memory when updated. *Learn Mem* 16:514-519.
- Gemberling GA (1984) Ingestion of a novel flavor before exposure to pups injected with lithium chloride produces a taste aversion in mother rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 98:285-301.
- Gemberling GA, Domjan M (1982) Selective associations in one-day-old rats: taste-toxicosis and texture-shock aversion learning. *J Comp Physiol Psychol* 96:105-113.
- Gemberling GA, Domjan M, Amsel A (1980) Aversion learning in 5-day-old rats: taste-toxicosis and texture-shock associations. *J Comp Physiol Psychol* 94:734-745.
- Gerard RW (1949) Physiology and psychiatry. *Am J Psychiatry* 106:161-173.
- Gibson EJ (1983) Principles of perceptual learning and development. New-York: Appleton-Century-Crofts.
- Gisquet-Verrier P, Dekeyne A, Alexinsky T (1989) Differential effects of several retrieval cues over time: Evidence for time-dependent reorganization of memory. *Animal Learning & Behavior* 17:394-408.
- Gold PE (2008) Protein synthesis inhibition and memory: formation vs amnesia. *Neurobiol Learn Mem* 89:201-211.
- Gold PE, King RA (1972) Amnesia: tests of the effect of delayed footshock-electroconvulsive shock pairings. *Physiol Behav* 8:797-800.
- Gold PE, Murphy JM, Cooley S (1982) Neuroendocrine modulation of memory during development. *Behav Neural Biol* 35:277-293.
- Gordon WC (1977) Susceptibility of a reactivated memory to the effects of strychnine: a time-dependent phenomenon. *Physiol Behav* 18:95-99.

- Bibliographie -

- Gordon WC (1981) Mechanisms of cue-induced retention enhancement. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Gordon WC, Spear NE (1973) The effects of strychnine on recently acquired and reactivated passive avoidance memories. *Physiol Behav* 10:1071-1075.
- Grecksch G, Matthies H (1980) Two sensitive periods for the amnesic effect of anisomycin. *Pharmacol Biochem Behav* 12:663-665.
- Greer CA, Stewart WB, Teicher MH, Shepherd GM (1982) Functional development of the olfactory bulb and a unique glomerular complex in the neonatal rat. *J Neurosci* 2:1744-1759.
- Gregg B, Kittrell EM, Domjan M, Amsel A (1978) Ingestional aversion learning in preweanling rats. *J Comp Physiol Psychol* 92:785-795.
- Gruest N, Richer P, Hars B (2004a) Emergence of long-term memory for conditioned aversion in the rat fetus. *Dev Psychobiol* 44:189-198.
- Gruest N, Richer P, Hars B (2004b) Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J Neurosci* 24:10488-10492.
- Guanowsky V, Misanin JR, Riccio DC (1983) Retention of conditioned taste aversion in weanling, adult, and old-age rats. *Behav Neural Biol* 37:173-178.
- Guenaire C, Costa JC, Delacour J (1982) [Operant conditioning with thermal reinforcement in the newborn rat]. *Physiol Behav* 29:419-424.

- H -

- Hall J, Thomas KL, Everitt BJ (2001a) Fear memory retrieval induces CREB phosphorylation and Fos expression within the amygdala. *Eur J Neurosci* 13:1453-1458.
- Hall J, Thomas KL, Everitt BJ (2001b) Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. *J Neurosci* 21:2186-2193.
- Hall WG (1987) Early motivation, reward, learning, and their neural bases: Developmental revelations and simplifications. In: *Perinatal development: a psychobiological perspective*. (In: Krasnegor NB, EM.; Hofer, MA.; Smotherman, WP., Ed, ed), pp 169-193. Academic Press; New York.
- Hardt O, Wang SH, Nader K (2009) Storage or retrieval deficit: the yin and yang of amnesia. *Learn Mem* 16:224-230.
- Harley CW, Darby-King A, McCann J, McLean JH (2006) Beta1-adrenoceptor or alpha1-adrenoceptor activation initiates early odor preference learning in rat pups: support for the mitral cell/cAMP model of odor preference learning. *Learn Mem* 13:8-13.

- Harlow HF, Harlow MK, Suomi SJ (1971) From thought to therapy: lessons from a primate laboratory. *Am Sci* 59:538-549.
- Haroutunian V, Riccio DC (1977) Effect of arousal conditions during reinstatement treatment upon learned fear in young rats. *Dev Psychobiol* 10:25-32.
- Haroutunian V, Riccio DC (1979) Drug-induced "arousal" and the effectiveness of CS exposure in the reinstatement of memory. *Behav Neural Biol* 26:115-120.
- Haroutunian V, Campbell BA (1979) Emergence of interoceptive and exteroceptive control of behavior in rats. *Science* 205:927-929.
- Hartshorn K (2003) Reinstatement maintains a memory in human infants for 1(1/2) years. *Dev Psychobiol* 42:269-282.
- Hayes KJ (1953) Anoxic and convulsive amnesia in rats. *J Comp Physiol Psychol* 46:216-217.
- Hayne H, & Rovee-Collier, C. (1995) The organization of reactivated memory in infancy. *Child Development* 66:893-906.
- Hazzalin CA, Cuenda A, Cano E, Cohen P, Mahadevan LC (1997) Effects of the inhibition of p38/RK MAP kinase on induction of five fos and jun genes by diverse stimuli. *Oncogene* 15:2321-2331.
- Hebb DO (1949) *The organization of behavior*. Wiley, New York.
- Hebert MA, Serova LI, Sabban EL (2005) Single and repeated immobilization stress differentially trigger induction and phosphorylation of several transcription factors and mitogen-activated protein kinases in the rat locus coeruleus. *J Neurochem* 95:484-498.
- Hennevin E, Hars B, Maho C, Bloch V (1995) Processing of learned information in paradoxical sleep: relevance for memory. *Behav Brain Res* 69:125-135.
- Hepper PG (1986) Kin recognition: functions and mechanisms. A review. *Biol Rev Camb Philos Soc* 61:63-93.
- Hernandez PJ, Kelley AE (2004) Long-term memory for instrumental responses does not undergo protein synthesis-dependent reconsolidation upon retrieval. *Learn Mem* 11:748-754.
- Hildreth K, Rovee-Collier C (2002) Forgetting functions of reactivated memories over the first year of life. *Dev Psychobiol* 41:277-288.
- Hildreth K, Sweeney B, Rovee-Collier C (2003) Differential memory-preserving effects of reminders at 6 months. *J Exp Child Psychol* 84:41-62.
- Hinderliter CF, Misanin JR (1988) Weanling and senescent rats process simultaneously presented odor and taste differently than young adults. *Behav Neural Biol* 49:112-117.
- Hinderliter CF, Webster T, Riccio DC (1975) Amnesia induced by hypothermia as a function of treatment-test interval and recooling in rats. *Anim Learn Behav* 3:257-263.
- Hoffmann H, Hunt P, Spear NE (1990) Ontogenetic differences in the association of gustatory and tactile cues with lithium chloride and footshock. *Behav Neural Biol* 53:441-450.

- Bibliographie -

- Hoffmann H, Molina JC, Kucharski D, Spear NE (1987) Further examination of ontogenetic limitations on conditioned taste aversion. *Dev Psychobiol* 20:455-463.
- Haupt TA, Berlin R (1999) Rapid, labile, and protein synthesis-independent short-term memory in conditioned taste aversion. *Learn Mem* 6:37-46.
- Haupt TA, Philopena JM, Joh TH, Smith GP (1996) c-Fos induction in the rat nucleus of the solitary tract correlates with the retention and forgetting of a conditioned taste aversion. *Learn Mem* 3:25-30.
- Hoving KL, Coates L, Bertucci M, Riccio DC (1972) Reinstatement effects in children. *Developmental Psychology* 6:426-429.
- Howe ML, Courage ML (1993) On resolving the enigma of infantile amnesia. *Psychological Bulletin* 113:305-326.
- Hsu VC, Rovee-Collier C (2006) Memory reactivation in the second year of life. *Infant Behav Dev* 29:91-107.
- Hsu VC, Rovee-Collier C, Hill DL, Grodkiewicz J, Joh AS (2005) Effects of priming duration on retention over the first 1 1/2 years of life. *Dev Psychobiol* 47:43-54.
- Hudson R, Labra-Cardero D, Mendoza-Soylovna A (2002) Sucking, not milk, is important for the rapid learning of nipple-search odors in newborn rabbits. *Dev Psychobiol* 41:226-235.
- Hupbach A, Gomez R, Hardt O, Nadel L (2007) Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information. *Learn Mem* 14:47-53.
- Hupbach A, Hardt O, Gomez R, Nadel L (2008) The dynamics of memory: context-dependent updating. *Learn Mem* 15:574-579.

- | -

- Impey S, Obrietan K, Storm DR (1999) Making new connections: role of ERK/MAP kinase signaling in neuronal plasticity. *Neuron* 23:11-14.
- Impey S, Smith DM, Obrietan K, Donahue R, Wade C, Storm DR (1998) Stimulation of cAMP response element (CRE)-mediated transcription during contextual learning. *Nat Neurosci* 1:595-601.
- Inda MC, Delgado-Garcia JM, Carrion AM (2005) Acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of eyelid conditioning responses require de novo protein synthesis. *J Neurosci* 25:2070-2080.
- Ingram DK, Peacock LJ (1980) Conditioned taste aversion as a function of age in mature male rats. *Exp Aging Res* 6:113-123.
- Iordanov MS, Magun BE (1998) Loss of cellular K⁺ mimics ribotoxic stress. Inhibition of protein synthesis and activation of the stress kinases SEK1/MKK4, stress-activated protein kinase/c-Jun NH₂-terminal kinase 1, and p38/HOG1 by palytoxin. *J Biol Chem* 273:3528-3534.

- Bibliographie -

- Iordanov MS, Pribnow D, Magun JL, Dinh TH, Pearson JA, Chen SL, Magun BE (1997) Ribotoxic stress response: activation of the stress-activated protein kinase JNK1 by inhibitors of the peptidyl transferase reaction and by sequence-specific RNA damage to the alpha-sarcin/ricin loop in the 28S rRNA. *Mol Cell Biol* 17:3373-3381.
- Izquierdo I (1984) Endogenous state dependency: Memory depends on the relation between the neurohumoral and hormonal states present after training and at the time of testing. . In *Neurobiology of learning and memory* Ed G Lynch, JL McGaugh, and N Weinberger Guilford, New York, NY 333-350.
- Izquierdo I, McGaugh JL (1987) Retention impairment by posttraining epinephrine: role of state dependency and of endogenous opioid mechanisms. *Behav Neurosci* 101:778-781.
- Izquierdo LA, Barros DM, Vianna MR, Coitinho A, deDavid e Silva T, Choi H, Moletta B, Medina JH, Izquierdo I (2002) Molecular pharmacological dissection of short- and long-term memory. *Cell Mol Neurobiol* 22:269-287.

- J -

- Jackson J (1884) "Sur l'évolution et la dissolution du système nerveux. Première conférence". *Archives suisses de neurologie et de psychiatrie* VIII, 1921:294.
- James W (1890) *The principles of psychology*. Holt, New York.
- Joh A, Sweeney B, Rovee-Collier C (2002) Minimum duration of reactivation at 3 months of age. *Dev Psychobiol* 40:23-32.
- Johanson IB, Hall WG (1979) Appetitive learning in 1-day-old rat pups. *Science* 205:419-421.
- Johanson IB, Teicher MH (1980) Classical conditioning of an odor preference in 3-day-old rats. *Behav Neural Biol* 29:132-136.
- Johanson IB, Hall WG (1984) Ontogeny of learning: Independent ingestion as a model motivational system. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Johanson IB, Hall WG, Polefrone JM (1984) Appetitive conditioning in neonatal rats: conditioned ingestive responding to stimuli paired with oral infusions of milk. *Dev Psychobiol* 17:357-381.
- Judge ME, Quartermain D (1982) Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiol Behav* 28:585-590.

- K -

- Kamakura S, Moriguchi T, Nishida E (1999) Activation of the protein kinase ERK5/BMK1 by receptor tyrosine kinases. Identification and characterization of a signaling pathway to the nucleus. *J Biol Chem* 274:26563-26571.

- Bibliographie -

- Kehoe P, Blass EM (1986a) Conditioned aversions and their memories in 5-day-old rats during suckling. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 12:40-47.
- Kehoe P, Blass EM (1986b) Behaviorally functional opioid systems in infant rats: II. Evidence for pharmacological, physiological, and psychological mediation of pain and stress. *Behav Neurosci* 100:624-630.
- Kehoe P, Blass EM (1989) Conditioned opioid release in ten-day-old rats. *Behav Neurosci* 103:423-428.
- Kelleher RJ, 3rd, Govindarajan A, Jung HY, Kang H, Tonegawa S (2004) Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory. *Cell* 116:467-479.
- Kelly A, Laroche S, Davis S (2003) Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory. *J Neurosci* 23:5354-5360.
- Kemenes G, Kemenes I, Michel M, Papp A, Muller U (2006) Phase-dependent molecular requirements for memory reconsolidation: differential roles for protein synthesis and protein kinase A activity. *J Neurosci* 26:6298-6302.
- Kenny JT, Blass EM (1977) Suckling as incentive to instrumental learning in preweanling rats. *Science* 196:898-899.
- Kesner RP, Doty RW (1968) Amnesia produced in cats by local seizure activity initiated from the amygdala. *Exp Neurol* 21:58-68.
- Kida S, Josselyn SA, de Ortiz SP, Kogan JH, Chevere I, Masushige S, Silva AJ (2002) CREB required for the stability of new and reactivated fear memories. *Nat Neurosci* 5:348-355.
- Kihlstrom JF, Harackiewicz JM (1982). New York: Simon & Schuster.
- Kim JH, McNally GP, Richardson R (2006) Recovery of fear memories in rats: role of gamma-amino butyric acid (GABA) in infantile amnesia. *Behav Neurosci* 120:40-48.
- Kindermann U, Gervais R, Hudson R (1991) Rapid odor conditioning in newborn rabbits: amnesic effect of hypothermia. *Physiol Behav* 50:457-460.
- Kirby RH (1963) Acquisition, extinction, and retention of an avoidance response in rats as a function of age. *J Comp Physiol Psychol* 56:158-162.
- Klein SB, Mikulka PJ, Domato GC, Halstead c (1977) Retention of internal experiences in juvenile and young rats. *Physiol Psychol* 5:63-66.
- Koh MT, Bernstein IL (2003) Inhibition of protein kinase A activity during conditioned taste aversion retrieval: interference with extinction or reconsolidation of a memory? *Neuroreport* 14:405-407.
- Koh MT, Thiele TE, Bernstein IL (2002) Inhibition of protein kinase A activity interferes with long-term, but not short-term, memory of conditioned taste aversions. *Behav Neurosci* 116:1070-1074.

