



HAL
open science

Impact des conditions d'hébergement sur le vieillissement cognitif chez le rat : études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques

Fanny Fuchs

► **To cite this version:**

Fanny Fuchs. Impact des conditions d'hébergement sur le vieillissement cognitif chez le rat : études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques. Neurobiologie. Université de Strasbourg, 2015. Français. NNT : 2015STRAJ077 . tel-01377678

HAL Id: tel-01377678

<https://theses.hal.science/tel-01377678>

Submitted on 7 Oct 2016

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.

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives

THESE présentée par :

Fanny FUCHS

soutenue le : 14 décembre 2015

pour obtenir le grade de : Docteur de l'Université de Strasbourg

Discipline / Spécialité : Neurosciences

**Impact des conditions d'hébergement sur le vieillissement
cognitif chez le Rat :**
études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques.

Thèse dirigée par :

Monique MAJCHRZAK,

Maître de Conférences (HDR) à l'Université de Strasbourg

Rapporteurs externes :

Thomas FERET,

Etienne SAVE,

Professeur (HDR) à l'Université de Caen

Directeur de Recherche (HDR) à l'Université d'Aix-Marseille

Examineur interne :

Olivier DESPRES,

Maître de Conférences (HDR) à l'Université de Strasbourg

Membre invité :

Alexandra BARBELIVIEN,

Maître de Conférences à l'Université de Strasbourg

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury Olivier Després, Thomas Freret et Etienne Save pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse.

Je remercie également Messieurs Christian Kelche et Jean-Christophe Cassel de m'avoir accueillie au sein du LNCA pour que je puisse y effectuer ma thèse.

Merci à Monique Majchrzak pour son implication sans limite dans les moments clés, pour ses suggestions judicieuses et les détails qu'elle ne laisse jamais passer.

Mon plus grand **MERCI** va tout naturellement à Alexandra Barbelivien. Comme je te l'ai déjà dit, tu as été pour moi une « cheffe parfaite », toujours présente et à l'écoute quand j'en avais besoin, tout en me laissant la liberté de travailler comme je l'entendais. Merci pour ton aide quotidienne, pour ta confiance et ton attention.

Merci à Romain Goutagny pour m'avoir initiée aux expériences et analyses électrophysiologiques. Qui eut cru que je m'enthousiasmerais un jour à l'écoute de cellules en décharge ou à la vision d'oscillations θ ?

Merci à Karin pour son aide précieuse et sa bonne humeur en toute circonstance, même durant ces heures interminables passées au cryostat. Merci aux animaliers de s'être quotidiennement occupés de mes « vieilles » ainsi qu'aux personnes qui m'ont aidée pour les milieux enrichis (Carole, Karin, Alex).

Merci à Zaza, dont les post-it sont restés fidèlement accrochés à mon écran d'ordinateur jusqu'à la fin ! Je remercie également JB, Marco, Valentine, Victor, Matthieu, Jyoti, Lucas, Carole, Brigitte, Thibaut, Michaël, Anne, Céline pour les discussions enrichissantes et les nécessaires moments de détente que l'on a partagés.

Merci à tous les membres du laboratoire que je n'aurais pas cités. La chaleur de l'accueil que j'y ai reçu et la disponibilité de tous ont grandement contribué à l'enthousiasme et au plaisir que j'ai éprouvés à m'impliquer dans mon travail.

Merci à Perrine pour son accueil étroit lors de mes multiples séjours parisiens. Merci à mon pôpa pour avoir supprimé tant de virgules en trop dans mon introduction ! Je tiens à remercier mes parents qui m'ont toujours encouragée et m'ont fait confiance, même quand mes choix paraissaient osés.

Pour finir, merci à Pascal. Tu es bien placé pour comprendre les hauts et les bas par lesquels je suis passée au cours de ces trois années. Merci d'avoir toujours été présent, d'avoir su trouver les mots justes dans les moments difficiles. Et merci aussi pour ton soutien vis-à-vis de mes projets futurs !

ABREVIATIONS

5-HT = sérotonine	EE = environnement enrichi
ACh = acétylcholine	EEG = électroencéphalographie
AChE = acétylcholine estérase	ES = environnement standard
AHP = after-hyperpolarizing, ou après-hyperpolarisation	FH = formation hippocampique
BDB = bande diagonale de Broca	GABA = acide γ amino-butyrrique
BDBv = bande diagonale de Broca verticale	GAD = glutamate acid decarboxylase, ou décarboxylase de l'acide glutamique
BDNF = brain-derived neurotrophic factor, ou facteur neurotrophique issu du cerveau	GD = gyrus denté
BSA = bovine serum albumine, ou albumine sérique bovine	HPC = hippocampe
CA = corne d'Ammon	IAR = immunoautoradiographie
CCA = cortex cingulaire antérieur	IL = cortex infralimbique
CCK = cholécystokinine	IM = index de modulation
CCP = cortex cingulaire postérieur	<i>Im</i> = <i>lacunosum moleculare</i>
CE = cortex entorhinal	LTD = noyau latérodorsal
CEM = cortex entorhinal médian	LFP = local field potentials, ou potentiels de champ locaux
CMP = cortex moteur primaire	MA = moyennement âgé
CPF = cortex préfrontal	NBM = noyau basal magnocellulaire
CPFm = cortex préfrontal médian	ND = objet non déplacé
CRS = cortex rétrosplénial	NGF = nerve growth factor, ou facteur de croissance nerveuse
CS = collatérales de Schaffer	NPP = noyau pédonculopontin
CSD = current-source density, ou densité de source de courant	O-LM = <i>oriens – lacunosum moleculare</i>
CSP = cortex somatosensoriel primaire	<i>or</i> = <i>oriens</i>
dB = décibel	PLT = potentialisation à long-terme
D-NP = objet déplacé « nouvelle position »	PrL = cortex prélimbique
D-R = objet déplacé « remplaçant »	PV = parvalbumine
ECoG = électrocorticographie	pyr = pyramidale
	<i>rad</i> = <i>radiatum</i>
	REM = rapid eye-movement sleep, ou sommeil paradoxal

SD = striatum dorsal

SDL = striatum dorsolatéral

SDM = striatum dorsomédian

SL = sommeil lent

SLat = septum latéral

SM = septum médian

Som = somatostatine

SP = sommeil paradoxal

SUB = subiculum

SuM = noyau supramamillaire

SWS = slow waves sleep,
ou sommeil à ondes lentes

VAcHT = transporteur vésiculaire de
l'acétylcholine

VGLUT = transporteur vésiculaire du
glutamate

VIAAT = transporteur vésiculaire d'acides
aminés inhibiteurs

VP = voie perforante

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
INTRODUCTION GENERALE	3
I) L'HOMME ET LE VIEILLISSEMENT COGNITIF	5
1) <i>Définition du vieillissement</i>	5
2) <i>Etude du vieillissement chez l'Homme</i>	5
3) <i>Conséquences du vieillissement sur les fonctions cognitives</i>	7
A) Vieillessement et fonctions exécutives	7
B) Vieillessement et attention	8
C) Vieillessement et mémoire	8
D) Vieillessement et mémoire spatiale	10
4) <i>Notion de vieillissement cognitif réussi</i>	12
A) Théorie de la « réserve »	12
B) Théorie du « maintien cérébral »	14
5) <i>Facteurs de promotion du vieillissement cognitif réussi</i>	15
A) Facteurs génétiques	15
B) Facteurs environnementaux	16
a) Influence d'un style de vie actif sur les performances cognitives des sujets âgés	16
b) Mécanismes sous-tendant le vieillissement cognitif réussi	19
c) Un moment optimal d'intervention?	21
II) LE MODELE DU RAT AGE	23
1) <i>Vieillessement et mémoire spatiale chez le Rat</i>	24
A) Vieillessement et navigation spatiale	24
B) Vieillessement et détection du changement spatial	27
2) <i>Variabilité interindividuelle</i>	31
III) IMPACT DU VIEILLISSEMENT SUR LES SUBSTRATS NEUROBIOLOGIQUES DE LA MEMOIRE SPATIALE	33
1) <i>Neuroanatomie de la mémoire spatiale</i>	33
A) Structures impliquées dans la mémoire spatiale	33
a) Navigation spatiale dirigée vers un but	33
b) Détection du changement spatial	35
B) Cellules spécialisées dans le codage de l'espace	35
C) Formation hippocampique	36
a) Description	36
b) Afférences hippocampiques	39
D) Particularité du champ CA1 hippocampique	41
E) Effet du vieillissement sur le circuit de la mémoire spatiale	42
a) Connectivité hippocampique	43
b) Neuroplasticité, neurogenèse et facteurs neurotrophiques	46
2) <i>Mémoire spatiale et activités oscillatoires</i>	48

A) Description des activités oscillatoires	48
B) Rôle de l'activité oscillatoire dans la communication neuronale	49
C) Oscillations thêta (θ) et gamma (γ) hippocampiques et leur couplage	50
a) Description	50
b) Genèse de l'oscillation θ	54
c) Genèse des oscillations γ et du couplage θ - γ	58
d) Fonctions.....	61
D) Effet du vieillissement sur l'activité oscillatoire hippocampique	67
3) <i>Mémoire spatiale et système de neurotransmission cholinergique</i>	69
A) Anatomie de l'innervation cholinergique cérébrale.....	69
B) Acétylcholine et mémoire	70
C) Acétylcholine et activité oscillatoire hippocampique.....	72
D) Effet du vieillissement sur la neurotransmission cholinergique	73
4) <i>Mémoire spatiale et sommeil</i>	74
A) Le sommeil chez le Rat	74
B) Sommeil et mémoire.....	75
C) Vieillesse, sommeil et mémoire.....	77
IV) ENRICHISSEMENT DES CONDITIONS DE VIE ET VIEILLESSE COGNITIVE	81
1) <i>Protocoles d'enrichissement</i>	81
A) Composition des cages d'enrichissement	81
B) Espèce, souche et sexe des animaux.....	82
C) Hébergement des animaux contrôles	83
D) Aspects temporels de l'enrichissement	83
2) <i>Impacts de l'hébergement en EE</i>	85
A) ... sur les performances spatiales	85
B) ... sur les substrats neurobiologiques de la mémoire spatiale	88
a) Connectivité et plasticité des structures de la mémoire spatiale.....	88
b) Activité oscillatoire hippocampique.....	91
c) Système cholinergique	91
d) Cycle veille-sommeil.....	92
3) <i>Un moment optimal d'intervention pour un vieillissement cognitif réussi?</i>	94
OBJECTIFS DE MA THESE	97
MATERIELS ET METHODES GENERAUX	101
I) SUJETS ET CONDITIONS D'HEBERGEMENT.....	103
II) DISPOSITIF ET PROTOCOLE GENERAL DU TEST DE NAVIGATION EN PISCINE DE MORRIS (ETUDES 1-3).....	105
1) <i>Dispositif</i>	105
2) <i>Protocole</i>	106
III) ENREGISTREMENTS ELECTROPHYSIOLOGIQUES (ETUDES 2-3).....	107
1) <i>Chirurgie</i>	107
2) <i>Acquisition des données</i>	108

A) Dispositif d'enregistrement.....	108
B) Analyses	109
IV) ANALYSES STATISTIQUES	109
ETUDE 1.....	111
ARTICLE 1	113
ARTICLE 2	119
<i>Abstract</i>	120
<i>Introduction</i>	119
<i>Results</i>	120
Classification of middle-aged rats before differentiated housing	120
Six-months' EE housing in young adult and middle-aged rats induces beneficial effects on place learning	123
Late enrichment has beneficial effects on platform search accuracy, but only in rats unimpaired when middle-aged	127
<i>Discussion</i>	131
Some middle-aged rats display accurate spatial memory whereas others are severely impaired.....	131
Spatial memory is altered in aged rats housed in standard conditions	132
Enrichment favors spatial learning and allows remote memory, but only in aged rats unimpaired when middle-aged	133
<i>Conclusions</i>	134
<i>Materials and methods</i>	135
Subjects and housing conditions	135
Apparatus	135
Procedures.....	136
Classification of middle-aged rats before differential housing	136
Water maze for 24- and 8-months old rats	136
Data collection and analyses	137
Acknowledgements	137
ETUDE 2.....	143
ABSTRACT	146
INTRODUCTION	147
MATERIALS AND METHODS.....	148
<i>Subjects and housing conditions</i>	148
<i>Locomotor activity</i>	149
<i>Morris water maze task</i>	149
<i>Electrophysiological recordings</i>	150
Surgery	150
Sleep-wake recording	150
Spectral analyses	151
<i>Sacrifice and histology</i>	151