- Bibliographie -

- Konishi Y, Sato H, Tanaka T (2004) Anisomycin superinduces annexin V mRNA expression through the ERK1/2 but not the p38 MAP kinase pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 313:977-983.
- Korzus E, Rosenfeld MG, Mayford M (2004) CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron* 42:961-972.
- Kraemer PJ, Hoffmann H, Spear NE (1988) Attenuation of the CS-preexposure effect after retention interval in preweanling rats. *Animal Learning & Behavior* 16:185-190.
- Kraus M, Schicknick H, Wetzel W, Ohl F, Staak S, Tischmeyer W (2002) Memory consolidation for the discrimination of frequency-modulated tones in mongolian gerbils is sensitive to protein-synthesis inhibitors applied to the auditory cortex. *Learn Mem* 9:293-303.
- Kucharski D, Spear NE (1984) Conditioning of aversion to an odor paired with peripheral shock in the developing rat. *Dev Psychobiol* 17:465-479.

- L -

- Lagasse F, Devaud JM, Mery F (2009) A switch from cycloheximide-resistant consolidated memory to cycloheximide-sensitive reconsolidation and extinction in *Drosophila*. *J Neurosci* 29:2225-2230.
- Lamprecht R, Dudai Y (1996) Transient expression of c-Fos in rat amygdala during training is required for encoding conditioned taste aversion memory. *Learn Mem* 3:31-41.
- Lamprecht R, Hazvi S, Dudai Y (1997) cAMP response element-binding protein in the amygdala is required for long- but not short-term conditioned taste aversion memory. *J Neurosci* 17:8443-8450.
- Land CL, Riccio DC (1997) D-Cycloserine, a positive modulator of the NMDA receptor, enhances acquisition of a conditioned taste aversion. *Psychobiology* 25:210-216.
- Langdon PE, Harley CW, McLean JH (1997) Increased beta adrenoceptor activation overcomes conditioned olfactory learning deficits induced by serotonin depletion. *Brain Res Dev Brain Res* 102:291-293.
- Languille S, Davis S, Richer P, Alcacer C, Laroche S, Hars B (2009) ERK activation is required for consolidation and reconsolidation of memory at an early stage of ontogenesis. *Eur J Neurosci (sous presse)*.
- Languille S, Gruet N, Richer P, Hars B (2008) The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during postnatal development. *Learn Mem* 15:434-442.
- Languille S, Richer P, Hars B (2009) Approach memory turns to avoidance memory with age. *Behav Brain Res* 202:278-284.
- Languille S, Richer P, Hars B (2009) Abrupt emergence of long-lasting memory in the preweanling rat. *Behav Brain Res (sous presse)*.

- Lasiter PS (1992) Postnatal development of gustatory recipient zones within the nucleus of the solitary tract. *Brain Res Bull* 28:667-677.
- Lattal KM, Abel T (2004) Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:4667-4672.
- Le Magnen J, Tallon S (1968) Préférence alimentaire de jeune rat induite par l'allaitement maternel. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie* 162:387-390.
- Lecanuet JP, Schaal B (1996) Fetal sensory competencies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 68:1-23.
- LeDoux J (1996) In: *The emotional brain: The mysterious underpinnings of emotional life*. New York: Simon & Schuster.
- LeDoux JE (2000) Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 23:155-184.
- Lee JL, Everitt BJ (2008) Appetitive memory reconsolidation depends upon NMDA receptor-mediated neurotransmission. *Neurobiol Learn Mem* 90:147-154.
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL (2004) Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304:839-843.
- Lee JL, Milton AL, Everitt BJ (2006) Reconsolidation and extinction of conditioned fear: inhibition and potentiation. *J Neurosci* 26:10051-10056.
- Lee JL, Di Ciano P, Thomas KL, Everitt BJ (2005) Disrupting reconsolidation of drug memories reduces cocaine-seeking behavior. *Neuron* 47:795-801.
- Leon M, Coopersmith R, Ulibarri C, Porter RH, Powers JB (1984) Development of olfactory bulb organization in precocial and altricial rodents. *Brain Res* 314:45-53.
- Leukel F (1957) A comparison of the effects of ECS and anesthesia on acquisition of the maze habit. *J Comp Physiol Psychol* 50:300-306.
- Levenson JM, O'Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL, Sweatt JD (2004) Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *J Biol Chem* 279:40545-40559.
- Levenson JM, Roth TL, Lubin FD, Miller CA, Huang IC, Desai P, Malone LM, Sweatt JD (2006) Evidence that DNA (cytosine-5) methyltransferase regulates synaptic plasticity in the hippocampus. *J Biol Chem* 281:15763-15773.
- Levine S (1962) Plasma-free corticosteroid response to electric shock in rats stimulated in infancy. *Science* 135:795-796.
- Levine S (2001) Primary social relationships influence the development of the hypothalamic--pituitary--adrenal axis in the rat. *Physiol Behav* 73:255-260.
- Lewis DJ (1969) Sources of experimental amnesia. *Psychol Rev* 76:461-472.
- Lewis DJ (1979) Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol Bull* 86:1054-1083.
- Lewis DJ, Bregman NJ, Mahan JJ, Jr. (1972) Cue-dependent amnesia in rats. *J Comp Physiol Psychol* 81:243-247.

- Bibliographie -

- Lima RH, Rossato JI, Furini CR, Bevilacqua LR, Izquierdo I, Cammarota M (2009) Infusion of protein synthesis inhibitors in the entorhinal cortex blocks consolidation but not reconsolidation of object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem* 91:466-472.
- Litaudon P, Mouly AM, Sullivan R, Gervais R, Cattarelli M (1997) Learning-induced changes in rat piriform cortex activity mapped using multisite recording with voltage sensitive dye. *Eur J Neurosci* 9:1593-1602.
- Litvin OO, Anokhin KV (2000) Mechanisms of memory reorganization during retrieval of acquired behavioral experience in chicks: the effects of protein synthesis inhibition in the brain. *Neurosci Behav Physiol* 30:671-678.
- Liu L, Cavanaugh JE, Wang Y, Sakagami H, Mao Z, Xia Z (2003) ERK5 activation of MEF2-mediated gene expression plays a critical role in BDNF-promoted survival of developing but not mature cortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:8532-8537.
- Loftus EF, Ketcham K (1994) In: *The myth of repressed memory: False memories and allegations of sexual abuse.* (Press. NYSMs, ed).
- Lopez-Mascaraque L, Price JL (1997) Protein synthesis inhibitors delay transneuronal death in the piriform cortex of young adult rats. *Neuroscience* 79:463-475.
- Lukowiak K, Fras M, Smyth K, Wong C, Hittel K (2007) Reconsolidation and memory infidelity in *Lymnaea*. *Neurobiol Learn Mem* 29:29.
- Luscher C, Xia H, Beattie EC, Carroll RC, von Zastrow M, Malenka RC, Nicoll RA (1999) Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity. *Neuron* 24:649-658.

- M -

- Mactutus CF, Riccio DC, Ferek JM (1979) Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science* 204:1319-1320.
- Mactutus CF, Smith RL, Riccio DC (1980) Extending the duration of ACTH-induced memory reactivation in an amnesic paradigm. *Physiol Behav* 24:541-546.
- Mainardi D, Marsan M, Pasquali A (1965) Causation of sexual preferences in the house mouse. The behavior of mice reared by parents whose odor was artificially altered. *Atti Soc Ital Sci Nat* 104:325-338.
- Mair RG, Gesteland RC (1982) Response properties of mitral cells in the olfactory bulb of the neonatal rat. *Neuroscience* 7:3117-3125.
- Mamiya N, Fukushima H, Suzuki A, Matsuyama Z, Homma S, Frankland PW, Kida S (2009) Brain region-specific gene expression activation required for reconsolidation and extinction of contextual fear memory. *J Neurosci* 29:402-413.
- Maquet P (2001) The role of sleep in learning and memory. *Science* 294:1048-1052.
- Maren S (2003) The amygdala, synaptic plasticity, and fear memory. *Ann N Y Acad Sci* 985:106-113.

- Marlin NA (1981) Contextual associations in trace conditioning. *Anim Learn Behav* 9:519-523.
- Maroun M, Akirav I (2009) Differential involvement of dopamine D1 receptor and MEK signaling pathway in the ventromedial prefrontal cortex in consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Learn Mem* 16:243-247.
- Marr JN, Gardner LE (1965) Early olfactory experience and later social behavior in the rat: preference, sexual responsiveness, and care of young. *J Genet Psychol* 107:167-174.
- Marshall KC, Christie MJ, Finlayson PG, Williams JT (1991) Developmental aspects of the locus coeruleus-noradrenaline system. *Prog Brain Res* 88:173-185.
- Marshall L, Born J (2007) The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation. *Trends Cogn Sci* 11:442-450.
- Martin GM, Timmins WK (1980) Taste-sickness associations in young rats over varying delays, stimulus, and test conditions. *Anim Learn Behav* 8:529-533.
- Martin LT, Alberts JR (1979) Taste aversions to mother's milk: the age-related role of nursing in acquisition and expression of a learned association. *J Comp Physiol Psychol* 93:430-445.
- Matsuzawa T, Hasegawa Y, Gotoh S, Wada K (1983) One-trial long-lasting food-aversion learning in wild Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Behav Neural Biol* 39:155-159.
- McGaugh JL (1966) Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153:1351-1358.
- McGaugh JL (1983) Hormonal influences on memory. *Annu Rev Psychol* 34:297-323.
- McGaugh JL (1989) Dissociating learning and performance: drug and hormone enhancement of memory storage. *Brain Res Bull* 23:339-345.
- McGaugh JL (2000) Memory--a century of consolidation. *Science* 287:248-251.
- McGaugh JL, Petrinovich LF (1969) The effect of strychnine sulphate on maze learning. *Am J Psychiat* 72:99-102.
- McGaugh JL, Landfield PW (1970) Delayed development of amnesia following electroconvulsive shock. *Physiol Behav* 5:1109-1113.
- McGaugh JL, Introini-Collison IB, Cahill LF, Castellano C, Dalmaz C, Parent MB, Williams CL (1993) Neuromodulatory systems and memory storage: role of the amygdala. *Behav Brain Res* 58:81-90.
- McKee RD, Squire LR (1993) On the development of declarative memory. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition* 19:397-404.
- McKinzie DL, Spear NE (1995) Ontogenetic differences in conditioning to context and CS as a function of context saliency and CS-US interval. *Anim Learn Behav* 23:304-313.
- McLean JH, Shipley MT (1987) Serotonergic afferents to the rat olfactory bulb: II. Changes in fiber distribution during development. *J Neurosci* 7:3029-3039.
- McLean JH, Shipley MT (1991) Postnatal development of the noradrenergic projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *J Comp Neurol* 304:467-477.

- McLean JH, Darby-King A, Harley CW (2005) Potentiation and prolongation of long-term odor memory in neonate rats using a phosphodiesterase inhibitor. *Neuroscience* 135:329-334.
- McLean JH, Harley CW, Darby-King A, Yuan Q (1999) pCREB in the neonate rat olfactory bulb is selectively and transiently increased by odor preference-conditioned training. *Learn Mem* 6:608-618.
- Mellon RC, Kraemer PJ, Spear NE (1991) Development of intersensory function: age-related differences in stimulus selection of multimodal compounds in rats as revealed by Pavlovian conditioning. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 17:448-464.
- Menzel R, Manz G, Greggers U (2001) Massed and spaced learning in honeybees: the role of CS, US, the intertrial interval, and the test interval. *Learn Mem* 8:198-208.
- Merlo E, Freudenthal R, Romano A (2002) The IkappaB kinase inhibitor sulfasalazine impairs long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *Neuroscience* 112:161-172.
- Merlo E, Freudenthal R, Maldonado H, Romano A (2005) Activation of the transcription factor NF-kappaB by retrieval is required for long-term memory reconsolidation. *Learn Mem* 12:23-29.
- Mery F, Belay AT, So AK, Sokolowski MB, Kawecki TJ (2007) Natural polymorphism affecting learning and memory in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:13051-13055.
- Mickley GA, Schaldach MA, Snyder KJ, Balogh SA, Len T, Neimanis K, Goulis P, Hug J, Sauchak K, Remmers-Roeber DR, Walker C, Yamamoto BK (1998) Ketamine blocks a conditioned taste aversion (CTA) in neonatal rats. *Physiol Behav* 64:381-390.
- Milekic MH, Alberini CM (2002) Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 36:521-525.
- Milekic MH, Pollonini G, Alberini CM (2007) Temporal requirement of C/EBPbeta in the amygdala following reactivation but not acquisition of inhibitory avoidance. *Learn Mem* 14:504-511.
- Milekic MH, Brown SD, Castellini C, Alberini CM (2006) Persistent disruption of an established morphine conditioned place preference. *J Neurosci* 26:3010-3020.
- Miller CA, Marshall JF (2005) Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. *Neuron* 47:873-884.
- Miller CA, Sweatt JD (2006) Amnesia or retrieval deficit? Implications of a molecular approach to the question of reconsolidation. *Learn Mem* 13:498-505.
- Miller JS, Spear NE (1989) Ontogenetic differences in short-term retention of Pavlovian conditioning. *Dev Psychobiol* 22:377-387.
- Miller JS, Jagielo JA, Spear NE (1989) Age-related differences in short-term retention of separable elements of an odor aversion. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 15:194-201.
- Miller JS, Molina JC, Spear NE (1990) Ontogenetic differences in the expression of odor-aversion learning in 4- and 8-day-old rats. *Dev Psychobiol* 23:319-330.

- Bibliographie -

- Miller JS, Jagielo JA, Spear NE (1991) Differential effectiveness of various prior-cuing treatments in the reactivation and maintenance of memory. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 17:249-258.
- Miller RR, Springer AD (1972) Induced recovery of memory in rats following electroconvulsive shock. *Physiol Behav* 8:645-651.
- Miller RR, Matzel LD (2000) Memory involves far more than 'consolidation'. *Nat Rev Neurosci* 1:214-216.
- Miller RR, Matzel LD (2006) Retrieval failure versus memory loss in experimental amnesia: definitions and processes. *Learn Mem* 13:491-497.
- Millin PM, Moody EW, Riccio DC (2001) Interpretations of retrograde amnesia: old problems redux. *Nat Rev Neurosci* 2:68-70.
- Milton AL, Lee JL, Everitt BJ (2008) Reconsolidation of appetitive memories for both natural and drug reinforcement is dependent on β -adrenergic receptors. *Learn Mem* 15:88-92.
- Misanin JR, Miller RR, Lewis DJ (1968) Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* 160:554-555.
- Mistretta CM (1991) Developmental neurobiology of the taste system: T.V. Getchell. New York, Raven Press : 35-64.
- Mizukawa K, Tseng IM, Otsuka N (1989) Quantitative electron microscopic analysis of postnatal development of zinc-positive nerve endings in the rat amygdala using Timm's sulphide silver technique. *Brain Res Dev Brain Res* 50:197-203.
- Molina JC, Serwatka J, Spear LP, Spear NE (1985) Differential ethanol olfactory experiences affect ethanol ingestion in preweanlings but not in older rats. *Behav Neural Biol* 44:90-100.
- Molina JC, Bannoura MD, Chotro MG, McKinzie DL, Arnold HM, Spear NE (1996) Alcohol-mediated tactile conditioned aversions in infant rats: devaluation of conditioning through alcohol-sucrose associations. *Neurobiol Learn Mem* 66:121-132.
- Moran TH, Lew MF, Blass EM (1981) Intracranial self-stimulation in 3-day-old rat pups. *Science* 214:1366-1368.
- Moriceau S, Sullivan RM (2004a) Corticosterone influences on Mammalian neonatal sensitive-period learning. *Behav Neurosci* 118:274-281.
- Moriceau S, Sullivan RM (2004b) Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. *J Neurosci* 24:1182-1189.
- Moriceau S, Sullivan RM (2006) Maternal presence serves as a switch between learning fear and attraction in infancy. *Nat Neurosci* 9:1004-1006.
- Moriceau S, Roth TL, Okotoghaide T, Sullivan RM (2004) Corticosterone controls the developmental emergence of fear and amygdala function to predator odors in infant rat pups. *Int J Dev Neurosci* 22:415-422.

- Bibliographie -

- Moriceau S, Wilson DA, Levine S, Sullivan RM (2006) Dual circuitry for odor-shock conditioning during infancy: corticosterone switches between fear and attraction via amygdala. *J Neurosci* 26:6737-6748.
- Morris RG, Inglis J, Ainge JA, Olverman HJ, Tulloch J, Dudai Y, Kelly PA (2006) Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* 50:479-489.
- Mouly AM, Fort A, Ben-Boutayab N, Gervais R (2001) Olfactory learning induces differential long-lasting changes in rat central olfactory pathways. *Neuroscience* 102:11-21.
- Moye TB, Rudy JW (1985) Ontogenesis of learning: VI. Learned and unlearned responses to visual stimulation in the infant hooded rat. *Dev Psychobiol* 18:395-409.
- Müller G, Pilzecker A (1900) Experimentelle beitrage zur lehre von gedachtnis. *Zeitschrift für Psychologie*:1-300.
- Myslivecek J (1997) Inhibitory learning and memory in newborn rats. *Prog Neurobiol* 53:399-430.

- N -

- Nachman M (1970) Learned taste and temperature aversions due to lithium chloride sickness after temporal delays. *J Comp Physiol Psychol* 73:22-30.
- Nadel L, Zola-Morgan S (1984) *Infantile amnesia: A neurobiological perspective*. New York: Plenum.
- Nader K (2003) Memory traces unbound. *Trends Neurosci* 26:65-72.
- Nader K, Wang SH (2006) Fading in. *Learn Mem* 13:530-535.
- Nader K, Hardt O (2009) A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 10:224-234.
- Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722-726.
- Nagy ZM (1979) *Development of learning and memory processes in infant mice*. Hillsdale, N.J. Erlbaum.
- Nagy ZM, Misanin JR, Newman JA, Olsen PL, Hinderliter CF (1972) Ontogeny of memory in the neonatal mouse. *J Comp Physiol Psychol* 81:380-393.
- Nakamura S, Sakaguchi T (1990) Development and plasticity of the locus coeruleus: a review of recent physiological and pharmacological experimentation. *Prog Neurobiol* 34:505-526.
- Neisser U (1962) *Cultural and cognitive discontinuity*. Washington, DC: Anthropological Society of Washington.
- Nelson K (1993) The psychological and social origins of autobiographical memory. *Psychological Science* 4:7-14.

- Bibliographie -

- Nizhnikov ME, Petrov ES, Spear NE (2002) Olfactory aversive conditioning in the newborn (3-hr-old) rat impairs later suckling for water and milk. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 28:277-283.
- Nizhnikov ME, Varlinskaya EI, Spear NE (2006) Reinforcing effects of central ethanol injections in newborn rat pups. *Alcohol Clin Exp Res* 30:2089-2096.
- Noiro E (1968) Ultrasounds in young rodents. II. Changes with age in albino rats. *Anim Behav* 16:129-134.
- Noiro E (1972) Ultrasounds and maternal behavior in small rodents. *Dev Psychobiol* 5:371-387.
- Nunnink M, Davenport RA, Ortega B, Houpt TA (2007) D-Cycloserine enhances conditioned taste aversion learning in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 87:321-330.

- O -

- Odling-Smee FJ (1975) The role of background stimuli during Pavlovian conditioning. *Q J Exp Psychol* 27:201-209.
- Ogawa H, Ohgushi M, Hasegawa K, Murayama N (1991) Differential development of cortical taste areas in granular and dysgranular insular cortices in rats. *Brain Res Dev Brain Res* 60:271-274.
- Ornstein PA, Baker-Ward L, Gordon BN, Merritt KA (1997) Children's memory for medical experiences: Implications for testimony. *Applied Cognitive Psychology* 11:87-104.
- Otto T, Cousens G, Rajewski K (1997) Odor-guided fear conditioning in rats: 1. Acquisition, retention, and latent inhibition. *Behav Neurosci* 111:1257-1264.
- Otto T, Cousens G, Herzog C (2000) Behavioral and neuropsychological foundations of olfactory fear conditioning. *Behav Brain Res* 110:119-128.
- Overton DA (1974) Experimental methods for the study of state-dependent learning. *Fed Proc* 33:1800-1813.

- P -

- Parsons PJ, Spear NE (1972) Long-term retention of avoidance learning by immature and adult rats as a function of environmental enrichment. *J Comp Physiol Psychol* 80:297-303.
- Parsons RG, Gafford GM, Baruch DE, Riedner BA, Helmstetter FJ (2006) Long-term stability of fear memory depends on the synthesis of protein but not mRNA in the amygdala. *Eur J Neurosci* 23:1853-1859.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC (2006) Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 313:1141-1144.

- Pearlman CA, Sharpless SK, Jarvik ME (1961) Retrograde amnesia produced by anesthetic and convulsant agents. *J Comp Physiol Psychol* 54:109-112.
- Pedersen PE, Williams CL, Blass EM (1982) Activation and odor conditioning of suckling behavior in 3-day-old albino rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 8:329-341.
- Pedreira ME, Maldonado H (2003) Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron* 38:863-869.
- Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H (2002) Reactivation and reconsolidation of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*: protein synthesis requirement and mediation by NMDA-type glutamatergic receptors. *J Neurosci* 22:8305-8311.
- Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H (2004) Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learn Mem* 11:579-585.
- Peng JY, Li BM (2009) Protein synthesis is essential not only for consolidation but also for maintenance and post-retrieval reconsolidation of acrobatic motor skill in rats. *Mol Brain* 2:12.
- Perner J, Ruffman T (1995) Episodic memory and autonoetic consciousness: Developmental evidence and a theory of childhood amnesia. *Journal of Experimental Child Psychology* 59:516-548.
- Perrin G, Ferreira G, Meurisse M, Verdin S, Mouly AM, Levy F (2007) Social recognition memory requires protein synthesis after reactivation. *Behav Neurosci* 121:148-155.
- Pestka S (1971) Inhibitors of ribosome functions. *Annu Rev Microbiol* 25:487-562.
- Petrov ES, Varlinskaya EI, Smotherman WP (1997) The newborn rat ingests fluids through a surrogate nipple: a new technique for the study of early suckling behavior. *Physiol Behav* 62:1155-1158.
- Petrov ES, Varlinskaya EI, Smotherman WP (2000) Classical conditioning of responses to an artificial nipple in the rat fetus: mu and kappa opioid systems. *Dev Psychobiol* 37:59-72.
- Pillemer DB, White SH (1989) Childhood events recalled by children and adults. Orlando: Academic Press.
- Pillemer DB, Picariello ML, Pruetz JC (1994) Very long-term memories of a salient preschool event. *Applied Cognitive Psychology* 8:95-106.
- Power AE, Berlau DJ, McGaugh JL, Steward O (2006) Anisomycin infused into the hippocampus fails to block "reconsolidation" but impairs extinction: the role of re-exposure duration. *Learn Mem* 13:27-34.
- Przybylski J, Sara SJ (1997) Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behav Brain Res* 84:241-246.
- Przybylski J, Roulet P, Sara SJ (1999) Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *J Neurosci* 19:6623-6628.

- Bibliographie -

Pujol R, Hilding D (1973) Anatomy and physiology of the onset of auditory function. *Acta Otolaryngol* 76:1-10.

- Q -

Quartermain D, McEwen BS, Azmitia EC, Jr. (1970) Amnesia produced by electroconvulsive shock or cycloheximide: conditions for recovery. *Science* 169:683-686.

Quartermain D, Judge ME, Jung H (1988) Amphetamine enhances retrieval following diverse sources of forgetting. *Physiol Behav* 43:239-241.

Quartermain D, Mower J, Rafferty MF, Herting RL, Lanthorn TH (1994) Acute but not chronic activation of the NMDA-coupled glycine receptor with D-cycloserine facilitates learning and retention. *Eur J Pharmacol* 257:7-12.

- R -

Rabe A, Gerard RW (1959) The influence of drugs on memory fixation time. *Amer Psychologist* 14:423.

Radulovic J, Tronson NC (2008) Protein synthesis inhibitors, gene superinduction and memory: too little or too much protein? *Neurobiol Learn Mem* 89:212-218.

Raineki C, Shionoya K, Sander K, Sullivan RM (2009) Ontogeny of odor-LiCl vs. odor-shock learning: similar behaviors but divergent ages of functional amygdala emergence. *Learn Mem* 16:114-121.

Ramirez-Amaya V, Vazdarjanova A, Mikhael D, Rosi S, Worley PF, Barnes CA (2005) Spatial exploration-induced Arc mRNA and protein expression: evidence for selective, network-specific reactivation. *J Neurosci* 25:1761-1768.

Ranganath C, Blumenfeld RS (2005) Doubts about double dissociations between short- and long-term memory. *Trends Cogn Sci* 9:374-380.

Rangel S, Leon M (1995) Early odor preference training increases olfactory bulb norepinephrine. *Brain Res Dev Brain Res* 85:187-191.

Ransmeier RE, Gerard RW (1954) Effects of temperature, convulsion and metabolic factors on rodent memory and EEG. *Am J Physiol* 179:663-664.

Revusky S (1971) The role of interference in association over a delay. New York: Academic Press.

Revusky S, Garcia J (1970) Learned associations over long delays. *Psychology Learning and Motivation* 4:3-84.

Ribot T (1882) Diseases of memory. Appleton-Century Crofts, New York, NY.

Riccio DC, Schulenburg CJ (1969) Age-related deficits in acquisition of a passive avoidance response. *Can J Psychol* 23:429-437.

- Riccio DC, Richardson R (1984) The status of memory following experimentally-induced amnesias: Gone, but not forgotten. *Physiological Psychology* 12:59-72.
- Riccio DC, Rohrbaugh M, Hodges LA (1968a) Developmental aspects of passive and active avoidance learning in rats. *Developmental Psychobiology* 1:108-111.
- Riccio DC, Hodges LA, Randall PK (1968b) Retrograde amnesia produced by hypothermia in rats. *J Comp Physiol Psychol* 66:618-622.
- Riccio DC, Millin PM, Bogart AR (2006) Reconsolidation: a brief history, a retrieval view, and some recent issues. *Learn Mem* 13:536-544.
- Richardson R, Fan M (2002) Behavioral expression of learned fear in rats is appropriate to their age at training, not their age at testing. *Anim Learn Behav* 30:394-404.
- Richardson R, Riccio DC, Mowrey H (1982) Retrograde amnesia for previously acquired pavlovian conditioning: UCS exposure as a reactivation treatment. *Physiol Psychol* 10:384-390.
- Richardson R, Riccio DC, Jonke T (1983) Alleviation of infantile amnesia in rats by means of a pharmacological contextual state. *Dev Psychobiol* 16:511-518.
- Richardson R, Riccio DC, Axiotis R (1986) Alleviation of infantile amnesia in rats by internal and external contextual cues. *Dev Psychobiol* 19:453-462.
- Richardson R, Riccio DC, McKenney M (1988) Stimulus attributes of reactivated memory: alleviation of ontogenetic forgetting in rats is context specific. *Dev Psychobiol* 21:135-143.
- Richardson R, Paxinos G, Lee J (2000) The ontogeny of conditioned odor potentiation of startle. *Behav Neurosci* 114:1167-1173.
- Rickard NS, Poot AC, Gibbs ME, Ng KT (1994) Both non-NMDA and NMDA glutamate receptors are necessary for memory consolidation in the day-old chick. *Behav Neural Biol* 62:33-40.
- Rigter H, Janssens-Elbertse R, Van Riezen H (1976) Reversal of amnesia by an orally active ACTH 4-9 analog (Org 2766). *Pharmacol Biochem Behav* 5:53-58.
- Rodriguez-Ortiz CJ, De la Cruz V, Gutierrez R, Bermudez-Rattoni F (2005) Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained. *Learn Mem* 12:533-537.
- Rodriguez-Ortiz CJ, Garcia-DeLaTorre P, Benavidez E, Ballesteros MA, Bermudez-Rattoni F (2008) Intrahippocampal anisomycin infusions disrupt previously consolidated spatial memory only when memory is updated. *Neurobiol Learn Mem* 89:352-359.
- Roosendaal B, Nguyen BT, Power AE, McGaugh JL (1999) Basolateral amygdala noradrenergic influence enables enhancement of memory consolidation induced by hippocampal glucocorticoid receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:11642-11647.
- Roosendaal B, Hui GK, Hui IR, Berlau DJ, McGaugh JL, Weinberger NM (2006) Basolateral amygdala noradrenergic activity mediates corticosterone-induced enhancement of auditory fear conditioning. *Neurobiol Learn Mem* 86:249-255.