<i>Statistical analyses</i>	152
RESULTS	152
<i>Morris water maze</i>	152
<i>Circadian locomotor activity</i>	154
<i>Regression analyses (locomotor circadian activity)</i>	155
<i>Sleep-wake pattern</i>	155
<i>Spectral analyses</i>	158
<i>Regression analyses (sleep-wake pattern)</i>	158
DISCUSSION	160
<i>Spatial learning and memory and their link with locomotor circadian rhythm</i>	160
<i>Modifications of the sleep-wake pattern by lifelong environmental enrichment</i>	161
<i>Absence of modifications of the sleep-wake pattern in aged rats housed until 18 months in enriched conditions</i>	162
<i>Methodological considerations</i>	163
<i>Conclusions</i>	163
ETUDE 3	169
INTRODUCTION	169
MATERIELS ET METHODES	170
<i>Protocole en piscine de Morris</i>	171
<i>Chirurgie</i>	171
<i>Tâche de détection du changement spatial</i>	171
Dispositif	171
Protocole	172
<i>Acquisition des données électrophysiologiques</i>	173
<i>Analyses statistiques</i>	176
<i>Mise à mort et localisation des électrodes</i>	176
RESULTATS.....	177
A) <i>Caractérisation des animaux en piscine de Morris</i>	177
B) <i>Performances des animaux dans la tâche de détection du changement spatial</i>	179
a) <i>Familiarisation à une enceinte vide</i>	179
b) <i>Familiarisation à une configuration d'objets</i>	180
c) <i>Détection du changement spatial</i>	181
C) <i>Activité oscillatoire du champ CA1 hippocampique</i>	184
a) <i>Emplacement des électrodes</i>	184
b) <i>Influence de l'âge et des conditions d'hébergement</i>	185
1. <i>Effet de l'âge</i>	185
2. <i>Effet de l'hébergement en EE</i>	187
3. <i>Effet de l'hébergement en EE chez les animaux âgés</i>	187

c) Modulation de l'activité oscillatoire hippocampique dans la tâche de détection du changement spatial	187
1. Familiarisation à l'enceinte	189
2. Réaction à l'ajout d'objets dans l'enceinte et familiarisation à une configuration d'objets	191
3. Détection du changement spatial	192
4. Vérification en CSD	194
5. Récapitulatif des modifications de l'activité oscillatoire hippocampique durant la tâche de détection du changement spatial	195
DISCUSSION	196
<i>A) Caractérisation des animaux en piscine de Morris</i>	196
<i>B) Performances des animaux dans la tâche de détection du changement spatial</i>	197
a) Familiarisation à l'enceinte et à une configuration d'objets	197
b) Détection du changement spatial	197
<i>C) Activité oscillatoire du champ CA1 hippocampique</i>	199
a) Influence de l'âge et des conditions d'hébergement	199
1. Effet de l'âge chez les animaux hébergés en ES	199
2. Effet de l'hébergement en EE	201
3. Effet de l'hébergement en EE chez les animaux âgés	202
b) Modulation de l'activité oscillatoire dans la tâche de détection du changement spatial chez les animaux jeunes adultes hébergés en ES	203
1. Familiarisation lors de l'exposition répétée à un contexte similaire	203
2. Introduction d'une nouveauté spatiale	204
3. Modifications de l'activité oscillatoire et traitement de l'information spatiale	205
c) Influence de l'âge et de l'hébergement en EE sur la modulation de l'activité oscillatoire dans la tâche de détection du changement spatial	206
ETUDE 4	209
INTRODUCTION	211
MATERIELS ET METHODES	212
<i>Matériel</i>	212
<i>Immunoautoradiographie (IAR)</i>	212
Principe	212
Anticorps	213
Protocole d'IAR	213
Quantification	214
Problèmes techniques	214
<i>Régions d'intérêt</i>	215
<i>Analyses statistiques</i>	215
RESULTATS	216
<i>A) Formation hippocampique</i>	216
a) Innervation glutamatergique	216
b) Innervation GABAergique	217

c) Innervation cholinergique.....	219
B) <i>Striatum dorsomédian et cortex</i>	220
a) Striatum dorsomédian.....	220
b) Régions corticales.....	221
DISCUSSION	223
A) <i>Formation hippocampique</i>	223
B) <i>Striatum dorsomédian et cortex</i>	225
a) Striatum dorsomédian.....	225
b) Régions corticales.....	226
DISCUSSION GENERALE	231
I) PERFORMANCES DE NAVIGATION SPATIALE EN PISCINE DE MORRIS	233
<i>Impact du vieillissement sur les capacités de mémoire spatiale chez l'animal âgé hébergé toute sa vie en</i>	
<i>ES</i>	236
<i>Nature des processus bénéficiant d'un enrichissement tardif et / ou d'un enrichissement pendant toute la</i>	
<i>vie adulte</i>	237
II) SUBSTRATS NEUROBIOLOGIQUES DE LA MEMOIRE SPATIALE.....	238
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	245
CONCLUSION.....	247
PERSPECTIVES.....	249

INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

L'allongement de l'espérance de vie et l'accroissement des situations de dépendance liées au vieillissement ont un impact important sur les situations économique, médicale et sociale dans nos sociétés occidentales. De ce fait, l'identification des facteurs permettant de mieux vieillir constitue une facette importante des recherches actuelles (Depp *et al.* 2010). Le vieillissement s'accompagne, en particulier chez l'Homme, de l'altération des fonctions cognitives. Cependant, une variabilité importante existe entre les individus, chacun ne présentant pas la même susceptibilité face au déclin cognitif lié à l'âge. Ainsi, certains sujets présentent des déficits marqués avec l'âge alors que d'autres présentent des performances similaires à celles des sujets jeunes (p.e. Cabeza *et al.* 2002). Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer cette variabilité importante au sein d'une population de sujets âgés. D'après la théorie de la réserve (Stern 2009), certaines caractéristiques individuelles permettraient le maintien des fonctions cognitives en dépit de l'apparition des dommages cérébraux avec l'âge, par le biais d'un support neuronal plus important (« réserve cérébrale »), d'une utilisation plus efficace des réseaux sous-tendant ces fonctions (« réserve neuronale ») ou de l'utilisation de réseaux alternatifs (« compensation »). La théorie du maintien cérébral propose, quant à elle, que la préservation des fonctions cognitives repose sur l'absence de dommages cérébraux avec l'âge (Nyberg *et al.* 2012). Certains facteurs individuels innés ou liés aux expériences de la vie (p.e. le niveau d'éducation, les activités professionnelles ou de loisirs) semblent pouvoir influencer l'évolution des performances cognitives avec l'âge. Notamment, un style de vie actif sur les plans physique, cognitif et social favorise un moindre déclin cognitif au cours du vieillissement (Small *et al.* 2012). Chez le Rongeur, il est possible de modéliser un style de vie actif par le biais d'un hébergement en « environnement enrichi ». Ce type d'hébergement consiste à maintenir les animaux en groupes sociaux dans des cages de grandes dimensions contenant différents objets de manière à augmenter, par rapport à l'« environnement standard » utilisé habituellement en laboratoire, les stimulations physiques, sociales et cognitives auxquelles sont exposés les animaux (Simpson et Kelly 2011). En accord avec l'influence positive d'un style de vie actif sur les fonctions cognitives chez l'Homme, différentes études ont montré que l'hébergement en environnement enrichi durant toute la vie permet une préservation de la mémoire spatiale chez le Rat âgé (p.e. Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). De manière intéressante, ce bénéfice semble être dépendant de la durée d'enrichissement et de l'âge auquel les animaux y sont exposés, un certain nombre de

données suggérant l'existence d'une période critique pendant laquelle les bénéfices liés à l'hébergement en environnement enrichi permettraient un vieillissement cognitif réussi.

La première partie de mon travail de thèse a ainsi consisté à déterminer la période de la vie adulte durant laquelle une exposition à un environnement enrichi est nécessaire pour promouvoir un vieillissement cognitif réussi. Plus précisément, nous avons évalué si l'enrichissement doit être maintenu jusqu'à la fin de la vie pour permettre la préservation des fonctions cognitives chez l'animal âgé et si l'enrichissement à partir d'un âge auquel les déficits sont déjà apparents permet de les limiter voire de les contrecarrer lorsque l'animal est âgé. Tout au long de mon travail, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la mémoire spatiale qui subit des altérations au cours du vieillissement (Gallagher et Burwell 1989). Dans une deuxième partie, mon travail a consisté à étudier certains mécanismes neurobiologiques à l'origine de cette préservation. Le maintien à long terme de la mémoire dépend en partie de processus ayant lieu durant le sommeil (Rasch et Born 2013). Les modifications de l'architecture du cycle veille-sommeil au cours du vieillissement pourraient sous-tendre certaines altérations des performances cognitives avec l'âge. De plus, la mémoire spatiale repose en partie sur l'activité oscillatoire hippocampique, en particulier sur les oscillations thêta et gamma (McNaughton *et al.* 2006 ; Colgin et Moser 2010 ; Tort *et al.* 2009). Or, une étude récente a mis en évidence une altération de ces activités oscillatoires avec l'âge (Jacobson *et al.* 2013) qui pourrait être à l'origine de certains déficits mnésiques observés chez les sujets âgés. Enfin, les modifications du système de neurotransmission cholinergique avec l'âge pourraient, elles aussi, influencer à la fois l'activité oscillatoire hippocampique et le fonctionnement mnésique (Douchamps *et al.* 2013). Etant donné l'impact du vieillissement sur ces différents substrats de la mémoire spatiale, nous avons évalué l'influence des conditions de vie des animaux sur ces modifications liées à l'âge pour déterminer par quels mécanismes l'hébergement en environnement enrichi promeut un vieillissement cognitif réussi.

1) L'HOMME ET LE VIEILLESSEMENT COGNITIF

1) Définition du vieillissement

Le vieillissement est l'ensemble des processus physiologiques qui modifient la structure et les fonctions d'un organisme vivant et marquent son évolution vers la mort. Il porte plus spécifiquement sur les changements qui ont lieu en fin de vie, en opposition aux mécanismes de maturation qui portent sur les changements ayant lieu plus tôt dans la vie. Chez l'Homme, la plupart des fonctions physiologiques présentent un pic de performance entre 4 et 20 ans (pour revue, voir Cutler et Mattson 2006), après quoi le déclin apparaît plus ou moins progressivement. Une difficulté majeure consiste à dater le commencement du processus de vieillissement. Dans nos sociétés occidentales, l'âge de la vieillesse est classiquement basé sur celui de la retraite, soit environ 65 ans (Organisation Mondiale de la Santé).

Le vieillissement est caractérisé par une diminution des réserves fonctionnelles et une augmentation de la vulnérabilité aux maladies. Il est donc important de distinguer les changements pathologiques (« vieillissement pathologique ») des changements qui peuvent être attribués à l'âge *per se* (« vieillissement normal »). En effet, certaines maladies dont l'occurrence augmente avec l'âge ont longtemps été confondues avec l'expression du vieillissement normal, l'exemple le plus connu étant celui de la maladie d'Alzheimer. Aujourd'hui, l'exclusion des sujets dont les réponses et les comportements liés à l'âge pourraient être contaminés par des processus pathologiques spécifiques est systématique : sont exclus des études sur le vieillissement normal les sujets présentant des maladies somatiques (p.e. cardiaques, pulmonaires, vasculaires, cancers, diabète) ou des maladies neuropsychiatriques (p.e. démence, dépression, maladie de Parkinson).

2) Etude du vieillissement chez l'Homme

Chez l'Homme, les études sur le vieillissement sont construites selon deux grands types méthodologiques : les études transversales *versus* longitudinales. Les études transversales, les plus nombreuses, permettent la comparaison de plusieurs groupes d'âge à un moment donné. Le principal inconvénient de ce type d'études est l'influence que peuvent avoir certaines différences intergénérationnelles (p.e. en termes de nutrition ou d'éducation) sur les résultats,

qui pourraient être confondues avec les effets liés au vieillissement lui-même (pour revue, voir Hofer et Sliwinski 2001). De plus, ces études ne permettent pas de savoir si le déclin observé chez certains sujets est lié au vieillissement normal ou à une pathologie neurodégénérative naissante. Les études longitudinales, quant à elles, permettent l'étude de l'évolution d'un groupe de sujets sur une période longue. De fait, elles sont moins nombreuses car plus difficiles à réaliser. Une sous-estimation des changements liés à l'âge est possible dans ce type d'étude. D'une part, les sujets abandonnant l'étude avant la fin présentent souvent des déficits plus importants que ceux qui restent et qui sont inclus dans les résultats. D'autre part, l'évaluation répétée des mêmes sujets dans certaines tâches peut limiter le déclin des performances. Toutefois cette sous-estimation semble minime (Zelinski et Burnight 1997) et peut être en partie contrôlée (*Fig 1*).

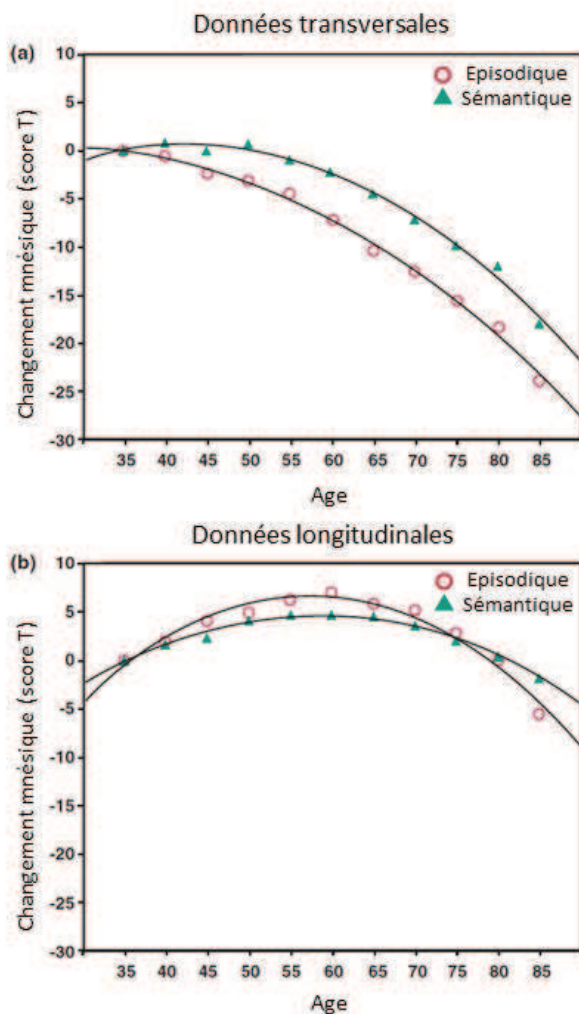


Figure 1. (adaptée de Nyberg *et al.* 2012) : Estimation des changements de mémoire épisodique et sémantique avec l'âge selon les études transversales et longitudinales.

a) Les données transversales révèlent un déclin précoce. **b)** Les données longitudinales indiquent un déclin léger et tardif. **c)** Lorsque les effets des études longitudinales sont contrôlés (rapportés à des sujets n'ayant pas encore été testés), les données longitudinales indiquent un déclin de mémoire épisodique pour les sujets de plus de 60 ans.

Les études longitudinales sont donc considérées comme étant plus fiables pour étudier l'impact du vieillissement. Dans les données de la littérature présentées ci-dessous, j'ai donc privilégié les études longitudinales.

3) Conséquences du vieillissement sur les fonctions cognitives

Depuis le milieu du XIX^e siècle, de nombreuses études ont permis de mettre en évidence l'impact du vieillissement sur les systèmes nerveux périphérique et central, aux niveaux structurel et fonctionnel, et beaucoup se sont intéressées plus particulièrement à son impact sur les fonctions cognitives. En effet, l'altération de ces fonctions avec le vieillissement joue un rôle central sur la qualité de vie des sujets et constitue d'ailleurs le sujet de plainte le plus fréquent chez les personnes âgées. Ce déclin n'affecte pas de manière similaire les différentes fonctions cognitives (voir *Tableau 1*). En effet, certaines fonctions semblent largement préservées (p.e. la mémoire sémantique et la mémoire procédurale) alors que d'autres sont particulièrement affectées avec l'âge (p.e. les fonctions exécutives, attentionnelles et la mémoire épisodique). De plus, l'âge auquel les déficits commencent à apparaître varie en fonction des domaines cognitifs : certains déclinent dès la quarantaine alors que d'autres présentent un déclin beaucoup plus tardif (Zelinski et Burnight 1997).

Il est important de noter que certains processus « pré-cognitifs » peuvent affecter les performances des sujets âgés dans des tâches cognitives. Le vieillissement s'accompagne notamment d'un déclin de la perception sensorielle, qui peut influencer les capacités cognitives des sujets âgés (Lindenberger et Baltes 1994). D'autre part, l'un des marqueurs les plus robustes du vieillissement est le ralentissement de la vitesse de traitement de l'information qui, d'après certains auteurs, serait un facteur critique de l'effet de l'âge sur les fonctions cognitives (Salthouse 1996).

A) Vieillessement et fonctions exécutives

Les fonctions exécutives concernent différentes compétences permettant la planification, l'initiation et le contrôle de comportements complexes en fonction de l'environnement du sujet. D'après Miyake *et al.* (2000), les fonctions exécutives reposent sur trois processus fondamentaux : la capacité d'inhibition des réponses automatiques ou des informations interférentes (informations présentées précédemment qui ne sont plus pertinentes dans la situation actuelle du sujet), la mise à jour des informations en mémoire de travail et la

flexibilité, ou la capacité à changer de stratégie ou de but. Ces fonctions exécutives présentent globalement un déclin au cours du vieillissement, bien que les atteintes ne soient pas tout à fait homogènes. Par exemple, les capacités de flexibilité semblent altérées chez les sujets âgés plus tardivement que les capacités de mise à jour et d'inhibition (Etienne *et al.* 2008 ; Sorel et Pennequin 2008). Les fonctions exécutives étant impliquées de manière critique dans les autres fonctions cognitives telles que l'attention et la mémoire, leur déclin avec le vieillissement pourrait en partie expliquer les déficits observés pour ces autres fonctions cognitives.

B) Vieillessement et attention

Trois formes d'attention sont classiquement décrites : l'attention divisée consiste à traiter différentes sources d'information simultanément ou à effectuer plusieurs tâches simultanément, l'attention sélective consiste à sélectionner les informations pertinentes dans l'environnement et l'attention soutenue porte sur le maintien de la vigilance dans le temps. Ces différentes formes d'attention ne sont pas affectées de façon similaire lors du vieillissement. Ainsi, les capacités d'attention soutenue sont longtemps préservées, et ne semblent décliner que tardivement (à partir de 70 ans). Au contraire, les déficits d'attention divisée apparaissent plus précocement et sont majoritaires lorsque la tâche est complexe. Le déclin des capacités d'attention sélective est, quant à lui, plus controversé et pourrait dépendre du type d'informations utilisées dans la tâche (localisation spatiale, caractéristiques d'objets, *etc* : pour revue, voir Zanto et Gazzaley 2014). Il faut rester vigilant quant à l'interprétation des résultats des études portant sur l'attention car le déclin des capacités de perception sensorielle ou de la vitesse de traitement semble influencer largement les performances des sujets. L'attention est impliquée dans tous les domaines cognitifs, tant que la tâche n'est pas devenue habituelle ou automatique. Des déficits d'attention peuvent donc avoir un impact important sur le fonctionnement dans la vie quotidienne.

C) Vieillessement et mémoire

La mémoire est classiquement décrite comme étant la fonction permettant l'acquisition, le stockage et la restitution d'informations. Elle peut ainsi être scindée en trois étapes que sont 1) l'encodage de l'information, *i.e.* l'assimilation de l'information et son intégration dans une représentation neuronale, 2) la consolidation, qui est l'étape de stabilisation du souvenir permettant sa rétention au cours du temps, et 3) le rappel de l'information, qui consiste en la

réactivation du souvenir stocké. Différents systèmes de mémoire sont sous-tendus pas des réseaux neuronaux distincts et ne présentent pas la même vulnérabilité face au vieillissement.

La **mémoire à court terme**, tout d'abord, consiste en la capacité à stocker sur une période courte (quelques secondes à quelques minutes) et à rappeler des informations qui ne sont plus présentes dans l'environnement. La notion d' « empan mnésique », qui représente la capacité de stockage à court terme, semble préservée jusqu'à un âge très avancé (Nilsson 2003). Un type de mémoire dérivé de la mémoire à court-terme est la *mémoire de travail*. Elle permet, en plus du stockage à court-terme de l'information, la manipulation de cette information pour atteindre un but (Baddeley 1992). Contrairement à la mémoire à court-terme, la mémoire de travail, qui nécessite plus de ressources, subit une altération au cours du vieillissement (p.e. Van der Linden *et al.* 1994). Ces déficits de mémoire de travail avec l'âge pourraient faire suite notamment au ralentissement de la vitesse de traitement (Salthouse 1996) ou au déficit d'inhibition des informations interférentes (Lustig *et al.* 2001) décrits précédemment. Le déclin avec l'âge des capacités de mémoire de travail pourrait à son tour influencer les performances dans d'autres domaines cognitifs, par exemple la mémoire à long-terme (Park *et al.* 1996) et la mémoire spatiale (Cherry et Park 1993), qui requièrent l'intégration et la réorganisation des informations à partir de différentes sources.

En opposition à la mémoire à court terme, la **mémoire à long terme** consiste en la capacité à stocker sur une période longue (quelques minutes à plusieurs années) et à rappeler des informations qui ne sont plus présentes dans l'environnement. Ses différentes composantes que sont les mémoires procédurale, sémantique et épisodique peuvent être distinguées. La *mémoire procédurale*, qui concerne l'acquisition et l'utilisation d'habiletés motrices, est préservée au cours du vieillissement (p.e. Howard et Howard 1989). La *mémoire sémantique*, qui concerne les connaissances générales sur le monde, est globalement préservée et ne semble subir qu'un déclin léger au-delà de 70 ans (Zec *et al.* 2005). Il en va tout autrement de la *mémoire épisodique*. Ce type de mémoire porte sur les souvenirs d'évènements personnellement vécus associés au contexte spatio-temporel dans lequel ces évènements se sont déroulés. Au cours du vieillissement, la mémoire épisodique est celle qui subit les altérations les plus graves (Nilsson 2003). Ces altérations peuvent porter sur les trois étapes nécessaires à la formation du souvenir. Plusieurs études ont montré que le processus d'encodage des informations semble plus superficiel et moins élaboré chez les sujets âgés que chez les sujets jeunes, ce qui conduirait à une trace mnésique moins distinctive, plus similaire aux autres dans le système de mémoire, et donc plus difficile à retrouver (p.e. Mantyla et

Backman 1990). De plus, les sujets âgés semblent se focaliser sur l'information elle-même sans intégrer correctement les aspects contextuels de l'expérience (Spencer et Raz 1995). Des déficits de consolidation mnésique ont également été mis en évidence chez les sujets âgés. En particulier, les processus de consolidation ayant lieu durant le sommeil (voir partie III-4B) semblent affectés avec le vieillissement (Cherdiou *et al.* 2014). En effet, l'amélioration des performances de rappel induite par une période de sommeil qui est observée chez des sujets jeunes n'apparaît pas chez les sujets âgés. Enfin, d'après d'autres auteurs, les déficits de mémoire épisodique pourraient être en partie expliqués par le déclin des capacités de rappel. Des études ont montré que les déficits chez les sujets âgés sont en effet moins marqués dans des tâches de reconnaissance (le sujet doit dire si l'item qui lui est présenté en phase de test a déjà été présenté en phase d'apprentissage ou s'il est nouveau) que dans des tâches de rappel (le sujet doit lui-même rappeler l'item qui lui a été présenté en phase d'apprentissage) (Danckert et Craik 2013), ces dernières nécessitant des ressources plus importantes et des capacités de rappel « auto-initié » qui deviennent moins efficaces avec l'âge. Évidemment, ces différents processus mnésiques sont étroitement liés et les déficits de mémoire épisodique liés à l'âge sont certainement dus à des déficits à plusieurs niveaux de formation de cette mémoire. Globalement, ces altérations aboutissent à une inefficacité du traitement qui conduit à une utilisation plus importante des ressources, à des représentations moins robustes et à des erreurs de rappel plus fréquentes.