- Rosenblum K, Meiri N, Dudai Y (1993) Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol* 59:49-56.
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2006) Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learn Mem* 13:431-440.
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Myskiw JC, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2007) On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem* 14:36-46.
- Roth TL, Sullivan RM (2001) Endogenous opioids and their role in odor preference acquisition and consolidation following odor-shock conditioning in infant rats. *Dev Psychobiol* 39:188-198.
- Roth TL, Sullivan RM (2003) Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. *Physiol Behav* 78:135-142.
- Roth TL, Sullivan RM (2005) Memory of early maltreatment: neonatal behavioral and neural correlates of maternal maltreatment within the context of classical conditioning. *Biol Psychiatry* 57:823-831.
- Roth TL, Sullivan RM (2006) Examining the role of endogenous opioids in learned odor-stroke associations in infant rats. *Dev Psychobiol* 48:71-78.
- Roth TL, Wilson DA, Sullivan RM (2004) Neurobehavioral development of infant learning and memory: Implications for infant attachment. San Diego: Academic Press.
- Roth TL, Moriceau S, Sullivan RM (2006) Opioid modulation of Fos protein expression and olfactory circuitry plays a pivotal role in what neonates remember. *Learn Mem* 13:590-598.
- Roulet P, Sara S (1998) Consolidation of memory after its reactivation: involvement of beta noradrenergic receptors in the late phase. *Neural Plast* 6:63-68.
- Routtenberg A, Rekart JL (2005) Post-translational protein modification as the substrate for long-lasting memory. *Trends Neurosci* 28:12-19.
- Rovee-Collier C, Hayne H (1987) Reactivation of infant memory: implications for cognitive development. New York: Academic Press.
- Rovee-Collier C, Hartshorn K, DiRubbo M (1999) Long-term maintenance of infant memory. *Dev Psychobiol* 35:91-102.
- Rovee-Collier C, Cuevas K (2009) Multiple memory systems are unnecessary to account for infant memory development: an ecological model. *Dev Psychol* 45:160-174.
- Rovee-Collier CK, Sullivan MW, Enright M, Lucas D, Fagen JW (1980) Reactivation of infant memory. *Science* 208:1159-1161.
- Rubin DC (1982) On the retention function for autobiographical memory. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 21:21-38.
- Rudy JW, Cheatle MD (1977) Odor-aversion learning in neonatal rats. *Science* 198:845-846.
- Rudy JW, Cheatle MD (1979) Ontogeny of associative learning: acquisition of odor aversions by neonatal rats. Hillsdale, N.J.: Lawrence Erlbaum associates.

- Bibliographie -

- Runyan JD, Dash PK (2005) Distinct prefrontal molecular mechanisms for information storage lasting seconds versus minutes. *Learn Mem* 12:232-238.
- Russel WR, Nathan PW (1946) Traumatic amnesia. *Brain* 69:280-300.
- Rychlik L (1990) Thermal versus tactile stimuli and audible vocalization in rat pups. *J Ethol* 8:69-74.

- S -

- Sackett GP (1970) Innate mechanisms, rearing conditions, and a theory of early experience effects in primates. Coral Gables: University of Miami Press.
- Salas M, Guzman-Flores C, Schapiro S (1969) An ontogenetic study of olfactory bulb electrical activity in the rat. *Physiol Behav* 4:699-703.
- Salinska E (2006) The role of group I metabotropic glutamate receptors in memory consolidation and reconsolidation in the passive avoidance task in 1-day-old chicks. *Neurochem Int* 48:447-452.
- Salinska E, Bourne RC, Rose SP (2004) Reminder effects: the molecular cascade following a reminder in young chicks does not recapitulate that following training on a passive avoidance task. *Eur J Neurosci* 19:3042-3047.
- Sanders MJ, Fanselow MS (2003) Pre-training prevents context fear conditioning deficits produced by hippocampal NMDA receptor blockade. *Neurobiol Learn Mem* 80:123-129.
- Sanderson DJ, Good MA, Skelton K, Sprengel R, Seeburg PH, Rawlins JN, Bannerman DM (2009) Enhanced long-term and impaired short-term spatial memory in GluA1 AMPA receptor subunit knockout mice: evidence for a dual-process memory model. *Learn Mem* 16:379-386.
- Sangha S, Scheibenstock A, Lukowiak K (2003) Reconsolidation of a long-term memory in *Lymnaea* requires new protein and RNA synthesis and the soma of right pedal dorsal 1. *J Neurosci* 23:8034-8040.
- Sara SJ (1973) Recovery from hypoxia and ECS-induced amnesia after a single exposure to training environment. *Physiol Behav* 10:85-89.
- Sara SJ (2000) Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem* 7:73-84.
- Sara SJ, David-Remacle M (1974) Recovery from electroconvulsive shock-induced amnesia by exposure to the training environment: pharmacological enhancement by piracetam. *Psychopharmacologia* 36:59-66.
- Sara SJ, Remacle JF (1977) Strychnine-induced passive avoidance facilitation after electroconvulsive shock or undertraining: a retrieval effect. *Behav Biol* 19:465-475.
- Sara SJ, Deweer B (1982) Memory retrieval enhanced by amphetamine after a long retention interval. *Behav Neural Biol* 36:146-160.

- Sara SJ, Hars B (2006) In memory of consolidation. *Learn Mem* 13:515-521.
- Satoh Y, Endo S, Ikeda T, Yamada K, Ito M, Kuroki M, Hiramoto T, Imamura O, Kobayashi Y, Watanabe Y, Itohara S, Takishima K (2007) Extracellular signal-regulated kinase 2 (ERK2) knockdown mice show deficits in long-term memory; ERK2 has a specific function in learning and memory. *J Neurosci* 27:10765-10776.
- Schaal B, Hummel T, Soussignan R (2004) Olfaction in the fetal and premature infant: functional status and clinical implications. *Clin Perinatol* 31:261-285, vi-vii.
- Schachtel EG (1947) On memory and childhood amnesia. *Psychiatry* 10:1-26.
- Schacter DL, Moscovitch M (1984) *Infants, amnesics, and dissociable memory systems*. New York: Plenum.
- Schafe GE, Nadel NV, Sullivan GM, Harris A, LeDoux JE (1999) Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA, and MAP kinase. *Learn Mem* 6:97-110.
- Schafe GE, Atkins CM, Swank MW, Bauer EP, Sweatt JD, LeDoux JE (2000) Activation of ERK/MAP kinase in the amygdala is required for memory consolidation of pavlovian fear conditioning. *J Neurosci* 20:8177-8187.
- Schneider AM, Sherman W (1968) Amnesia: a function of the temporal relation of footshock to electroconvulsive shock. *Science* 159:219-221.
- Scholey AB, Mileusnic R, Schachner M, Rose SP (1995) A role for a chicken homolog of the neural cell adhesion molecule L1 in consolidation of memory for a passive avoidance task in the chick. *Learn Mem* 2:17-25.
- Schulenburg CJ, Riccio DC, Stikes ER (1971) Acquisition and retention of a passive-avoidance response as a function of age in rats. *J Comp Physiol Psychol* 74:75-83.
- Schulz B, Fendt M, Schnitzler HU (2002) Clonidine injections into the lateral nucleus of the amygdala block acquisition and expression of fear-potentiated startle. *Eur J Neurosci* 15:151-157.
- Schweitzer L, Green L (1982) Acquisition and extended retention of a conditioned taste aversion in preweanling rats. *J Comp Physiol Psychol* 96:791-806.
- Schwob JE, Price JL (1984) The development of axonal connections in the central olfactory system of rats. *J Comp Neurol* 223:177-202.
- Seeger R, Krebs EG (1995) The MAPK signaling cascade. *Faseb J* 9:726-735.
- Serota RG, Roberts RB, Flexner LB (1972) Acetoxycycloheximide-induced transient amnesia: protective effects of adrenergic stimulants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 69:340-342.
- Sevelinges Y, Desgranges B, Ferreira G (2009a) The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. *Learn Mem* 16:235-242.
- Sevelinges Y, Levy F, Mouly AM, Ferreira G (2009b) Rearing with artificially scented mothers attenuates conditioned odor aversion in adulthood but not its amygdala dependency. *Behav Brain Res* 198:313-320.

- Sevelinges Y, Mouly AM, Levy F, Ferreira G (2009c) Long-term effects of infant learning on adult conditioned odor aversion are determined by the last preweaning experience. *Dev Psychobiol* 51:389-398.
- Sevelinges Y, Moriceau S, Holman P, Miner C, Muzny K, Gervais R, Mouly AM, Sullivan RM (2007) Enduring effects of infant memories: infant odor-shock conditioning attenuates amygdala activity and adult fear conditioning. *Biol Psychiatry* 62:1070-1079.
- Shadmehr R, Holcomb HH (1997) Neural correlates of motor memory consolidation. *Science* 277:821-825.
- Shah A, Oxley G, Lovic V, Fleming AS (2002) Effects of preweaning exposure to novel maternal odors on maternal responsiveness and selectivity in adulthood. *Dev Psychobiol* 41:187-196.
- Shallice T, Warrington EK (1970) Independent functioning of verbal memory stores: A neuropsychological study. *QJ Exp Psychol* 22:261-273.
- Shema R, Sacktor TC, Dudai Y (2007) Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science* 317:951-953.
- Shema R, Hazvi S, Sacktor TC, Dudai Y (2009) Boundary conditions for the maintenance of memory by PKMzeta in neocortex. *Learn Mem* 16:122-128.
- Sherry JM, Crowe SF (2008) Inhibition of cyclin-dependent kinase 5 by roscovitine impairs memory consolidation and reconsolidation in the day-old chick. *Pharmacol Biochem Behav* 91:59-66.
- Shide DJ, Blass EM (1991) Opioid mediation of odor preferences induced by sugar and fat in 6-day-old rats. *Physiol Behav* 50:961-966.
- Shimizu E, Tang YP, Rampon C, Tsien JZ (2000) NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* 290:1170-1174.
- Shionoya K, Moriceau S, Bradstock P, Sullivan RM (2007) Maternal attenuation of hypothalamic paraventricular nucleus norepinephrine switches avoidance learning to preference learning in preweanling rat pups. *Horm Behav* 52:391-400.
- Shionoya K, Moriceau S, Lunday L, Miner C, Roth TL, Sullivan RM (2006) Development switch in neural circuitry underlying odor-malaise learning. *Learn Mem* 13:801-808.
- Silvestri R, Rohrbaugh M, Riccio DC (1970) Conditions influencing the retention of learned fear in young rats. *Developmental Psychology* 2:389-395.
- Singh PJ, Tobach E (1975) Olfactory bulbectomy and nursing behavior in rat pups (Wistar DAB). *Dev Psychobiol* 8:151-164.
- Smith GJ, Croft ER (1985) Analysis of appetitive motivation in preweanling rats: application of bromocryptine mesylate. *Behav Neural Biol* 43:250-259.
- Smith N (1968) Effects of interpolated learning on the retention of an escape response in rats as a function of age. *J Comp Physiol Psychol* 65:422-426.

- Smotherman WP, Petrov ES, Varlinskaya EI (1997a) Experimental study of the first suckling episode: rat pups ingest fluids through a surrogate nipple. *Behav Neurosci* 111:1383-1394.
- Smotherman WP, Goffman D, Petrov ES, Varlinskaya EI (1997b) Oral grasping of a surrogate nipple by the newborn rat. *Dev Psychobiol* 31:3-17.
- Solntseva SV, Nikitin VP, Kozyrev SA, Shevelkin AV, Lagutin AV, Sherstnev VV (2007) Effects of protein synthesis inhibitors during reactivation of associative memory in the common snail induces reversible and irreversible amnesia. *Neurosci Behav Physiol* 37:921-928.
- Sossin WS (2008) Defining memories by their distinct molecular traces. *Trends Neurosci* 31:170-175.
- Spear LP (1979) The use of psychopharmacological procedures to analyze the ontogeny of learning and retention: issues and concerns. In: *Ontogeny of learning and memory*. (In: Spear NE CBe, ed), pp 135-156. Erlbaum, Hillsdale, New Jersey.
- Spear LP, Specht SM, Kirstein CL, Kuhn CM (1989) Anterior and posterior, but not cheek, intraoral cannulation procedures elevate serum corticosterone levels in neonatal rat pups. *Dev Psychobiol* 22:401-411.
- Spear NE (1971) Forgetting as retrieval failure. In *Animal Memory*, ed WK Honig, PHR James New York: Academic:45-109.
- Spear NE (1973) Retrieval of memory in animals. *Psychol Rev* 80:163-194.
- Spear NE (1978) *The processing of memories: Forgetting and retention*. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Spear NE, Parsons PJ (1976) Analysis of a reactivation treatment: Ontogenic determinants of alleviated forgetting. In R T Davis, D L Medin, & W A Roberts (Eds), *Processes of Animal Memory* (pp 135–165) Hillsdale, NJ: Erlbaum, Inc.
- Spear NE, Smith GJ (1978) Alleviation of forgetting in preweanling rats. *Dev Psychobiol* 11:513-529.
- Spear NE, Kucharski D (1984) Ontogenic differences in the processing of multi-element stimuli. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Spear NE, Molina JC (1987) *The role of sensory modality in the ontogeny of stimulus selection*. Orlando, FL: Academic Press.
- Spear NE, Miller JS, Jagielo JA (1990) *Animal memory and learning*. *Annu Rev Psychol* 41:169-211.
- Squire LR (1987) *Memory and brain*. New York, Oxford University Press.
- Squire LR (2006) Lost forever or temporarily misplaced? The long debate about the nature of memory impairment. *Learn Mem* 13:522-529.
- Squire LR, Barondes SH (1972) Variable decay of memory and its recovery in cycloheximide-treated rats. *Proc Natl Acad Sci* 69:1416-1420.