D) Vieillessement et mémoire spatiale

La mémoire spatiale consiste en la mémoire des informations relatives à l'espace. Elle permet de rappeler le contexte spatial d'un souvenir et constitue, de ce fait, un élément clé pour la mémoire épisodique qui semble particulièrement affectée par le vieillissement (Chalfonte et Johnson 1996). La mémoire spatiale est également la mémoire des lieux et permet ainsi de rappeler la position d'objets dans un environnement. Cette fonction est altérée chez le sujet âgé lorsqu'elle porte sur un grand nombre d'items (Uttl et Graf 1993). Enfin, la mémoire spatiale est aussi nécessaire à la navigation spatiale, *i.e.* à la capacité du sujet à se déplacer dans son environnement dans la perspective de retrouver un lieu particulier. Pour se faire, plusieurs stratégies de navigation peuvent être utilisées. Dans un premier cas, le sujet peut utiliser sa propre position comme point de référence (référentiel dit « égocentrique »). La position des objets de son environnement est alors estimée par rapport à ses propres position et orientation (p.e. à droite, devant, *etc.*). Dans un second cas, le sujet peut utiliser un système

de référence externe, indépendant de ses propres position et orientation (référentiel dit « allocentrique »), basé sur l'utilisation des indices topographiques de l'environnement. Cette stratégie allocentrique promeut une navigation flexible, qui permet à l'individu d'adapter sa trajectoire suite à une modification partielle de l'environnement où suite au déplacement de sa cible. La navigation allocentrique semble particulièrement altérée avec le vieillissement (Moffat et Resnick 2002). De plus, lorsque les sujets ont le choix entre une stratégie égo- ou allocentrique, alors que les sujets jeunes présentent une distribution similaire pour les deux types de stratégies, les sujets âgés, quant à eux, présentent une nette préférence pour l'utilisation d'une stratégie égocentrique (Rodgers *et al.* 2012). Le déclin des capacités de mémoire spatiale peut ainsi compromettre l'autonomie des sujets âgés (incapacité à retrouver des objets, désorientation dans des endroits familiers, *etc.*).

Domaine cognitif	Fonction cognitive	Impact du vieillissement	Référence
Fonctions « pré-cognitives »	Perception sensorielle Vitesse de traitement	Déclin Déclin	Lindenberger et Baltes (1994) Salthouse (1996)
Fonctions exécutives	Inhibition Mise à jour Flexibilité	Déclin Déclin Déclin tardif	Etienne <i>et al.</i> (2008)
Attention	Attention divisée Attention sélective Attention soutenue	Déclin Résultats controversés Déclin tardif	Zanto et Gazzaley (2014)
Mémoire à court-terme	Mémoire à court-terme Mémoire de travail	Préservation Déclin	Nilsson (2003) Van der Linden <i>et al.</i> (1994)
Mémoire à long-terme	Mémoire procédurale Mémoire sémantique Mémoire épisodique	Préservation Déclin léger et tardif Déclin	Howard et Howard (1989) Zec <i>et al.</i> (2005) Nilsson (2003)
Mémoire spatiale	Mémoire de la localisation spatiale Navigation spatiale	Déclin Déclin	Uttl et Graf (1993) Moffat et Resnick (2002)

Tableau 1 : Récapitulatif de l'impact du vieillissement sur les fonctions cognitives.

Le déclin cognitif lié à l'âge est spécifique de certaines fonctions telles que la mémoire de travail ou la mémoire spatiale alors que d'autres fonctions telles que la mémoire procédurale semblent préservées (voir tableau récapitulatif en *Tableau 1*). Ces altérations cognitives observées au cours du vieillissement jouent un rôle clé dans la qualité de vie des sujets âgés et dans leur autonomie, c'est pourquoi il est fondamental d'en connaître l'étendue et d'en comprendre l'origine.

4) Notion de vieillissement cognitif réussi

Les études portant sur l'impact du vieillissement sur les fonctions cognitives montrent souvent un déclin de ces capacités chez les sujets âgés. Pourtant, les résultats peuvent être très différents au sein même d'une population de sujets dits « âgés », avec une variabilité interindividuelle qui augmente avec l'âge (Christensen *et al.* 1999). Ainsi, certains sujets âgés présentent un déclin marqué alors que d'autres présentent des performances peu ou pas altérées par rapport aux sujets jeunes (p.e. Cabeza *et al.* 2002). Alors que certains facteurs tels que l'âge auquel les sujets sont testés ou les tâches et méthodes employées peuvent expliquer certaines différences, une variabilité interindividuelle importante persiste après contrôle de ces facteurs, et peut alors être interprétée en termes de « qualité » de vieillissement (p.e. Maxson *et al.* 1997). Ainsi, Rowe et Kahn (1987) ont proposé la distinction entre vieillissement « habituel » et vieillissement « réussi ». Différentes théories sont proposées à l'heure actuelle pour rendre compte des différences individuelles liées à l'âge.

A) Théorie de la « réserve »

La théorie de la « réserve » a été initialement proposée pour expliquer le fait qu'il n'existe pas toujours de relation directe entre la sévérité des dommages cérébraux et les troubles cliniques observés chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Cette théorie s'applique également au vieillissement normal et stipule que certaines caractéristiques individuelles permettraient le maintien des fonctions cognitives en dépit des altérations cérébrales apparaissant avec l'âge (Stern 2002). Plusieurs hypothèses concernant la nature de cette réserve sont aujourd'hui proposées (*Fig 2*).

La première hypothèse postule que la réserve, appelée dans ce cas « réserve cérébrale », représente une quantité de substrat neuronal (p.e. la taille cérébrale, le nombre de neurones ou

de synapses) laissant une plus grande quantité de neurones fonctionnels lorsque certains sont endommagés (Satz 1993). D'après cette hypothèse, le seuil de déficit fonctionnel, qui constitue un niveau de dommages au-delà duquel la fonction cognitive est altérée, est identique pour tous les sujets. La capacité de réserve définit donc l'aptitude du sujet à surmonter les dommages cérébraux avant d'atteindre ce seuil. Cette capacité de réserve serait différente en fonction des sujets, ce qui expliquerait la variabilité des performances cognitives avec l'âge (*Fig 2a*). Ce modèle, cependant, ne prend pas en compte la possibilité pour les sujets de réagir différemment face à une atteinte cérébrale.

L'hypothèse de la « *réserve cognitive* » a donc été proposée (Stern 2002). Elle postule que la préservation des fonctions cognitives chez certains sujets âgés reposerait sur une utilisation différentielle des réseaux neuronaux sous-tendant ces fonctions. Ainsi, pour une capacité de réserve cérébrale identique, l'efficacité et la flexibilité d'utilisation des réseaux détermine la préservation des performances cognitives. Dans ce cas, le seuil à partir duquel les déficits cognitifs sont observés dépend de chaque sujet (*Fig 2b*).

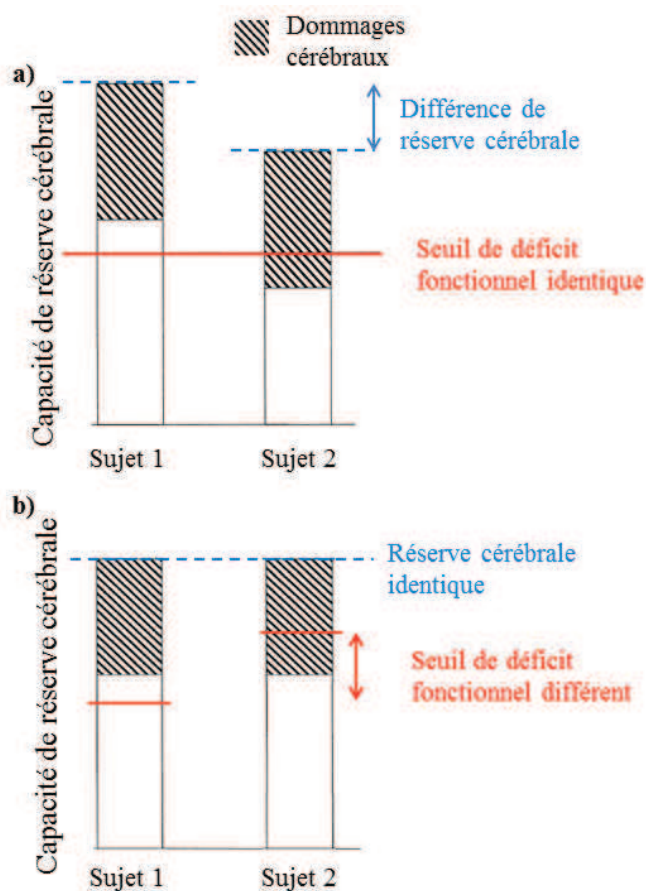


Figure 2. (adaptée de Stern 2002) : Théorie de la réserve.

a) Réserve cérébrale. Chez deux sujets âgés présentant une capacité de réserve cérébrale différente, un dommage cérébral d'une taille donnée résulte en un déficit clinique uniquement chez le sujet 2, dont la capacité de réserve cérébrale est insuffisante pour surmonter le seuil de déficit fonctionnel.

b) Réserve cognitive. Chez deux sujets âgés présentant la même capacité de réserve cérébrale, le sujet 1 est plus apte à surmonter des dommages cérébraux grâce à une réserve cognitive plus importante, par le biais d'une utilisation différentielle des réseaux neuronaux.

Concernant l'hypothèse de la réserve cognitive, deux mécanismes non exclusifs sont proposés (Tucker et Stern 2011). Le premier, appelé « *réserve neuronale* », stipule que les différences interindividuelles seraient liées à un recrutement plus ou moins efficace des réseaux neuronaux. Cette réserve peut être mise en évidence chez le sujet jeune comme âgé. Elle suggère que, pour une tâche d'une difficulté modérée, les sujets possédant une réserve neuronale plus importante présentent une activation cérébrale moindre, indiquant une meilleure efficacité neuronale (Sole-Padulles *et al.* 2009). L'augmentation de l'activation de certains réseaux neuronaux observée lors de l'augmentation de la difficulté de la tâche apparaîtrait chez ces sujets pour des niveaux de difficulté importants, leur permettant d'être performants dans des tâches très difficiles. Au contraire, les sujets possédant une réserve neuronale moindre présenteraient un niveau d'activation cérébrale maximal pour des tâches d'une difficulté inférieure, ne leur permettant pas d'être performants dans des tâches très difficiles. Le deuxième, appelé « *compensation neuronale* », est lié à la capacité de recruter des réseaux neuronaux alternatifs pour pallier à l'altération de ceux qui sont normalement utilisés. Dans ce cas, pour une tâche d'une difficulté donnée, les sujets âgés les plus performants présentent une activation d'aires cérébrales qui ne sont activées ni chez les sujets jeunes, ni chez les sujets âgés peu performants, pour compenser la diminution d'activation des aires normalement mises en jeu (Cabeza *et al.* 2002). Il faut cependant rester vigilant quant à l'interprétation des résultats car l'activation d'aires supplémentaires peut dans certains cas ne pas constituer un mécanisme de compensation mais peut refléter une dé-différenciation des circuits cérébraux (Carp *et al.* 2010).

Ces deux hypothèses (réserve cérébrale et cognitive) ne sont pas mutuellement exclusives. En effet, un nombre important de neurones ou de synapses pourrait limiter l'impact des dommages cérébraux associés au vieillissement, mais aussi faciliter le recours à des circuits neuronaux plus flexibles.

B) Théorie du « maintien cérébral »

Plus récemment, certains auteurs ont proposé la théorie du « maintien cérébral » qui stipule que le maintien des performances cognitives avec l'âge serait dû à une préservation structurelle et fonctionnelle du cerveau (Nyberg *et al.* 2012). Selon cette hypothèse, l'absence de pathologie cérébrale est le meilleur prédicteur d'un vieillissement cognitif réussi. Ainsi, Duzel *et al.* (2011) ont montré, par exemple, qu'au sein d'une population de sujets âgés, ceux

qui présentent une activation cérébrale plus proche de celle des sujets jeunes présentent de meilleures performances dans une tâche de mémoire à long-terme.

Le déclin des capacités cognitives n'est pas une caractéristique systématique du vieillissement. Les théories de réserve et de maintien cérébral ont été développées pour expliquer la variabilité interindividuelle importante observée chez les sujets âgés. La première postule que certaines caractéristiques individuelles permettent le maintien des fonctions cognitives en dépit de l'apparition des dommages cérébraux avec l'âge, *via* un support neuronal important (« réserve cérébrale »), une utilisation plus efficace des réseaux sous-tendant ces fonctions (« réserve neuronale ») ou l'utilisation de réseaux alternatifs (« compensation »). La deuxième théorie propose que la préservation des fonctions cognitives repose sur l'absence de dommages cérébraux avec l'âge (« maintien cérébral »). Ces deux théories ne sont pas mutuellement exclusives, le vieillissement cognitif réussi pouvant reposer sur différents mécanismes de préservation de la structure et / ou de la fonction cérébrale.

L'étude de ces différences individuelles liées à l'âge est fondamentale pour comprendre les mécanismes permettant le maintien des performances cognitives et pour déterminer quels facteurs pourraient favoriser cette préservation.

5) Facteurs de promotion du vieillissement cognitif réussi

La susceptibilité des fonctions cognitives aux effets du vieillissement résulte de l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux auxquels l'organisme est soumis tout au long de sa vie, et qui influencent notamment la santé physique, l'état émotionnel du sujet et ses capacités cognitives.

A) Facteurs génétiques

La plupart des études examinant l'influence des facteurs génétiques sur le vieillissement réussi se sont concentrées sur le critère de longévité. Herskind *et al.* (1996) ont notamment mis en évidence qu'environ 25 % de la variabilité individuelle en matière de longévité peuvent être attribués aux facteurs génétiques. Cependant, la longévité ne fournit pas d'information quant au fonctionnement des sujets, à leur qualité de vie ou leur capacité d'adaptation. Or peu d'études se sont intéressées à l'héritabilité des autres phénotypes reliés

au vieillissement réussi tels que les capacités cognitives. Il est en effet difficile d'établir la contribution génétique dans le vieillissement compte tenu de l'âge tardif de l'apparition des phénotypes qui rend possible une multitude d'influences génétiques et de processus d'adaptation au cours de la vie. Toutefois, des études familiales, de jumeaux ou d'adoption permettent de faire la distinction entre influence génétique et environnementale et des études de génétique moléculaire permettent par la suite d'identifier les gènes spécifiques responsables de certains phénotypes (pour revue, voir Glatt *et al.* 2007). Ainsi, grâce à ces méthodes, une influence significative des facteurs génétiques sur le déclin de différentes fonctions cognitives a été mise en évidence (p.e. McClearn *et al.* 1997 ; Glahn *et al.* 2013). A titre d'exemple, l'allèle ε4 du gène de l'ApoE a non seulement été associé à un plus haut risque de développement de démences de type Alzheimer, mais semble également être associé à un déclin cognitif plus important chez des sujets âgés sains (Bretsky *et al.* 2003).

B) Facteurs environnementaux

Bien que certaines différences individuelles soient liées à des facteurs génétiques, les facteurs environnementaux auxquels le sujet est soumis tout au long de sa vie pourraient également influencer la qualité du vieillissement cognitif (McClearn *et al.* 1997). De nombreuses études ont notamment mis en avant l'importance d'avoir tout au long de sa vie un engagement important dans des activités cognitives, sociales et sportives.

a) Influence d'un style de vie actif sur les performances cognitives des sujets âgés

Concernant l'engagement dans des **activités cognitives**, de nombreuses études ont examiné la relation entre le nombre d'années d'éducation, l'activité professionnelle ou encore les activités de loisirs au cours de la vie et les capacités cognitives des sujets âgés. Les études portant sur la relation entre le niveau d'éducation et le déclin des capacités cognitives avec l'âge ont apporté des résultats contradictoires. Certaines rapportent qu'un haut niveau d'éducation permettrait de ralentir le déclin cognitif chez les sujets âgés (p.e. Farmer *et al.* 1995). C'est notamment le cas lorsque la cognition est évaluée comme un état mental général grâce à l'examen du « Mini-Mental State Examination ». En revanche, d'autres études effectuées sur une période longue avec des analyses statistiques adéquates portant sur des fonctions cognitives spécifiques montrent que, bien que les sujets ayant un haut niveau d'éducation présentent de meilleures performances cognitives que ceux qui ont reçu une éducation moins longue, le déclin cognitif lié à l'âge serait similaire chez les deux groupes de

sujets (p.e. Zahodne *et al.* 2011). Les mécanismes par lesquels l'éducation influence les capacités cognitives du sujet âgé peuvent être divers : d'après certains auteurs (Christensen *et al.* 1997), un haut niveau d'éducation permettrait l'amélioration de certaines habiletés cognitives (p.e. connaissances générales, vocabulaire, connaissance verbale) qui compenserait le déficit dans d'autres domaines cognitifs, expliquant ainsi les performances supérieures des sujets les plus éduqués. D'autres études ont également proposé une association indirecte entre le niveau d'éducation et l'altération des performances cognitives : de longues études favoriseraient un niveau élevé d'occupations intellectuelles au cours de la vie, et limiteraient par ce biais le déclin cognitif lié à l'âge (Parisi *et al.* 2012). En effet, l'engagement durant toute la vie dans des activités cognitives complexes semble améliorer les performances cognitives chez les sujets âgés. C'est le cas notamment des activités professionnelles complexes (Smart *et al.* 2014), dont l'effet bénéfique sur la cognition au cours du vieillissement pourrait être à la fois direct et indirect, en favorisant l'engagement dans des activités complexes de loisirs, qui, elles aussi, limitent le déclin cognitif lié à l'âge (Vemuri *et al.* 2014). Dans l'étude de Smart *et al.* (2014), le niveau de complexité de travail en interaction avec les personnes (en opposition avec le niveau de complexité d'utilisation d'objets ou de données) présente l'association la plus importante avec les performances cognitives des sujets âgés. Ces résultats sont en accord avec certaines études s'intéressant au rôle de l'engagement social sur le vieillissement cognitif.

Les résultats sont controversés quant à l'impact des **activités sociales** sur le déclin cognitif lié à l'âge. Certaines études montrent que les activités sociales peuvent être associées au niveau cognitif à un temps donné, sans pour autant être associées à la rapidité du déclin cognitif (p.e. Green *et al.* 2008). Au contraire, d'autres études mettent en évidence une relation significative entre l'engagement dans des activités sociales et le changement cognitif avec l'âge (p.e. Barnes *et al.* 2004 ; Ertel *et al.* 2008). Ces divergences peuvent être liées à l'âge des sujets (l'impact des activités sociales sur le déclin cognitif semble être plus important pour les sujets de plus de 65 ans), au domaine cognitif étudié ou aux caractéristiques des activités sociales prises en considération (taille du réseau social, fréquence des contacts, *etc.*). Par exemple, certaines activités (p.e. participer à des jeux de cartes) ont une charge cognitive plus importante que d'autres (p.e. rendre visite à des amis). Dans ce cas, la protection liée à un engagement social soutenu pourrait être indirecte, par le biais de son influence sur les activités cognitives ou encore sur les activités physiques, le support social favorisant la participation à des activités sportives (Kouvonen *et al.* 2012).

Un autre facteur protecteur contre le déclin cognitif lié à l'âge est **l'activité physique**. Ainsi, lorsque la cognition est évaluée sur plusieurs années, les sujets participant à une activité physique plus importante présentent un déclin cognitif moindre par rapport aux sujets plus sédentaires, avec une relation « dose-réponse » entre le niveau d'activité physique et le bénéfice cognitif (Yaffe *et al.* 2001). La préservation des fonctions cognitives chez les sujets physiquement actifs pourrait être liée en partie à certains comportements qui semblent différents chez ces sujets par rapport aux sujets sédentaires. Notamment, les sujets engagés régulièrement dans des activités physiques semblent présenter des habitudes alimentaires et des habitudes de sommeil qui favorisent la préservation des fonctions cognitives avec l'âge. En effet, une alimentation saine à l'âge adulte a été corrélée à un moindre déclin mnésique sur 20 ans (Cadar *et al.* 2012). La quantité et la qualité des apports sont des facteurs d'importance : certains aliments particuliers (p.e. fruits, légumes, graines, poisson) sont ainsi associés à de meilleures performances cognitives durant la vieillesse chez les sujets présentant une alimentation globalement moins énergétique (Kesse-Guyot *et al.* 2012 ; pour revue, voir Kieft-de Jong *et al.* 2014). D'autre part, la qualité du sommeil peut être sous l'influence de l'activité quotidienne des sujets : p.e. un programme d'activités sociale et physique quotidiennes permet d'augmenter la quantité de sommeil lent et les performances cognitives de sujets âgés (Naylor *et al.* 2000).

En plus des études se focalisant sur le rôle de l'un ou l'autre de ces facteurs sur la promotion du vieillissement cognitif réussi, d'autres auteurs ont mis en évidence que la **conjonction des activités cognitives, sociales et physiques** a un effet cumulatif de protection contre le déclin cognitif avec l'âge (Bosma *et al.* 2002). De manière intéressante, la causalité entre l'engagement dans ces différentes activités au cours de la vie et le déclin des performances cognitives des sujets âgés n'est pas clairement déterminée : même si de nombreux auteurs ont proposé que le niveau d'activité prédit les performances des sujets âgés, ce niveau d'activité peut lui-même être influencé par les capacités cognitives des sujets à des âges précoces (Smart *et al.* 2014), plus avancés (Bosma *et al.* 2002), ou par le déclin cognitif des sujets âgés (Hultsch *et al.* 1999 ; Small *et al.* 2012). Cette association réciproque peut constituer un cercle vertueux ou un cercle vicieux au cours du vieillissement.

Outre les facteurs de promotion du vieillissement cognitif réussi, d'autres facteurs peuvent avoir une influence négative. C'est notamment le cas de l'exposition chronique à certains composés toxiques (métaux : p.e. Wright *et al.* 2003 ; herbicides et pesticides : Bosma *et al.* 2000) et à certains médicaments (Cadenas et Davies 2000) et de l'exposition

chronique au stress (Aggarwal *et al.* 2014). Certains facteurs somatiques tels que des facteurs de risque cardiovasculaire (Joosten *et al.* 2013) ou la présence d'un syndrome d'apnée du sommeil non traité (Sforza et Roche 2012) sont considérés comme des facteurs susceptibles de majorer le vieillissement cognitif.

Des facteurs génétiques ainsi que de nombreux facteurs environnementaux peuvent influencer le déclin des performances cognitives avec l'âge. Les interactions sociales et la participation à des activités professionnelles et de loisirs stimulantes sur les plans physique et cognitif sont autant de facteurs qui peuvent favoriser une préservation des performances cognitives avec l'âge. Les processus neurobiologiques à l'origine de ce maintien sont, encore à ce jour, en grande partie inconnus. Cependant, un style de vie actif peut avoir une influence directe sur la structure et la fonction cérébrales qui pourrait expliquer le maintien du fonctionnement cognitif avec l'âge.

b) Mécanismes sous-tendant le vieillissement cognitif réussi

Des auteurs ont mis en évidence que l'engagement dans un style de vie actif permet, dans certains cas, le maintien des capacités cognitives, en dépit des altérations qui se mettent en place avec l'âge. Par exemple, Wilson *et al.* (2013b) ont montré une association positive entre la fréquence de participation à des activités cognitives au cours de la vie et les performances cognitives des sujets âgés, quelle que soit leur charge neuropathologique. Une telle préservation de la cognition pourrait notamment se faire par le biais d'une utilisation plus efficace des réseaux neuronaux (p.e. Cabeza *et al.* 2002 ; Lopez *et al.* 2014). Notamment, ces derniers auteurs ont montré que pour des performances identiques dans une tâche de mémoire, les sujets âgés ayant un haut niveau d'éducation et une profession stimulante présentent une synchronisation cérébrale moins importante que les autres.