- Squire LR, Barondes SH (1974) Anisomycin, like other inhibitors of cerebral protein synthesis, impairs "long-term" memory of a discrimination task. *Brain research* 66:301-308.
- Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5:169-177.
- Squire LR, Slater PC, Chace PM (1976) Reactivation of recent or remote memory before electroconvulsive therapy does not produce retrograde amnesia. *Behav Biol* 18:335-343.
- Stanciu M, Radulovic J, Spiess J (2001) Phosphorylated cAMP response element binding protein in the mouse brain after fear conditioning: relationship to Fos production. *Brain Res Mol Brain Res* 94:15-24.
- Stanton ME (2000) Multiple memory systems, development and conditioning. *Behav Brain Res* 110:25-37.
- Stehberg J, Levy D, Zangen A (2009) Impairment of aversive memory reconsolidation by localized intracranial electrical stimulation. *Eur J Neurosci* 29:964-969.
- Stehouwer DJ, Campbell BA (1978) Habituation of the forelimb-withdrawal response in neonatal rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 4:104-119.
- Stehouwer DJ, Campbell BA (1980) Ontogeny of passive avoidance: role of task demands and development of species-typical behaviors. *Dev Psychobiol* 13:385-398.
- Steinert PA, Infurna RN, Spear NE (1980) Long-term retention of a conditioned taste aversion in preweaning and adult rats. *Animal Learning & Behavior* 8:375-381.
- Steinert PA, Infurna RN, Jardula MF, Spear NE (1979) Effects of CS concentration on long-delay taste aversion learning in preweaning and adult rats. *Behav Neural Biol* 27:487-502.
- Stickrod G, Kimble DP, Smotherman WP (1982) In utero taste/odor aversion conditioning in the rat. *Physiology & Behavior* 28:5-7.
- Stollhoff N, Menzel R, Eisenhardt D (2005) Spontaneous recovery from extinction depends on the reconsolidation of the acquisition memory in an appetitive learning paradigm in the honeybee (*Apis mellifera*). *J Neurosci* 25:4485-4492.
- Stollhoff N, Menzel R, Eisenhardt D (2008) One retrieval trial induces reconsolidation in an appetitive learning paradigm in honeybees (*Apis mellifera*). *Neurobiol Learn Mem* 89:419-425.
- Stork O, Welzl H (1999) Memory formation and the regulation of gene expression. *Cell Mol Life Sci* 55:575-592.
- Strekalova T, Zorner B, Zacher C, Sadovska G, Herdegen T, Gass P (2003) Memory retrieval after contextual fear conditioning induces c-Fos and JunB expression in CA1 hippocampus. *Genes Brain Behav* 2:3-10.
- Sullivan RM (2001) Unique characteristics of neonatal classical conditioning: the role of the amygdala and locus coeruleus. *Integr Physiol Behav Sci* 36:293-307.
- Sullivan RM, Leon M (1987) One-trial olfactory learning enhances olfactory bulb responses to an appetitive conditioned odor in 7-day-old rats. *Brain Res* 432:307-311.

- Bibliographie -

- Sullivan RM, Hall WG (1988) Reinforcers in infancy: classical conditioning using stroking or intra-oral infusions of milk as UCS. *Dev Psychobiol* 21:215-223.
- Sullivan RM, Wilson DA (1993) Role of the amygdala complex in early olfactory associative learning. *Behav Neurosci* 107:254-263.
- Sullivan RM, Wilson DA (1995) Dissociation of behavioral and neural correlates of early associative learning. *Dev Psychobiol* 28:213-219.
- Sullivan RM, Hofer MA, Brake SC (1986) Olfactory-guided orientation in neonatal rats is enhanced by a conditioned change in behavioral state. *Dev Psychobiol* 19:615-623.
- Sullivan RM, Wilson DA, Leon M (1989) Norepinephrine and learning-induced plasticity in infant rat olfactory system. *J Neurosci* 9:3998-4006.
- Sullivan RM, Zyzak DR, Skierkowski P, Wilson DA (1992) The role of olfactory bulb norepinephrine in early olfactory learning. *Brain Res Dev Brain Res* 70:279-282.
- Sullivan RM, Wilson DA, Lemon C, Gerhardt GA (1994) Bilateral 6-OHDA lesions of the locus coeruleus impair associative olfactory learning in newborn rats. *Brain Res* 643:306-309.
- Sullivan RM, Landers M, Yeaman B, Wilson DA (2000a) Good memories of bad events in infancy. *Nature* 407:38-39.
- Sullivan RM, Stackenwalt G, Nasr F, Lemon C, Wilson DA (2000b) Association of an odor with activation of olfactory bulb noradrenergic beta-receptors or locus coeruleus stimulation is sufficient to produce learned approach responses to that odor in neonatal rats. *Behav Neurosci* 114:957-962.
- Summers MJ, Crowe SF, Ng KT (1997) Administration of DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (AP5) induces transient inhibition of reminder-activated memory retrieval in day-old chicks. *Brain Res Cogn Brain Res* 5:311-321.
- Suzuki A, Josselyn SA, Frankland PW, Masushige S, Silva AJ, Kida S (2004) Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *J Neurosci* 24:4787-4795.
- Swank MW (2000) Phosphorylation of MAP kinase and CREB in mouse cortex and amygdala during taste aversion learning. *Neuroreport* 11:1625-1630.
- Swank MW, Sweatt JD (2001) Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *J Neurosci* 21:3383-3391.

- T -

- Takahashi LK (1992a) Developmental expression of defensive responses during exposure to conspecific adults in preweanling rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 106:69-77.
- Takahashi LK (1992b) Ontogeny of behavioral inhibition induced by unfamiliar adult male conspecifics in preweanling rats. *Physiol Behav* 52:493-498.

- Takahashi LK (1994) Organizing action of corticosterone on the development of behavioral inhibition in the preweanling rat. *Brain Res Dev Brain Res* 81:121-127.
- Takahashi LK, Kim H (1994) Intracranial action of corticosterone facilitates the development of behavioral inhibition in the adrenalectomized preweanling rat. *Neurosci Lett* 176:272-276.
- Takei N, Kawamura M, Hara K, Yonezawa K, Nawa H (2001) Brain-derived neurotrophic factor enhances neuronal translation by activating multiple initiation processes: comparison with the effects of insulin. *J Biol Chem* 276:42818-42825.
- Taubenfeld SM, Milekic MH, Monti B, Alberini CM (2001) The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBPbeta. *Nat Neurosci* 4:813-818.
- Taukulis HK (1974) Odor aversions produced over long CS-US delays. *Behav Biol* 10:505-510.
- Thompson CI, Neely JE (1970) Dissociated learning in rats produced by electroconvulsive shock. *Physiol Behav* 5:783-786.
- Thompson JV, Sullivan RM, Wilson DA (2008) Developmental emergence of fear learning corresponds with changes in amygdala synaptic plasticity. *Brain Res* 1200:58-65.
- Thompson LT, Disterhoft JF (1997) N-methyl-D-aspartate receptors in associative eyeblink conditioning: both MK-801 and phencyclidine produce task- and dose-dependent impairments. *J Pharmacol Exp Ther* 281:928-940.
- Thompson R (1957) The effect of ECS on retention in young and adult rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 50:644-646.
- Thompson R, Pryer RS (1956) The effect of anoxia on the retention of a discrimination habit. *J Comp Physiol Psychol* 49:297-300.
- Thompson RW, Koenigsberg LA, Tennison JC (1965) Effects of age on learning and retention of an avoidance response in rats. *J Comp Physiol Psychol* 60:457-459.
- Tiunova AA, Anokhin KV, Rose SP (1998) Two critical periods of protein and glycoprotein synthesis in memory consolidation for visual categorization learning in chicks. *Learn Mem* 4:401-410.
- Torocsik B, Szeberenyi J (2000) Anisomycin affects both pro- and antiapoptotic mechanisms in PC12 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 278:550-556.
- Torras-Garcia M, Lelong J, Tronel S, Sara SJ (2005) Reconsolidation after remembering an odor-reward association requires NMDA receptors. *Learn Mem* 12:18-22.
- Trifilieff P, Herry C, Vanhoutte P, Caboche J, Desmedt A, Riedel G, Mons N, Micheau J (2006) Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn Mem* 13:349-358.
- Troncoso J, Maldonado H (2002) Two related forms of memory in the crab *Chasmagnathus* are differentially affected by NMDA receptor antagonists. *Pharmacol Biochem Behav* 72:251-265.

- Bibliographie -

- Tronel S, Sara SJ (2002) Mapping of olfactory memory circuits: region-specific c-fos activation after odor-reward associative learning or after its retrieval. *Learn Mem* 9:105-111.
- Tronel S, Sara SJ (2003) Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. *J Neurosci* 23:5472-5476.
- Tronel S, Milekic MH, Alberini CM (2005) Linking new information to a reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *PLoS Biol* 3:e293.
- Tronson NC, Taylor JR (2007) Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 8:262-275.
- Tronson NC, Wiseman SL, Olausson P, Taylor JR (2006) Bidirectional behavioral plasticity of memory reconsolidation depends on amygdalar protein kinase A. *Nat Neurosci* 9:167-169.
- Tucker AR, Oei TP (1982) Protein synthesis inhibition and amnesia for saccharin aversion memory in rats after intra-cisternal administration of cycloheximide. *Physiol Behav* 28:1025-1028.
- Tully T, Preat T, Boynton SC, Del Vecchio M (1994) Genetic dissection of consolidated memory in *Drosophila*. *Cell* 79:35-47.
- Tulving E, Pearlstone Z (1966) Availability versus accessibility of information in memory for words. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 5:381-391.

- V -

- Valjent E, Corbille AG, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Girault JA (2006a) Inhibition of ERK pathway or protein synthesis during reexposure to drugs of abuse erases previously learned place preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2932-2937.
- Valjent E, Corvol JC, Pages C, Besson MJ, Maldonado R, Caboche J (2000) Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. *J Neurosci* 20:8701-8709.
- Valjent E, Aubier B, Corbille AG, Brami-Cherrier K, Caboche J, Topilko P, Girault JA, Herve D (2006b) Plasticity-associated gene *Krox24/Zif268* is required for long-lasting behavioral effects of cocaine. *J Neurosci* 26:4956-4960.
- Vasquez D (1979) *Inhibitors of protein synthesis*. New York: Springer-Verlag.
- Vecsey CG, Hawk JD, Lattal KM, Stein JM, Fabian SA, Attner MA, Cabrera SM, McDonough CB, Brindle PK, Abel T, Wood MA (2007) Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB:CBP-dependent transcriptional activation. *J Neurosci* 27:6128-6140.
- Vianna MR, Szapiro G, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I (2001) Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:12251-12254.

- Bibliographie -

- Vogt MB, Rudy JW (1984) Ontogenesis of learning: I. Variation in the rat's reflexive and learned responses to gustatory stimulation. *Dev Psychobiol* 17:11-33.
- von Herten LS, Giese KP (2005) Memory reconsolidation engages only a subset of immediate-early genes induced during consolidation. *J Neurosci* 25:1935-1942.

- W -

- Waldfoegel S (1948) The frequency and affective character of childhood memories. *Psychological Monographs* 62:(Whole No. 291).
- Walker MP (2008) Sleep-dependent memory processing. *Harv Rev Psychiatry* 16:287-298.
- Walker MP, Brakefield T, Hobson JA, Stickgold R (2003) Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature* 425:616-620.
- Wang H, Shimizu E, Tang YP, Cho M, Kyin M, Zuo W, Robinson DA, Alaimo PJ, Zhang C, Morimoto H, Zhuo M, Feng R, Shokat KM, Tsien JZ (2003) Inducible protein knockout reveals temporal requirement of CaMKII reactivation for memory consolidation in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4287-4292.
- Wang SH, de Oliveira Alvares L, Nader K (2009) Cellular and systems mechanisms of memory strength as a constraint on auditory fear reconsolidation. *Nat Neurosci*. (*en ligne*).
- Warrington EK, Weiskrantz L (1970) Amnesic syndrome: consolidation or retrieval? *Nature* 228:628-630.
- Weber M, McNally GP, Richardson R (2006) Opioid receptors regulate retrieval of infant fear memories: effects of naloxone on infantile amnesia. *Behav Neurosci* 120:702-709.
- Weihmuller FB, Collier AC (1990) The role of age-dependent behaviors in the retention of an approach-avoidance response in preweanling rats. *Dev Psychobiol* 23:265-283.
- Weldon DA, Travis ML, Kennedy DA (1991) Posttraining D1 receptor blockade impairs odor conditioning in neonatal rats. *Behav Neurosci* 105:450-458.
- Weldon DA, Fedorcik GG, LoRusso CM, Tiburzi MJ, Lenoci JM (1997) Olfactory conditioning impairment following posttraining NMDA receptor blockade in neonatal rats. *Neurobiol Learn Mem* 67:34-42.
- Wetzler SE, Sweeney JA (1986) *Childhood amnesia: An empirical demonstration*. New York: Cambridge University Press.
- White NR, Adox R, Reddy A, Barfield RJ (1992) Regulation of rat maternal behavior by broadband pup vocalizations. *Behav Neural Biol* 58:131-137.
- Wiedenmayer CP, Barr GA (1998) Ontogeny of defensive behavior and analgesia in rat pups exposed to an adult male rat. *Physiol Behav* 63:261-269.
- Wilson DA, Sullivan RM (1990) Olfactory associative conditioning in infant rats with brain stimulation as reward. I. Neurobehavioral consequences. *Brain Res Dev Brain Res* 53:215-221.