De nombreuses études ont également mis en évidence que différentes altérations liées au vieillissement peuvent être contrecarrées ou retardées par l'engagement dans des activités au cours de la vie. Par exemple, un haut niveau d'éducation (Noble *et al.* 2012) ou la participation à des activités physiques (Colcombe *et al.* 2006) ou intellectuelles (Valenzuela *et al.* 2008) semblent limiter l'atrophie observée de manière disproportionnée dans certaines régions cérébrales au cours du vieillissement (Raz *et al.* 2005). Ces régions, frontales, striatales et temporales, sont particulièrement impliquées dans les fonctions cognitives qui déclinent avec l'âge. En effet, les fonctions exécutives reposent essentiellement sur les

régions frontales (Bunge *et al.* 2001 ; Kim *et al.* 2011) ainsi que sur le système fronto-striatal (van den Heuvel *et al.* 2003). Le volume du cortex préfrontal a d'ailleurs été associé aux performances de sujets dans des tâches mettant en jeu ces fonctions (Gunning-Dixon et Raz 2003). Les mémoires de travail (Cabeza et Nyberg 2000) et épisodique (Nyberg *et al.* 2000) reposeraient, quant à elles, sur les interactions entre les réseaux des lobes frontal, temporal et pariétal. Ainsi, une association entre les volumes de l'hippocampe (HPC) et les performances mnésiques de sujets âgés a été décrite par Head et Isom (2010). Pendant plusieurs décennies, cette atrophie cérébrale était considérée comme le reflet d'une perte drastique de neurones, responsable des déficits observés au cours du vieillissement. Par la suite, l'amélioration des techniques d'étude, l'augmentation du nombre de sujets et l'exclusion des sujets atteints de pathologies ont remis en question ces résultats. Ainsi, selon de nombreux auteurs (p.e. Terry *et al.* 1987), la diminution de la masse et du volume cérébral observée chez les sujets âgés ne serait pas le reflet d'une mort cellulaire massive mais d'une réduction de la taille des neurones. En effet, la perte neuronale semble limitée (< 10%), notamment dans les régions corticales et hippocampiques (West 1993 ; Pakkenberg et Gundersen 1997), mais différentes modifications morphologiques des neurones peuvent être observées. Parmi elles, des modifications de la morphologie dendritique des neurones ont été mises en évidence chez les sujets âgés. Une régression de l'arbre dendritique est notamment observée dans différentes régions corticales (p.e. Nakamura *et al.* 1985 ; de Brabander *et al.* 1998 ; Mavroudis *et al.* 2012) et sous-corticales (Cruz-Sanchez *et al.* 1995) et peut parfois apparaître à des âges très avancés (gyrus denté : Flood *et al.* 1985). Or, de manière intéressante, les niveaux d'éducation et d'activités intellectuelles au cours de la vie ont été positivement corrélés à la longueur et au nombre de dendrites indépendamment de l'âge des sujets (Jacobs *et al.* 1993).

Des modifications de la substance blanche sont également observées avec le vieillissement et peuvent être limitées par l'engagement dans un style de vie actif. Les altérations de la substance blanche apparaissent majoritairement dans les régions antérieures, particulièrement dans le cortex préfrontal (p.e. Salat *et al.* 2005), entre le cortex préfrontal et le striatum (Bennett *et al.* 2011) et entre le cortex préfrontal et le lobe temporal médian (Metzler-Baddeley *et al.* 2011 ; mais voir Bennett *et al.* 2011). Cette perte d'intégrité de la substance blanche avec l'âge (liée à des modifications de la structure et de l'orientation des fibres) influence les interactions entre ces structures (Andrews-Hanna *et al.* 2007) : elle peut conduire à une diminution de la vitesse de conduction de l'information électrique entre ces régions, voire une déconnexion de certains groupes neuronaux. De telles atteintes de la

substance blanche semblent limitées au cours du vieillissement chez des sujets présentant une activité physique importante (p.e. Gow *et al.* 2012).

c) Un moment optimal d'intervention?

L'une des questions qui reste aujourd'hui en partie non résolue est de savoir s'il existe une période spécifique pendant laquelle ces facteurs jouent un rôle protecteur sur le fonctionnement cognitif du sujet âgé. D'après certaines études, l'intervention la plus efficace est précoce. Par exemple, Fritsch *et al.* (2007) ont mis en évidence une association entre l'engagement dans des activités intellectuelles durant la jeunesse (faculté) et le fonctionnement cognitif des sujets âgés, avec une absence d'association entre les activités professionnelles à l'âge adulte et les performances cognitives tardives. Au contraire, d'autres études mettent l'accent sur l'importance des activités à l'âge adulte (p.e. Reed *et al.* 2011). Les activités de loisirs à l'âge adulte semblent d'autant plus bénéfiques pour le fonctionnement cognitif durant la vieillesse chez les sujets les moins éduqués (Ihle *et al.* 2015). Cette distinction entre l'influence de facteurs précoces ou plus tardifs n'est pas si évidente car des auteurs proposent que les facteurs précoces tels qu'un haut niveau d'éducation pourraient favoriser la participation à diverses activités tout au long de la vie et ainsi contribuer au fonctionnement cognitif durant la vieillesse (Kliegel *et al.* 2004). Enfin, d'après certaines études, l'influence des activités passées ne surpasserait pas les bénéfices liés aux niveaux actuels d'engagement dans des activités (Calero-Garcia *et al.* 2007 ; Wilson *et al.* 2013b) et le bénéfice de l'activité passée semble perdu lorsque cette activité n'est pas maintenue (Richards *et al.* 2003). D'après l'hypothèse « utilisé ou perdu » (« use it or lose it »), la diminution des activités avec l'âge résulte en une atrophie des habiletés et des processus cognitifs (Salthouse 1991). Ainsi, les sujets qui utilisent fréquemment leurs ressources intellectuelles et s'engagent dans des activités physiques et sociales pourraient maintenir ou même améliorer leurs performances cognitives avec l'âge alors que les habiletés qui ne sont pas entraînées seraient perdues (Hultsch *et al.* 1999).

Il semble donc possible d'améliorer ses performances cognitives par le biais d'un engagement dans un style de vie riche en stimulations, même à un âge avancé. Certains programmes ont donc été mis en place chez les sujets âgés de manière à limiter le déclin cognitif. Des programmes de stimulation cognitive (p.e. Tranter et Koutstaal 2008) et physique (p.e. Kramer *et al.* 1999) ont mis en évidence que différents types de stimulation, même sur de brèves périodes, peuvent améliorer les performances cognitives des sujets âgés.

Suite à un entraînement cognitif, des bénéfices peuvent être obtenus sur le long-terme (plusieurs années) mais sont souvent spécifiques du domaine entraîné et ne sont pas transférés aux autres habiletés cognitives (Willis *et al.* 2006 ; pour revue, voir Thompson et Foth 2005). De plus, l'impact de tels entraînements sur le fonctionnement des sujets au quotidien semble modéré (Willis *et al.* 2006). Les formats et les durées d'entraînement ainsi que les domaines cognitifs étudiés étant très variés, il est difficile d'en tirer une conclusion sur le type d'entraînement le plus efficace (pour revue, voir Thompson et Foth 2005). Toutefois, l'association entre l'engagement dans un style de vie actif et le ralentissement du déclin cognitif avec l'âge permet une vision optimiste du vieillissement en suggérant que les sujets, à tout âge, peuvent avoir un certain contrôle des changements de leurs capacités cognitives.

Les études effectuées chez l'Homme permettent ainsi de décrire l'épidémiologie du vieillissement, de définir les domaines cognitifs les plus susceptibles, d'évaluer certains processus associés à ce déclin et de tester de potentielles interventions. Ainsi, elles ont notamment mis en évidence une altération de la mémoire spatiale chez les sujets âgés et une influence bénéfique de l'engagement dans un style de vie actif sur le fonctionnement cognitif au cours du vieillissement.

Cependant, les contraintes éthiques inhérentes à l'étude chez l'Homme limitent l'exploration des mécanismes sous-tendant l'altération des fonctions cognitives observée chez les sujets âgés. Le modèle animal permet alors de tester les hypothèses qui concernent les substrats neuronaux du déclin cognitif lié à l'âge par des manipulations expérimentales et permet ainsi l'identification de stratégies thérapeutiques potentielles.

II) LE MODELE DU RAT AGE

Le Rat est couramment utilisé en neurosciences cognitives compte tenu de la similarité avec l'Homme des structures et systèmes cérébraux impliqués dans les fonctions cognitives. De plus, la simplicité de son étude en laboratoire, en termes d'hébergement, de manipulation et de coût, en fait un excellent modèle pour l'étude des mécanismes neurobiologiques sous-tendant les fonctions cognitives. Concernant l'étude du vieillissement, et plus particulièrement la recherche de facteurs permettant un vieillissement cognitif réussi, le modèle du Rat âgé tient son intérêt de son espérance de vie courte (de 2 à 3,5 ans environ en laboratoire : Holloszy 1992 ; Turturro *et al.* 1999), ainsi que du contrôle de son origine génétique et de l'homogénéité de ses conditions de vie. D'une part, ce contrôle permet d'obtenir des résultats fiables quant aux effets du vieillissement sur le fonctionnement cognitif au cours d'études transversales, qui constituent la très grande majorité des études effectuées sur le modèle animal, de par la faible variabilité intergénérationnelle. D'autre part, l'homogénéité des conditions de vie permet l'étude spécifique de l'impact de certains facteurs environnementaux sur les fonctions cognitives.

Chez le Rat comme chez l'Homme, le vieillissement s'accompagne d'un déclin de différentes fonctions cognitives : les fonctions exécutives (p.e. Barense *et al.* 2002), l'attention (p.e. Harati *et al.* 2011) et certains systèmes de mémoire (p.e. Frick *et al.* 1995) sont particulièrement altérés. Les études chez l'animal ont cependant comme limitation que l'animal ne peut pas décrire directement son expérience, rendant difficile l'étude de certaines fonctions cognitives telle que la mémoire épisodique. Certains paradigmes expérimentaux rigoureux doivent donc être mis en place de manière à s'assurer d'étudier la même fonction entre différentes espèces. Le domaine de la mémoire spatiale fournit un domaine commun entre différentes espèces pour lequel les déficits liés à l'âge sont décrits de manière systématique (Gallagher et Pelleymounter 1988). De plus, bien que la plupart du temps, les tests utilisés chez l'Homme ne puissent pas être employés chez le Rat, certains tests de mémoire spatiale ont pu être développés dans le but d'étudier des processus similaires chez les deux espèces (p.e. Moffat et Resnick 2002). Ainsi, ayant focalisé mon travail de thèse sur l'étude de la mémoire spatiale des animaux, je me limiterai à présenter les résultats de la littérature obtenus dans ce domaine.

1) Vieillesse et mémoire spatiale chez le Rat

Chez le Rat comme chez l'Homme, différentes composantes de la mémoire spatiale peuvent être distinguées. Ainsi, l'évaluation de la mémoire spatiale peut porter notamment sur le rappel de la position d'objets dans un environnement (tâche de détection du changement spatial) ou sur l'évaluation des performances de navigation des animaux (tâches en labyrinthes).

A) Vieillesse et navigation spatiale

L'apprentissage et la mémoire spatiale peuvent être évalués grâce à différents labyrinthes, par le biais d'un comportement de recherche obtenu en utilisant de renforceurs positifs (p.e., accès à la nourriture / à la boisson pour des animaux placés en restriction alimentaire / hydrique, à des endroits particuliers d'un labyrinthe que l'animal doit apprendre à localiser) ou par celui d'un comportement d'échappement obtenu en plaçant l'animal dans un environnement aversif (p.e., de l'eau fraîche). Ces dispositifs permettent d'étudier la capacité de navigation des animaux vers un lieu donné.

L'exemple le plus répandu de ce type de tâche est le test de navigation en piscine de Morris (Morris 1984 ; Vorhees et Williams 2006). Ce test est basé sur un comportement d'échappement obtenu en plaçant l'animal dans une enceinte circulaire remplie d'eau fraîche opacifiée dans laquelle se trouve une plate-forme non visible placée juste sous la surface de l'eau. Dans cette situation aversive, la plate-forme constitue la seule échappatoire de l'animal. L'apprentissage de la localisation de la plate-forme se fait au cours d'essais successifs et se manifeste par une diminution de la distance parcourue pour atteindre cette cible (*Fig 3a et b*). Pendant cette période d'acquisition, et compte tenu de l'absence d'indices locaux marquant la position de la plate-forme, la stratégie la plus efficace pour la retrouver est d'en apprendre la position grâce à une représentation allocentrique de l'environnement, par l'utilisation des différents indices visuels distaux mis à disposition dans la pièce expérimentale. Cependant, des stratégies égocentriques peuvent également être mises en place par les animaux : p.e., nager en cercles concentriques à une certaine distance de la paroi de la piscine leur permet de retrouver la plate-forme rapidement, sans utiliser les indices distaux (Gallagher *et al.* 1993).