- Bibliographie -

- Wilson DA, Pham TC, Sullivan RM (1994) Norepinephrine and posttraining memory consolidation in neonatal rats. *Behav Neurosci* 108:1053-1058.
- Winder DG, Martin KC, Muzzio IA, Rohrer D, Chruscinski A, Kobilka B, Kandel ER (1999) ERK plays a regulatory role in induction of LTP by theta frequency stimulation and its modulation by beta-adrenergic receptors. *Neuron* 24:715-726.
- Winters BD, Tucci MC, DaCosta-Furtado M (2009) Older and stronger object memories are selectively destabilized by reactivation in the presence of new information. *Learn Mem* 16:545-553.
- Wittstock S, Menzel R (1994) Color learning and memory in honey bees are not affected by protein synthesis inhibition. *Behav Neural Biol* 62:224-229.
- Wittstock S, Kaatz HH, Menzel R (1993) Inhibition of brain protein synthesis by cycloheximide does not affect formation of long-term memory in honeybees after olfactory conditioning. *J Neurosci* 13:1379-1386.
- Wood MA, Kaplan MP, Park A, Blanchard EJ, Oliveira AM, Lombardi TL, Abel T (2005) Transgenic mice expressing a truncated form of CREB-binding protein (CBP) exhibit deficits in hippocampal synaptic plasticity and memory storage. *Learn Mem* 12:111-119.

- X -

- Xu X, Davis RE (1992) N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 impairs learning but not memory fixation or expression of classical fear conditioning in goldfish (*Carassius auratus*). *Behav Neurosci* 106:307-314.

- Y -

- Yamamoto T (1993) Neural mechanisms of taste aversion learning. *Neuroscience Research* 16:181-185.
- Yamamoto T, Sawa K (2000) Comparison of c-fos-like immunoreactivity in the brainstem following intraoral and intragastric infusions of chemical solutions in rats. *Brain Res* 866:144-151.
- Yamamoto T, Shimura T, Sako N, Yasoshima Y, Sakai N (1994) Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav Brain Res* 65:123-137.
- Yeh SH, Lin CH, Gean PW (2004) Acetylation of nuclear factor-kappaB in rat amygdala improves long-term but not short-term retention of fear memory. *Mol Pharmacol* 65:1286-1292.
- Yim AJ, Moraes CR, Ferreira TL, Oliveira MG (2006) Protein synthesis inhibition in the basolateral amygdala following retrieval does not impair expression of morphine-associated conditioned place preference. *Behav Brain Res* 171:162-169.

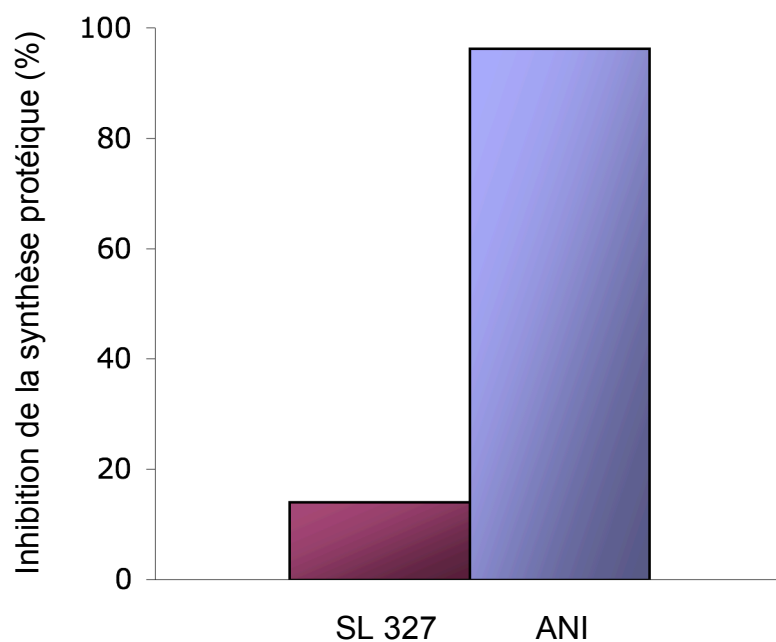
- Bibliographie -

- Yuan Q, Harley CW, Bruce JC, Darby-King A, McLean JH (2000) Isoproterenol increases CREB phosphorylation and olfactory nerve-evoked potentials in normal and 5-HT-depleted olfactory bulbs in rat pups only at doses that produce odor preference learning. *Learn Mem* 7:413-421.
- Yuan Q, Harley CW, Darby-King A, Neve RL, McLean JH (2003) Early odor preference learning in the rat: bidirectional effects of cAMP response element-binding protein (CREB) and mutant CREB support a causal role for phosphorylated CREB. *J Neurosci* 23:4760-4765.

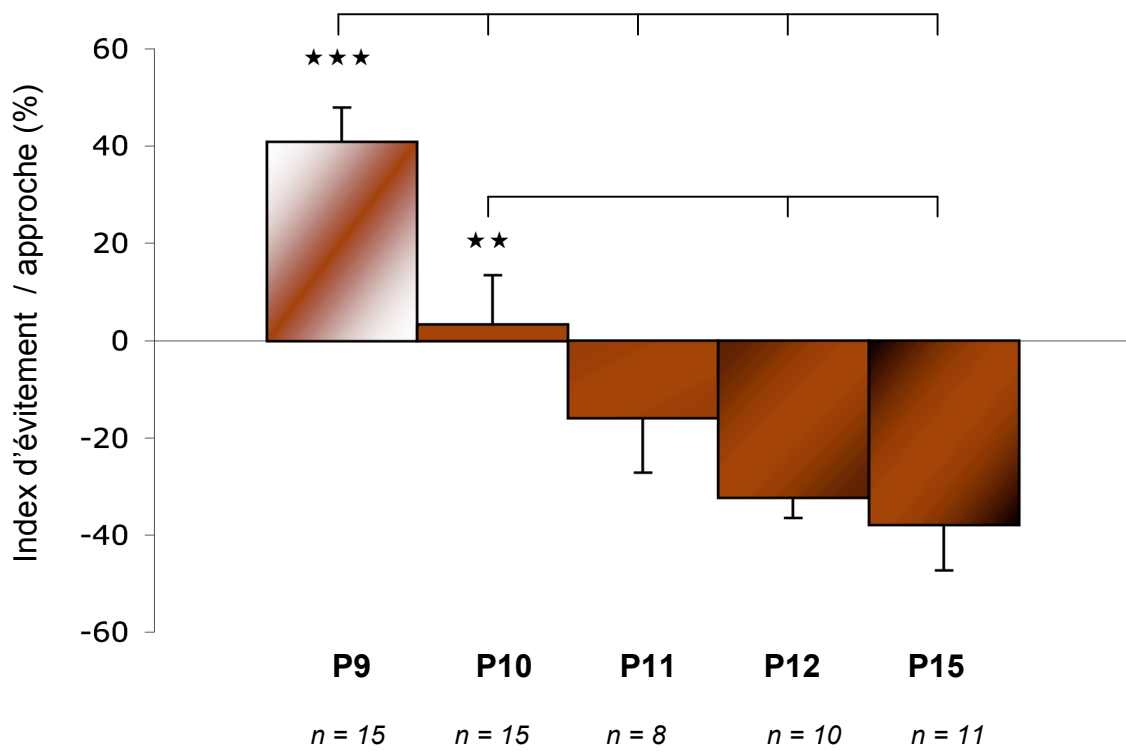
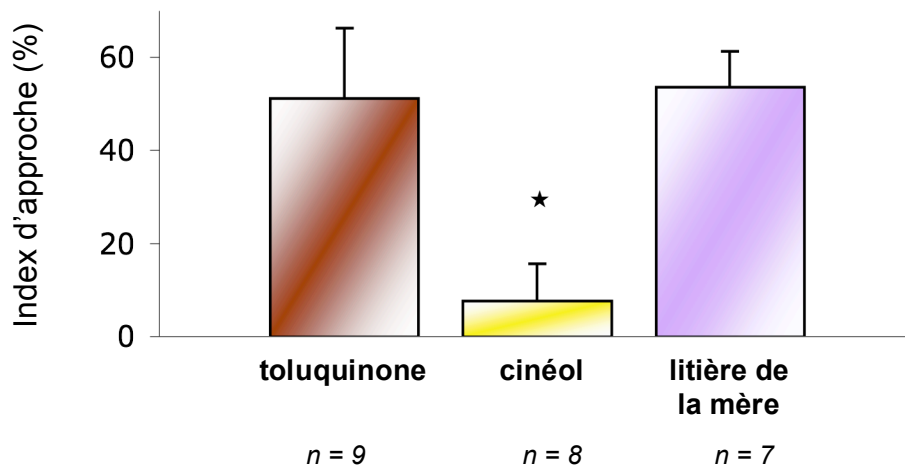
- Z -

- Zhang JJ, Okutani F, Inoue S, Kaba H (2003a) Activation of the cyclic AMP response element-binding protein signaling pathway in the olfactory bulb is required for the acquisition of olfactory aversive learning in young rats. *Neuroscience* 117:707-713.
- Zhang JJ, Okutani F, Inoue S, Kaba H (2003b) Activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase signaling pathway leading to cyclic AMP response element-binding protein phosphorylation is required for the long-term facilitation process of aversive olfactory learning in young rats. *Neuroscience* 121:9-16.
- Zhong J, Gribkoff VK, Molinoff PB (1996) Use of subunit-specific antisense oligodeoxynucleotides to define developmental changes in the properties of N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol Pharmacol* 50:631-638.
- Zhong J, Carrozza DP, Williams K, Pritchett DB, Molinoff PB (1995) Expression of mRNAs encoding subunits of the NMDA receptor in developing rat brain. *J Neurochem* 64:531-539.
- Zinck R, Cahill MA, Kracht M, Sachsenmaier C, Hippskind RA, Nordheim A (1995) Protein synthesis inhibitors reveal differential regulation of mitogen-activated protein kinase and stress-activated protein kinase pathways that converge on Elk-1. *Mol Cell Biol* 15:4930-4938.
- Zubin J, Barrera SE (1941) Effects of electric convulsive therapy on memory. *Proc Soc Exp Biol Med* 48:596-597.

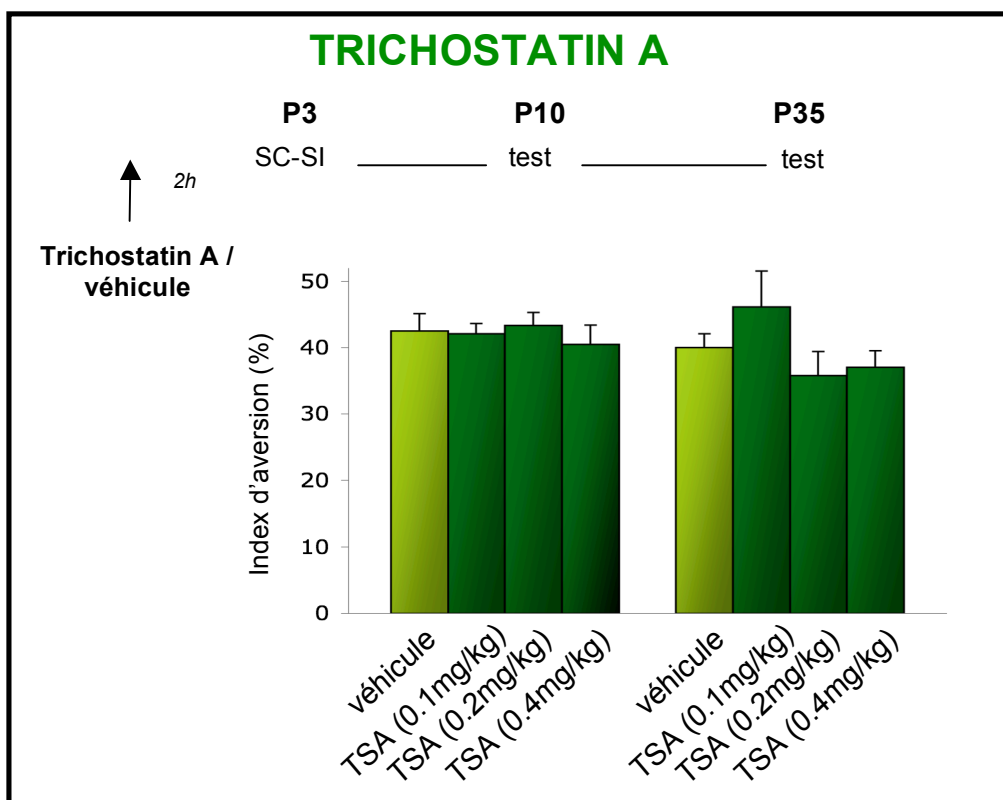
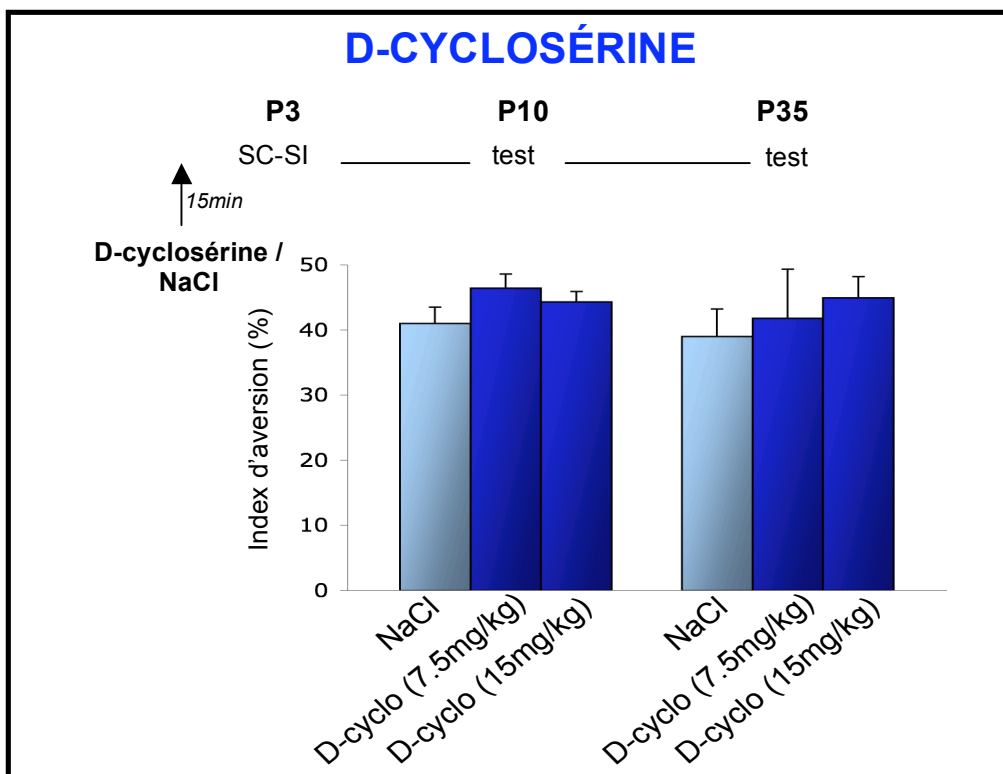
ANNEXES



Annexe 1 Effet de l'inhibiteur des MAPK (SL327) et de l'anisomycine (ANI) sur la synthèse protéique chez le raton de 3 jours post-nataux. Le pourcentage d'inhibition de la synthèse protéique est mesuré, à l'aide de la ^{35}S -methionine (*cf article 2*), 75 min après l'injection des inhibiteurs : SL327 (n=8 ; véhicule n = 8) et anisomycine (n=10 ; véhicule n = 10). Le SL327 inhibe la synthèse protéique (14%) en moindre proportion que l'anisomycine (95%).