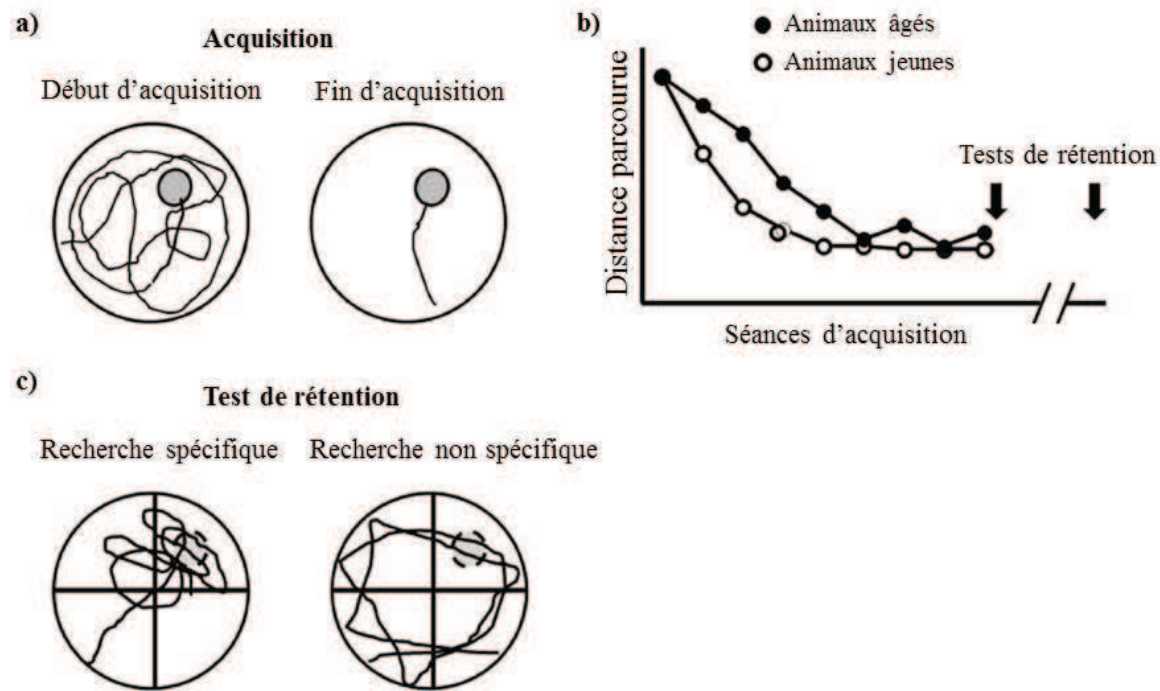


Figure 3. (adaptée de Foster *et al.* 2012) : Tâche de navigation en piscine de Morris. **a)** Illustration schématique de la piscine dans laquelle est placée une plate-forme non visible (rond gris). Exemples de trajectoires empruntées par un animal en début (au hasard) et en fin d'acquisition (trajectoire directe vers la plate-forme). **b)** Courbe d'apprentissage spatial : la diminution de la distance parcourue pour atteindre la plate-forme, qui reflète l'apprentissage de sa position, est plus rapide chez les animaux jeunes que chez les animaux âgés. Des tests de rétention peuvent être effectués à différents délais après la fin de l'acquisition. **c)** Illustration des trajectoires observées durant un test de rétention. La piscine est découpée en quatre quadrants virtuels et la plate-forme (rond gris pointillé) n'est plus disponible. Une recherche spécifique est caractérisée par une trajectoire proche de l'ancienne position de la plate-forme et de nombreux passages sur l'emplacement qu'elle occupait.

La mémoire de la position de la plate-forme est ensuite évaluée grâce à des tests de rétention qui peuvent être effectués à différents délais suite à l'acquisition. La mémoire à long-terme peut ainsi être dissociée en mémoire à long-terme récente (impliquant des délais de rétention de l'ordre de quelques jours) et mémoire à long-terme ancienne (impliquant des délais de rétention de plusieurs semaines voire mois ; Dudchenko 2004). Lors de ces tests, la plate-forme est rendue indisponible et les stratégies de recherche des animaux sont évaluées (*Fig 3c*). Pour l'analyse des résultats, la piscine est découpée en quatre quadrants virtuels, l'ancienne position de la plate-forme étant située au centre de l'un de ces quadrants (appelé « quadrant cible »). Classiquement, plusieurs variables sont utilisées pour mettre en évidence la spécificité de recherche : le nombre de passages sur l'ancien emplacement de la plate-forme

(« crossings »), la distance moyenne de l'animal à la plate-forme et le temps passé dans le quadrant cible, qui peut être comparé au hasard (1/4 du temps total de l'essai) ou au temps passé dans les autres quadrants.

La grande majorité des études a mis en évidence un déficit chez les animaux âgés par rapport aux animaux jeunes adultes, à la fois au cours de l'acquisition et lors des tests de rétention (p.e. Gallagher et Burwell 1989 ; Bergado *et al.* 2011), même si, lorsqu'ils sont surentraînés, les animaux âgés sont capables d'apprendre et de se souvenir de la position de la plate-forme (Rapp *et al.* 1987). Le déficit d'apprentissage de la localisation de la plate-forme pendant la période d'acquisition est reflété par une distance parcourue pour l'atteindre plus importante chez les sujets âgés que chez des sujets jeunes (*Fig 3b*). Le déficit de rétention de la mémoire spatiale est, quant à lui, reflété par une recherche moins spécifique de la plate-forme durant le test de rétention (*Fig 3c, à droite*). Ce déclin des capacités de mémoire spatiale chez le Rat peut apparaître à des âges précoces (p.e. Lindner 1997), bien que le profil de déclin dépende en partie de la souche utilisée comme modèle (Bizon et Gallagher 2003 ; Bizon *et al.* 2009 ; Wyss *et al.* 2000).

L'interprétation des résultats obtenus en piscine de Morris doit être rigoureuse et doit tenir compte des éventuelles modifications comportementales liées au vieillissement telles que des modifications des capacités sensori-motrices ou de la motivation. Notamment, une altération des capacités de déplacement peut être observée avec l'âge. L'étude de la vitesse de nage des animaux permet de déterminer si de telles altérations sont présentes. De plus, l'utilisation en tant que variable d'acquisition de la distance parcourue pour atteindre la plate-forme plutôt que de la latence d'arrivée à la plate-forme permet d'éliminer ce biais. D'autre part, une dégénérescence du système visuel est observée avec l'âge. Certaines souches de rats albinos présentent une acuité visuelle inférieure à d'autres souches de rats pigmentés tels que les Long-Evans (Prusky *et al.* 2002) et sont particulièrement sensibles à ces altérations au cours du vieillissement (Spencer *et al.* 1995). Or il existe une relation importante entre le degré d'altération rétinienne et les performances des animaux âgés en piscine de Morris (Spencer *et al.* 1995). Ainsi, Gallagher et Burwell (1989) ont suggéré que le comportement des animaux lors d'une séance au cours de laquelle la plate-forme est placée au-dessus de la surface de l'eau (« plate-forme visible ») peut fournir des indices concernant leurs capacités sensori-motrices et leur motivation à retrouver la plate-forme. Ainsi, l'absence de différences liées à l'âge lors d'une séance de plate-forme visible (p.e. Rapp *et al.* 1987) suggère que les déficits de performance lors de l'acquisition et du test de rétention sont effectivement des déficits

cognitifs, indépendants de facteurs motivationnels ou sensori-moteurs. En plus de permettre ces vérifications, une séance de plate-forme visible en début d'apprentissage permet à l'animal d'apprendre que la paroi de la piscine ne constitue pas une sortie mais que la seule échappatoire est la plate-forme et lui permet ainsi d'apprendre les aspects procéduraux de la tâche, à savoir nager jusqu'à la plate-forme, y grimper et y rester (Vorhees et Williams 2006).

D'autres tests tels que le labyrinthe radial (p.e. Barnes *et al.* 1980 ; Oler et Markus 1998) ou le labyrinthe de Barnes (Barnes *et al.* 1980) ont également permis de mettre en évidence des déficits de navigation spatiale chez le Rat âgé. Comme dans la piscine de Morris, ces différents tests suggèrent que les animaux âgés privilégient les stratégies égocentriques, alors que les animaux jeunes utilisent préférentiellement des stratégies allocentriques (p.e. Barnes *et al.* 1980). Un avantage de la tâche en piscine de Morris est qu'elle ne nécessite pas de placer les animaux en restriction alimentaire ou hydrique, ce qui constitue un point important lorsque des animaux âgés sont testés.

B) Vieillesse et détection du changement spatial

La capacité de l'animal à mémoriser la configuration de son environnement proximal peut être évaluée grâce à la tâche de détection du changement spatial (Poucet 1989). Cette tâche est basée sur la réactivation spontanée du comportement exploratoire de l'animal lorsqu'une configuration d'objets à laquelle il a été familiarisé est modifiée. Lors de l'exploration d'un champ ouvert, l'animal peut encoder les informations concernant les caractéristiques de l'environnement telles que la nature des objets, leur position dans l'espace et les relations spatiales entre les objets grâce à des indices présents au sein du champ ouvert (un élément rayé est généralement accroché sur l'une des parois). Une diminution rapide de l'activité locomotrice et de l'exploration suggère une familiarisation rapide et un traitement efficace des indices environnementaux ; au contraire, la persistance au cours du temps d'un niveau d'activité intense suggère que l'animal ne se familiarise pas à son environnement ou ne traite pas les informations efficacement. La tâche est ainsi basée sur la diminution de l'exploration des objets avec la familiarisation et la réactivation du comportement exploratoire lorsque la configuration initiale des objets est modifiée (*Fig 4*). Si le changement spatial est détecté, la ré-exploration est plus importante vis-à-vis des objets déplacés que des objets non déplacés (Poucet 1989). Cette réaction suggère qu'une représentation interne de la première configuration des objets ait été formée et comparée à la nouvelle configuration et qu'une différence entre les deux ait été détectée. Le changement spatial peut consister à déplacer un

objet vers une position précédemment inoccupée (ici, objet D ; les tâches qui utilisent ce déplacement sont généralement appelées « objet-position », ou « object-location »). Dans ce cas, le traitement basal de l'information spatiale permet de détecter le changement. Alternativement, un objet peut être déplacé vers une position occupée précédemment par un autre objet (ici, l'objet B prend la place de l'objet D ; les tâches qui utilisent ce déplacement sont généralement appelées « objet à sa place », ou « object-in-place »). Dans ce cas, la mémoire de l'association entre l'objet et sa position au sein de l'enceinte est nécessaire pour détecter le changement de position.

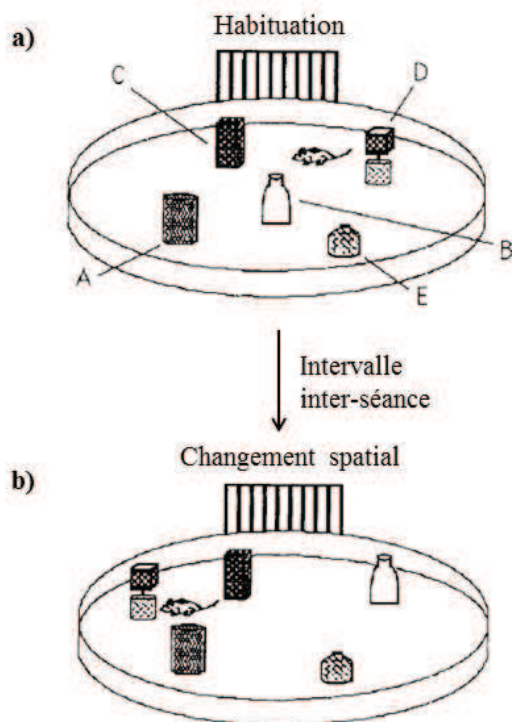


Figure 4. (adaptée de Save *et al.* 1992) : Tâche de détection du changement spatial.

a) La familiarisation aux objets consiste en une ou plusieurs séances d'exposition à une configuration spatiale d'objets (ici objets A à E) dans un champ ouvert. **b)** Suite à un intervalle donné, un changement spatial d'un ou plusieurs objet(s) est effectué, ici les objets B et D. Le temps que l'animal passe à explorer les objets déplacés par rapport au temps qu'il passe à explorer les objets non déplacés reflète sa capacité à détecter le changement spatial.