A**B**

Annexe 2 Évolution de la réponse spontanée pour une odeur aversive, la toluquinone. La réponse d'évitement apparaît à P12, et de manière surprenante les rats à P9 présentent une réponse d'approche pour l'odeur répulsive (A). Les rats à P9 expriment une réponse d'approche identique envers la toluquinone et la litière de leur mère (B). *** $p < .001$. ** $p < .01$. * $p < .05$.



Annexe 3 Absence d'effet de l'administration de la D-cyclosérine (agoniste des récepteurs NMDA ; n=10/groupe) et de la Trichostatin A (inhibiteur des déacétylases des histones ; n=11/groupe) lors du conditionnement d'aversion gustative à P3 sur la rétention de la mémoire à P10 et P35.

Annexe 4 - Article 5

Pheromone-induced olfactory memory in newborn rabbits: Involvement of consolidation and reconsolidation processes.

Coureaud G., Languille S., Schaal B., Hars B. (2009)

Learning & Memory 16 : 470-473.

Brief Communication

Pheromone-induced olfactory memory in newborn rabbits: Involvement of consolidation and reconsolidation processes

Gérard Coureaud,^{1,3} Solène Languille,² Benoist Schaal,¹ and Bernard Hars²

¹Equipe Ethologie et Psychobiologie Sensorielle, Centre Européen des Sciences du Go t, UMR 5170 CNRS-Université de Bourgogne-Inra, 21000 Dijon, France; ²Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, UMR 8620 CNRS, Université Paris XI, 31405 Orsay, France

Mammary pheromone (MP)-induced odor memory is a new model of appetitive memory functioning early in a mammal, the newborn rabbit. Some properties of this associative memory are analyzed by the use of anisomycin as an amnesic agent. Long-term memory (LTM) was impaired by anisomycin delivered immediately, but not 4 h after either acquisition or reactivation. Thus, the results suggest that this form of neonatal memory requires both consolidation and reconsolidation. By extending these notions to appetitive memory, the results reveal that consolidation and reconsolidation processes are characteristics of associative memories of positive events not only in the adult, but also in the newborn.

A new memory is initially labile and stabilizes over time through the process of consolidation (McGaugh 1966, 2000). However, consolidated memories become labile again when reactivated through recall and need to be reconsolidated to persist (Nader et al. 2000; Sara 2000). This has been evidenced by various treatments impairing the neural activity. Among them, protein synthesis inhibitors such as anisomycin induce severe memory impairment when delivered immediately after acquisition or reactivation.

These evidences mainly derive from studies in adult mammals. However, consolidation and reconsolidation processes have been shown recently in rat pups exposed to conditioned taste aversion (Gruest et al. 2004; Languille et al. 2008). The involvement of such processes nevertheless remained to be assessed in positively reinforced neonatal learning.

In the newborn rabbit, an original appetitive learning exists: Pups acquire a conditioned response to a new odorant (conditioned stimulus, CS) 24 h after its synchronous presentation with the mammary pheromone (MP) used as unconditioned stimulus (US) (Coureaud et al. 2006, 2008). This appetitive learning functions efficiently in a single and brief pairing between the CS and the US. The goal of the present experiments was to assess whether this original form of learning, which seems highly prepared (Seligman 1970), requires a memory processing similar to other types of memories, i.e., whether early appetitive memories involve, as early aversive memories, processes of consolidation and reconsolidation.

We evaluated the sensitivity of this early memory ($n = 167$ newborn rabbits, from 37 females) to the action of anisomycin (AN, 42 mg/kg, i.p., Aldrich) after both acquisition and reactivation. A single conditioning session (5 min) with the odorant E (ethyl acetoacetate; Aldrich) + MP (2-methylbut-2-enal; Aldrich) was carried out in 1- or 2-d-old pups (previous description in Coureaud et al. 2006, 2008). For the reactivation, odorant E was presented alone for 2 min only. The conditioning and reactivation occurred around 10:30 am, 1 h before the nursing, which happened only daily in this species (Zarrow et al. 1965). The

behavioral assay consisted of an oral activation test (Schaal et al. 2003; Coureaud et al. 2006, 2008), during which the pup was immobilized in one gloved hand of the experimenter, its head being left free, and the test odor was presented for 10 sec with a glass stick 0.5 cm in front of the nares. A test was considered positive when the stimulus elicited head-searching movements (vigorous, low-amplitude horizontal and vertical scanning movements of the head, displayed after stretching of the neck toward the stick) followed by oral grasping movements (labial seizing of the stick extremity). On the contrary, nonresponding pups displayed no response but sniffing to the stimulus. Thus, the dependent variable was the proportion of pups responding at least once by the typical orocephalic behavior. During the retention test, the responsiveness to the MP was also verified in each pup; in all groups, this responsiveness was always >83.3% (and therefore not detailed below). To avoid any interference with their prandial state (Montigny et al. 2006), the pups were tested before sucking. To minimize the litter effect, only two pups from a same litter were included in a given group. The percentages of pups responding to the stimuli were compared by the χ^2 test of McNemar or the χ^2 test of Pearson (comparisons for dependent or independent groups, respectively), with Yates correction when necessary. Data were regarded as significant when the tests (two-tailed) ended with $P < 0.05$.

To determine whether MP-induced odor learning requires a consolidation process, four groups of 2-d-old pups ($n = 10$ /group) were conditioned by exposure to the odorant E+MP mixture, and injected with AN or saline immediately or 4 h after the conditioning. The day after (Fig. 1A), saline-injected groups and the AN-4 h-injected group responded strongly to the odorant E, whereas the pups immediately injected with AN did not ($\chi^2 > 10.2$, $P < 0.001$). Thus, injection of AN blocked the MP-induced odor memory when AN was administered just after the conditioning, but not at 4-h delay.

Moreover, we tested whether a short-term memory (STM), usually considered immune from protein synthesis inhibitor (Davis and Squire 1984), follows the MP-induced odor conditioning: Two groups of pups were exposed to E+MP, immediately injected with AN or saline ($n = 10$ and 8, respectively), and tested 4 h (still unsuckled) and 24 h after the conditioning. The AN-treated pups

³Corresponding author.

E-mail coureaud@cesg.cnrs.fr; fax 33-3-80-68-16-01.

Article is online at <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.1434009>.

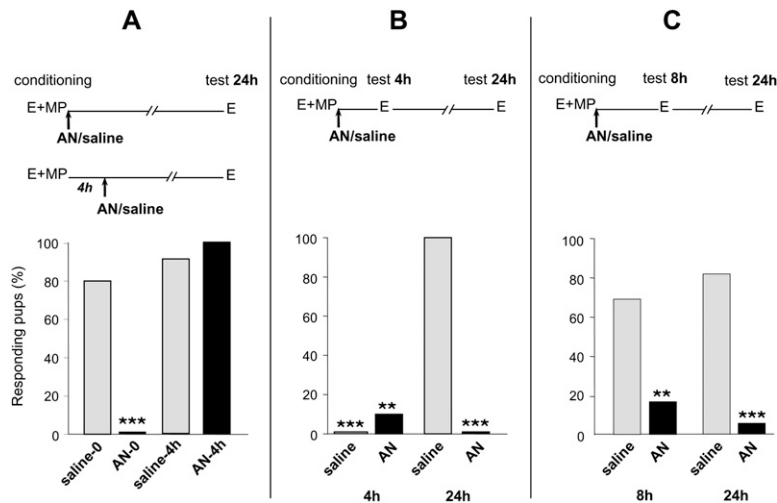


Figure 1. Consolidation. (A) Impact of anisomycin (AN) on long-term memory. Rabbit pups were conditioned to odorant E by pairing with the mammary pheromone (MP) on day 2 and injected with saline or AN immediately (saline-0, AN-0) or 4 h after conditioning (saline-4 h, AN-4 h). The behavioral response to E was tested 24 h later. Long-term memory was impaired by immediate injection of AN, but not at 4-h delay. (B) Impact of AN on short-term memory. Pups were conditioned, immediately injected with saline or AN, and tested 4 and 24 h after the conditioning. Memory is not expressed 4 h post-conditioning. (C) Impact of AN on the first expressed memory. Pups were conditioned, immediately injected with saline or AN, and tested 8 and 24 h later. Memory expressed at 8-h delay is already sensitive to AN-induced impairment. (***) $P < 0.001$; (**) $P < 0.01$.

responded very weakly to the odorant E at 4 h and not at all at 24 h (Fig. 1B). No control pups responded to the odorant E at 4 h, but all did at 24 h ($\chi^2 = 8.1$, $P < 0.01$). Thus, when both groups of pups did not respond to odorant E shortly after the conditioning, their responsiveness differed in the long term ($\chi^2 = 14.2$, $P < 0.001$). The absence of conditioned response in unsuckled pups after a 4-h delay was in line with the emergence of a conditioned response only 8 h after the pheromone-odor pairing noted by Coureaud et al. (2006) in pups previously suckled.

To assess the effect of AN on memory expression at 8-h delay, two groups of pups were injected with AN or saline ($n = 18$ and 16) immediately after the conditioning, and tested 8 h later. The AN-treated pups exhibited a poorer retention than the saline-injected pups ($\chi^2 = 9.5$, $P = 0.002$; Fig. 1C). The amnesic effect of AN was confirmed in these pups when tested at 24 h ($\chi^2 = 20$, $P < 0.001$). To sum up, the impact of AN on STM was undetectable at 4-h delay, but when the conditioned response began to be measurable, after 8 h, the AN treatment clearly impaired the memory.

To determine whether the MP-induced odor memory becomes labile when reactivated, four groups of pups were conditioned to the odorant E+MP mixture on day 1, briefly exposed to the odorant E on day 2, and injected with AN or saline immediately or 4 h after reactivation ($n = 10$ /group). Pups of another group ($n = 9$) were similarly conditioned, but not reactivated before the injection of AN on day 2. On day 3, pups were tested for their response to the odorant E. Saline-injected groups, the not-reactivated group, and the AN-4 h-injected group responded strongly to the odorant E, whereas reactivated pups immediately treated with AN did not (AN-0 vs. other groups: $\chi^2 > 9.2$, $P < 0.01$ in all the comparisons; Fig. 2A). Thus, one day after acquisition, AN abolished the long-term memory only when it was injected just after a reactivation.

Finally, to evaluate the possibility of a STM after reactivation, two groups of conditioned pups were reactivated, immediately injected with AN or saline ($n = 10$ /group), and tested 4 h, then 24 h after the reactivation. The saline-injected pups highly and similarly responded to odorant E at 4 h and 24 h (Fig. 2B). The AN-

treated pups responded to the odorant E only at 4 h ($\chi^2 = 8.1$, $P < 0.01$; between-groups comparison at 24 h: $\chi^2 = 10.2$, $P = 0.001$). Thus, AN had no amnesic effect on STM (4 h), but impaired long-term memory (LTM; 24 h) after reactivation.

The present study therefore underlines (results are summarized in Table 1) that in newborn rabbits, AN administered immediately after acquisition or reactivation induces a strong amnesia of MP-induced odor memory.

The single pairing of an odorant with the MP is sufficient to confer an appetitive value to that odorant, thus creating an associative memory (Coureaud et al. 2006, 2008). This associative memory is impaired by post-trial injection of AN, but only if administered shortly after the conditioning. Similarly, AN delivered shortly after reactivation of the consolidated memory impairs the retention in the long but not in the short term, suggesting that reactivation leads the memory trace to return to a labile state (Lewis 1979) before being available for further recall. This assumption is reinforced by the lack of effectiveness of AN administered 24 h after acquisition, without recall by the CS. It could, however, be argued that AN is not an amnesic agent, but carries a negative reinforcing value counteracting the conditioned appetitive response. Debates about this issue concluded that the blocking effect of AN cannot be explained by an aversive effect, but sustains an interpretation in terms of amnesia (Davis and Squire 1984). Our and other data supply additional elements to this idea: (1) AN injected post-trial in rat pups at the same dose, as here in rabbits, does not enhance

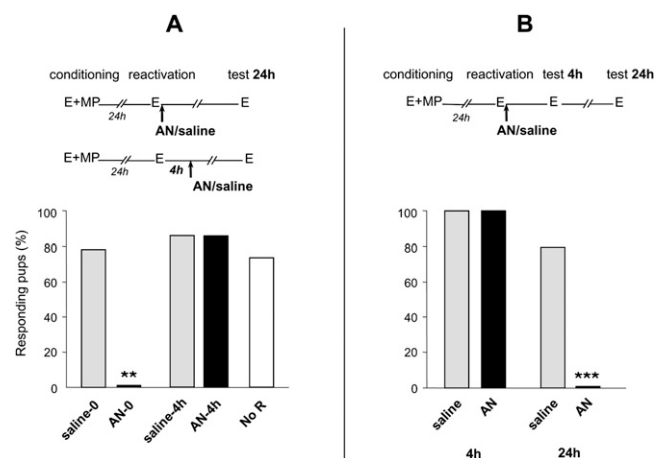


Figure 2. Reconsolidation. (A) Post-reactivation impact of anisomycin (AN) on long-term memory. Pups were conditioned on day 1, reactivated by exposure to odorant E on day 2, and injected with saline or AN immediately (saline-0, AN-0) or 4 h after reactivation (saline-4 h, AN-4 h). Another group was similarly conditioned but not reactivated before AN injection (No R). Retention test occurred 24 h after the reactivation. AN abolishes long-term memory only if memory is previously reactivated. (B) Post-reactivation impact of AN on short-term memory. Conditioned pups were reactivated and immediately injected with saline or AN. They were tested 4 and 24 h after the reactivation. AN leaves intact short-term memory displayed post-reactivation, but impairs long-term memory. (***) $P < 0.001$; (**) $P < 0.01$.

Table 1. Summary of anisomycin (AN) effects on the pheromone-induced appetitive memory

	Test at 4 h	Test at 8 h	Test at 24 h
Post-acquisition	No memory	Impaired by AN	Impaired by AN immediate, but not by AN at 4 h
Post-reactivation	Not impaired by AN	—	Impaired by AN immediate, but not by AN at 4 h

conditioned aversion induced by LiCl, but rather abolishes it (Gruest et al. 2004; Languille et al. 2008); (2) if AN acted as a negative reinforcer, it should be associated with the MP, and then should reduce the behavioral response to the MP; this is not the case; (3) 4 h after the contingent presentation of the odorant and the AN injection in the reactivation episode, an aversion to the odorant would be detected. On the other hand, AN injected 4 h after acquisition or reactivation has no effect on retention, ruling out a nonspecific anterograde effect of this drug on later memory performance. Thus, our results show that the stabilization in the long term of the MP-induced odor memory requires a time window that begins with conditioning and reactivation, and ends in less than 4 h. A similar time window for amnesia induced by hypothermia has been noted after odor acquisition in another form of conditioning in newborn rabbits (Kindermann et al. 1991). These considerations lead to admit that AN, whatever its mechanism of action (Routtenberg and Rekart 2005; Alberini 2008; Gold 2008), impairs the memorization processes engaged after both learning and retrieval in the newborn rabbit, thus ending in the retention impairment of the pheromone-induced associative memory.

Such retrograde amnesia is in line with an enormous corpus of data on adult rodents, showing that a memory remains labile after its formation and needs time to be consolidated. Moreover, recent experiments have shown that retrieval of consolidated memory requires reconsolidation to be maintained (Nader 2003; Dudai 2004; Alberini 2005; Sara and Hars 2006; Sara 2008). This evidence stems mostly from fear conditioning in adult rats, but also from other paradigms in several species (Anokhin et al. 2002; Pedreira et al. 2002; Eisenberg et al. 2003; Kelly et al. 2003). Among the few studies referring to reconsolidation in appetitive learning, only food and drugs are used as positive reinforcers (Lee et al. 2005; Stollhoff et al. 2005; Torras-Garcia et al. 2005; Kemenes et al. 2006; Milekic et al. 2006). Therefore, in revealing for the first time that a pheromone-induced appetitive memory needs time to stabilize in a newborn mammal, our results extend the field of application of the consolidation and reconsolidation hypotheses. This extension is even more salient when some peculiarities of this pheromone-induced appetitive learning are recalled: (1) A single volatile compound from rabbit milk, meeting the most stringent criteria that define a pheromone in mammals (Beauchamp et al. 1976) acts as a positive reinforcer in newborns; (2) this learning is acquired after a single and very brief CS-US pairing (Coureaud et al. 2006), when conventional positive conditionings are established after numerous trials.

The memorization too seems to have particular properties. First, after a single episode of MP-induced odor conditioning, the memory initially formed disappears rather quickly (4–5 d) (Coureaud et al. 2006). If this memory requires new protein synthesis (engaged in morphologic, chemical, and functional modifications of the neural circuit), the modifications made by such synthesis therefore appear beneficial for memory expression only during a few days. This rapid forgetting may be due to a decrease in CS-US association: During the daily nursings that follow the MP-reinforced conditioning, pups are exposed to the MP and other maternal odors, so a dissociation between the CS and the MP may occur. It may also result from neural modifications: As the pup

develops and the brain matures, new circuits can damage the initially existing memory trace.

Second, the pheromone-induced process appears to follow a particular time course, as no STM is detected after acquisition. Indeed, pups require more than 4 h after the CS-US pairing to display a conditioned response to the CS, and the memory beginning to be behaviorally manifested 8 h post-conditioning is already impaired by AN, suggesting the expression of LTM. Protein synthesis inhibitors have been repeatedly demonstrated to block LTM but not STM; they therefore do not act on initial memory formation, but on its consolidation (Davis and Squire 1984; McGaugh 2000). Here, after acquisition, no STM is expressed at 4 h measurement time, but at the same delay, the LTM appears already stabilized, since AN is no longer effective. After reactivation, a memory is already expressed at the 4-h delay, while AN is no more effective on the LTM; the memory trace is therefore restabilized. To sum up, after both acquisition and reactivation, the temporal manifestation of the STM is dissociated from the LTM formation. Thus, STM and LTM would be parallel rather than sequential processes. Such parallelism, previously proposed for consolidation (McGaugh 1966, 2000; Izquierdo et al. 2002), might thus be extended to the reconsolidation process.

The delay needed for the memory to gain control over behavior after learning is not an exclusive property of the pheromone-induced neonatal memory investigated here. An improvement of memory expression during the hours following the acquisition has been described in adult mammals (Spear 1978), namely, in the cases of “reminiscence” and “incubation.” In the present case, however, the memory improvement of newborn rabbits is a consequent neither of multiple training nor of fear conditioning, and thus appears as an original example of spontaneous evolution of memory occurring after encoding. One may recall that rabbit pups usually interact with the mother only once per day and very briefly (Zarrow et al. 1965), and that missing two consecutive opportunities of sucking jeopardizes survival (Coureaud et al. 2000). Thus, although the pheromone-induced acquisition of maternal odors needs to be extremely rapid, the elaboration of the resulting memory traces benefits of several hours to mature, as it will be of adaptive use only 24 h later.

In conclusion, the present study reveals that the mammary pheromone-induced appetitive odor memory, in spite of particularities presumably commensurate with the extreme social constraints met by newborn rabbits, shares some commonalities with processes functional in adults from other species. It suggests that consolidation and reconsolidation processes are constitutive of the associative memory, positive as negative, from very early in life.

Acknowledgments

We thank Valérie Saint-Giorgio, Florent Costilhes, Nicolas Malaty (Centre de Zootechnie, Université de Bourgogne, Dijon), and Brigitte Quennedey (CESG, Dijon) for their important technical contributions, and Nadège Gruest for initial discussions. This work was financially supported by the CNRS.

References

- Alberini CM. 2005. Mechanisms of memory stabilization: Are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* **28**: 51–56.
- Alberini CM. 2008. The role of protein synthesis during the labile phases of memory: Revisiting the skepticism. *Neurobiol Learn Mem* **89**: 234–246.
- Anokhin KV, Tiunova AA, Rose SP. 2002. Reminder effects—reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis

- inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *Eur J Neurosci* **15**: 1759–1765.
- Beauchamp GK, Doty RL, Moulton DG, Mugford RA. 1976. The pheromone concept in mammalian chemical communication: A critique. In *Olfaction, behavior, and mammalian reproduction* (ed. RL Doty), pp. 143–160. Academic Press, New York.
- Coureaud G, Schaal B, Coudert P, Rideaud P, Fortun-Lamothe L, Hudson R, Orgeur P. 2000. Immediate postnatal suckling in the rabbit: Its influence on pup survival and growth. *Reprod Nutr Dev* **40**: 19–32.
- Coureaud G, Moncomble AS, Montigny D, Dewas M, Perrier G, Schaal B. 2006. A pheromone that rapidly promotes learning in the newborn. *Curr Biol* **16**: 1956–1961.
- Coureaud G, Thomas-Danguin T, Le Berre E, Schaal B. 2008. Perception of odor blending mixture in the newborn rabbit. *Physiol Behav* **95**: 194–199.
- Davis HP, Squire LR. 1984. Protein synthesis and memory: A review. *Psychol Bull* **96**: 518–559.
- Dudai Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or how stable is the engraving? *Annu Rev Psychol* **55**: 51–86.
- Eisenberg M, Kobilo T, Berman DE, Dudai Y. 2003. Stability of retrieved memory: Inverse correlation with trace dominance. *Science* **301**: 1102–1104.
- Gold PE. 2008. Protein synthesis inhibition and memory: Formation vs. amnesia. *Neurobiol Learn Mem* **89**: 201–211.
- Gruest N, Richer P, Hars B. 2004. Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J Neurosci* **24**: 10488–10492.
- Izquierdo LA, Barros DM, Vianna MR, Coitinho A, de David e Silva T, Choi H, Moletta B, Medina JH, Izquierdo I. 2002. Molecular pharmacological dissection of short- and long-term memory. *Cell Mol Neurobiol* **22**: 269–287.
- Kelly A, Laroche S, Davis S. 2003. Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory. *J Neurosci* **23**: 5354–5360.
- Kemenes G, Kemenes I, Michel M, Papp A, Muller U. 2006. Phase-dependent molecular requirements for memory reconsolidation: Differential roles for protein synthesis and protein kinase A activity. *J Neurosci* **26**: 6298–6302.
- Kindermann U, Gervais R, Hudson R. 1991. Rapid odor conditioning in newborn rabbits: Amnesic effect of hypothermia. *Physiol Behav* **50**: 457–460.
- Languille S, Gruest N, Richer P, Hars B. 2008. The temporal dynamics of consolidation and reconsolidation decrease during post-natal development. *Learn Mem* **15**: 434–442.
- Lee JL, Di Ciano P, Thomas KL, Everitt BJ. 2005. Disrupting reconsolidation of drug memories reduces cocaine-seeking behavior. *Neuron* **47**: 795–801.
- Lewis DJ. 1979. Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol Bull* **86**: 1054–1083.
- McGaugh JL. 1966. Time dependent processes in memory storage. *Science* **153**: 1351–1358.
- McGaugh JL. 2000. Memory—a century of consolidation. *Science* **287**: 248–251.
- Milekic MH, Brown SD, Castellini C, Alberini CM. 2006. Persistent disruption of an established morphine conditioned place preference. *J Neurosci* **26**: 3010–3020.
- Montigny D, Coureaud G, Schaal B. 2006. Rabbit pup response to the mammary pheromone: From automatism to prandial control. *Physiol Behav* **89**: 742–749.
- Nader K. 2003. Memory traces unbound. *Trends Neurosci* **26**: 65–72.
- Nader K, Schafe GE, LeDoux JE. 2000. The labile nature of consolidation theory. *Nat Rev Neurosci* **1**: 216–219.
- Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H. 2002. Reactivation and reconsolidation of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*: Protein synthesis requirement and mediation by NMDA-type glutamatergic receptors. *J Neurosci* **22**: 8305–8311.
- Routtenberg A, Rekart JL. 2005. Post-translational protein modification as the substrate for long-lasting memory. *Trends Neurosci* **28**: 12–19.
- Sara SJ. 2000. Retrieval and reconsolidation: Toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem* **7**: 73–84.
- Sara SJ. 2008. Reconsolidation: Historical perspective and theoretical aspects. In *Learning theory and behavior, vol. 1 of Learning and memory: A comprehensive reference* (ed. R Menzel), pp. 461–476. Elsevier, Oxford, UK.
- Sara SJ, Hars B. 2006. In memory of consolidation. *Learn Mem* **5**: 515–521.
- Schaal B, Coureaud G, Langlois D, Ginies C, Semon E, Perrier G. 2003. Chemical and behavioral characterization of the rabbit mammary pheromone. *Nature* **424**: 68–72.
- Seligman MEP. 1970. On the generality of the laws of learning. *Psychol Rev* **77**: 406–418.
- Spear NE. 1978. *The processing of memories, forgetting and retention*. Laurence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ.
- Stollhoff N, Menzel R, Eisenhardt D. 2005. Spontaneous recovery from extinction depends on the reconsolidation of the acquisition memory in an appetitive learning paradigm in the honeybee (*Apis mellifera*). *J Neurosci* **25**: 4485–4492.
- Torras-Garcia M, Lelong J, Tronel S, Sara SJ. 2005. Reconsolidation after remembering an odor-reward association requires NMDA receptors. *Learn Mem* **12**: 18–22.
- Zarrow MX, Denenberg VH, Anderson CO. 1965. Rabbit: Frequency of suckling in the pup. *Science* **150**: 1835–1836.

Received March 27, 2009; accepted in revised form May 19, 2009.

Solène LANGUILLE

Dynamique de la mémoire au cours du développement post-natal, étude chez le raton

Résumé :

Les deux aspects essentiels de la mémoire sont la formation de la trace et la rétention du souvenir à long terme. Afin de comprendre ces processus, nous avons étudié leur mise en place au cours de l'ontogenèse. Chez le raton, nous avons montré que : 1) ERK1/2 et la synthèse de nouvelles protéines sont nécessaires à la consolidation et reconsolidation dès 3 jours post-natals ; 2) les cinétiques de stabilisation de la mémoire raccourcissent au cours du développement post-natal ; 3) une mémoire précoce peut s'inverser avec l'âge ; 4) la capacité de rétention à très long terme apparaît pendant une période critique (une semaine avant le sevrage). Il semble donc que la mémoire précoce implique des mécanismes moléculaires similaires à ceux observés chez l'adulte, mais sa dynamique évolue au cours du développement post-natal.

Mots clés : Mémoire, ontogenèse, consolidation, reconsolidation, synthèse protéique, MAPK, aversion gustative conditionnée, rat.

Dynamics of memory during post-natal development, study in rat pup

Abstract :

Both essential aspects of memory are the formation of the trace and retention of memory in the long term. To understand these processes, we studied how they build up in the course of ontogenesis. In rat pup, we showed that: 1) ERK1/2 and protein synthesis are necessary for consolidation and reconsolidation from 3 days postnatal; 2) the kinetics of memory stabilization shorten during postnatal development; 3) an early memory can reverse with age; 4) the capacity of very long-term retention appears during a critical period (one week before weaning). It seems therefore that early memory involves molecular mechanisms similar to those observed in the adult, but its dynamics evolves in the course of postnatal development.

Keywords : Memory, ontogenesis, consolidation, reconsolidation, protein synthesis, MAPK, conditioned taste aversion, rat.

Discipline : *Neurobiologie moléculaire et cellulaire*

Adresse du laboratoire : *Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication (NAMC), CNRS, UMR8620, Université Paris-Sud, Bât 446, 91405 ORSAY*