Cette mémoire spatiale n'est conservée par les animaux que sur un temps relativement court (inférieur à 4 h chez des animaux adultes : Sutcliffe *et al.* 2007). Ceci pourrait s'expliquer par le peu d'intérêt que représente le maintien en mémoire à long terme d'une telle information. Les études évaluant l'effet de l'âge sur les performances des animaux dans cette tâche ont donné des résultats variés (*Tableau 2*). Ainsi, Wiescholleck *et al.* (2013) et Bergado *et al.* (2011) ont montré une préservation des capacités de mémoire chez des rats moyennement âgés et âgés respectivement, alors que Soffie *et al.* (1992), Van Waas et Soffié (1996), Shukitt-Hale *et al.* (2001), Schulz *et al.* (2007) et Maasberg *et al.* (2012) ont, au contraire, mis en évidence un déficit chez des animaux âgés par rapport aux animaux adultes. Les résultats semblent être fortement dépendants de la souche de Rat et de l'âge des animaux (à ma connaissance, les études ont toutes été effectuées sur des animaux mâles, la variabilité liée au

sexe ne pouvant donc pas expliquer les divergences de résultats entre les études), ainsi que de certains paramètres propres au test : forme et dimensions du champ ouvert, nombre et caractères distinctifs des objets, type d'apprentissage en termes de nombre et de durée des séances de présentation et de délai entre la présentation et le changement spatial. De manière importante, la période pendant laquelle les temps d'exploration des différents objets sont mesurés après le changement spatial semble critique : Dix et Aggleton (1999) et Ozawa *et al.* (2011) ont montré que la ré-exploration des objets déplacés est spécifique de la première minute de la séance suivant le changement spatial. Certaines études mesurant l'exploration des objets sur les 2 séances qui suivent le changement spatial (Soffie *et al.* 1992 ; Van Waas et Soffié 1996) prennent en compte non seulement la réaction au changement spatial, mais également la familiarisation subséquente à cette nouvelle configuration. Cette mesure peut donc fausser l'interprétation des résultats.

En plus de la réactivation du comportement exploratoire suite à un changement spatial au sein du champ ouvert, ce test est souvent précédé de plusieurs séances de familiarisation à l'enceinte vide. A cette occasion, les déplacements de l'animal peuvent être quantifiés. La familiarisation à un environnement est caractérisée par une diminution de la locomotion. Cette partie du test permet ainsi d'évaluer l'activité locomotrice de l'animal dans un environnement nouveau et sa capacité de familiarisation à cet environnement, ainsi que d'évaluer la tendance naturelle du rat au comportement de thigmotaxie, qui reflète sa préférence pour la périphérie de l'enceinte et peut être considéré comme une mesure d'anxiété.

Des données contradictoires ont été obtenues concernant l'effet du vieillissement sur la familiarisation à l'enceinte. Alors que certains auteurs montrent une diminution avec le temps de la locomotion similaire chez des animaux âgés et adultes (malgré une locomotion globalement moins importante chez les animaux âgés ; Stemmelin *et al.* 1999), d'autres auteurs observent une diminution de la locomotion moins importante chez les animaux âgés que chez les animaux adultes (Soffie *et al.* 1992 ; Van Waas et Soffié 1996). Ces derniers résultats peuvent suggérer un déficit de familiarisation avec l'âge mais peuvent également être liés à un « effet plancher », car les animaux âgés présentent une locomotion plus faible dès la première présentation à l'enceinte. Par ailleurs, les animaux âgés passent proportionnellement plus de temps en périphérie du champ ouvert que les animaux plus jeunes (Schulz *et al.* 2007 ; Wiescholleck *et al.* 2013), ce qui pourrait suggérer une augmentation de l'anxiété avec le vieillissement.

Souche	Age	Enceinte	Objets	Séances de présentations	Délai	Résultats	Article
Dérivés Wistar	5-6 mois vs 24-27 mois	Carrée, 100 x 100 cm	2 objets identiques	4 présentations 9 min	3 min	Jeunes adultes : ré-exploration de l'OD Agés : déficit : pas de ré-exploration	Soffie <i>et al.</i> (1992)
Dérivés Wistar	4 mois vs 22 mois	Carrée, 100 x 100 cm	2 objets identiques	4 présentations 9 min	3 min	Jeunes adultes : ré-exploration de l'OD Agés : déficit : pas de ré-exploration	Van Waas et Soffié (1996)
Fischer 344	6 mois vs 22-24 mois	Circulaire, ϕ 1 m	4 objets différents	3 présentations 6 min	3 min	Jeunes adultes : ré-exploration non spécifique des OD et OND Agés : déficit : pas de ré-exploration	Shukitt-Hale <i>et al.</i> (2001)
Wistar	3 mois vs 26 mois	Carrée, 60 x 60 cm	2 objets différents	1 présentation 6 min	1 min	Jeunes adultes : ré-exploration des OD Agés : déficit : pas de ré-exploration	Schulz <i>et al.</i> (2007)
Wistar	2 mois vs 24 mois	Carrée, 100 x 100 cm	3 objets différents	3 présentations 5 min	3 min	Jeunes adultes : ré-exploration de l'OD Agés : ré-exploration de l'OD	Bergado <i>et al.</i> (2011)
F344/BN	6 mois vs 25 mois	Carrée, 90 x 90 cm	5 objets différents	3 présentations 6 min	3 min	Jeunes adultes : ré-exploration des OD Agés : déficit : pas de ré-exploration	Maasberg <i>et al.</i> (2012)
Wistar	7-8 semaines vs 7-8 mois	Circulaire, ϕ 80 cm	2 objets différents	1 présentation 3 min	5 min	Jeunes adultes : ré-exploration de l'OD Plus âgés : ré-exploration de l'OD	Wiescholleck <i>et al.</i> (2013)
Sprague-Dawley	4 mois vs 21-22 mois	Carrée, 40 x 40 cm	2 objets identiques	1 présentation 5 min	25 min	Jeunes adultes : ré-exploration de l'OD Agés : déficit : pas de ré-exploration	Trossbach <i>et al.</i> (2014)

Tableau 2 : Récapitulatif des études évaluant l'impact de l'âge sur les performances des animaux dans la tâche de détection du changement spatial chez le Rat mâle.

Différents facteurs pouvant influencer les résultats (cf texte) sont répertoriés.

F344/BN : Fischer 344 / Brown Norway ; OD : objet(s) déplacé(s) ; OND : objet(s) non déplacé(s).

Alors que l'altération avec l'âge des performances de navigation spatiale en piscine de Morris est largement démontrée, l'effet du vieillissement sur les capacités de mémoire de l'association objet-position est plus controversé. Ces deux tâches, évaluant toutes deux la mémoire spatiale des animaux, reposent sur des systèmes relativement distincts. La tâche en piscine de Morris permet l'évaluation de la navigation spatiale et de la capacité des animaux à former et utiliser une carte cognitive grâce à l'utilisation d'indices visuels distaux. Elle est basée sur l'utilisation d'un renforçateur négatif entraînant un comportement d'échappement et permet notamment d'étudier les capacités de mémoire spatiale à long terme. La tâche de détection du changement spatial permet d'évaluer la capacité des animaux à détecter un changement de configuration spatiale de leur environnement proximal. Basée sur un comportement spontané du Rat, elle est le plus souvent utilisée pour tester les capacités de mémoire spatiale à court terme.

2) Variabilité interindividuelle

Comme chez l'Homme, il existe chez le Rat une variabilité interindividuelle importante en ce qui concerne les déficits de mémoire spatiale liés à l'âge. La grande majorité des études s'étant intéressées à cette question ont utilisé la tâche de navigation en piscine de Morris. Différents auteurs ont ainsi divisé une population d'animaux âgés en « sujets âgés aux capacités altérées » (« aged impaired ») et « sujets âgés aux capacités préservées » (« aged unimpaired ») sur la base de leurs performances de navigation (Gallagher *et al.* 2006 ; *Fig 5*).

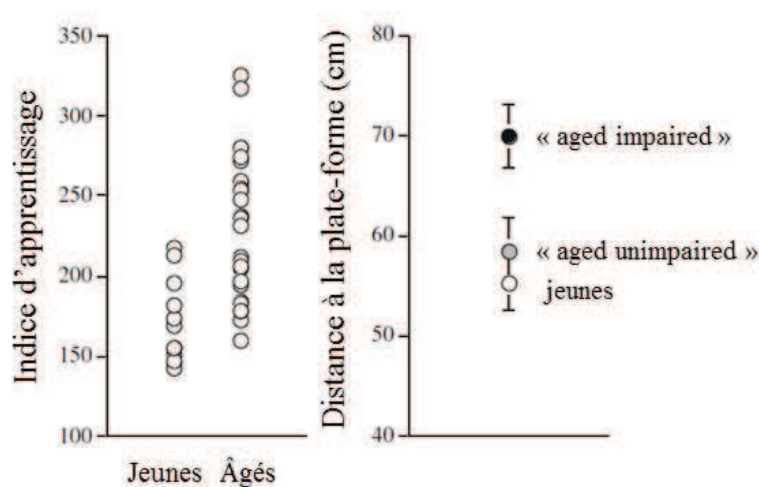


Figure 5. (adaptée de Gallagher *et al.* 2006) : Variabilité interindividuelle liée à l'âge. L'indice d'apprentissage (basé sur la proximité à la plate-forme) est plus variable chez les sujets âgés que chez les sujets jeunes. Les sujets âgés peuvent alors être divisés en sujets âgés aux capacités altérées (« aged impaired ») et sujets âgés aux capacités préservées (« aged unimpaired »), ces derniers présentant des résultats similaires aux sujets jeunes.

En fonction des études, les auteurs n'ont pas toujours établi les classes d'animaux à partir des mêmes mesures comportementales. Certains auteurs classent ainsi les animaux en fonction de leur performances en acquisition alors que d'autres utilisent les performances de rappel. A titre d'exemples, Fischer *et al.* (1992) définissent les animaux aux capacités altérées comme ceux dont la latence d'arrivée à la plate-forme est supérieure à 2 écart-types de la moyenne des animaux jeunes durant les 2 derniers jours d'acquisition alors que Quirion *et al.* (1995) considèrent l'ensemble des séances d'acquisition (sauf le premier jour). Ghirardi *et al.* (1992), quant à eux, divisent les animaux par le biais d'une analyse par cluster (en 2 ou plusieurs groupes de performances) sur la latence d'arrivée à la plate-forme durant les 2 derniers jours d'acquisition. Ces classifications sont d'ailleurs discutables du fait de l'influence de la vitesse de nage sur la latence d'arrivée à la plate-forme, vitesse généralement inférieure chez les animaux âgés par rapport à celle des animaux jeunes. Alternativement, Gallagher *et al.* (1993) utilisent une mesure de proximité de la plate-forme durant des tests de rétention sans plate-forme, effectués au cours de l'apprentissage, et définissent les animaux âgés aux capacités altérées comme ceux dont les performances de rappel sont moins bonnes que 2 écart-types de la moyenne des sujets jeunes. Dans leur étude, Cassel *et al.* (2007) montrent que les animaux âgés aux capacités d'acquisition préservées présentent pourtant un déficit de mémoire de la localisation de la plate-forme à long-terme. Ces derniers résultats montrent bien que les différentes méthodes de classement n'aboutissent pas à la séparation des mêmes populations d'animaux. De plus, ces résultats mettent en évidence que certaines stratégies de navigation égocentriques peuvent être efficaces durant la phase d'acquisition, mais n'induisent pas une recherche spécifique lors des tests de rétention comme l'ont montré Gallagher *et al.* (1993). Outre ces différences de définition des groupes de performance, la séparation des animaux en deux populations n'est pas réellement représentative de la distribution normale des performances au sein d'une population de rats âgés (Lindner 1997).

Bien qu'une altération des performances de mémoire spatiale soit globalement observée chez les animaux âgés dans la tâche de navigation en piscine de Morris, certains auteurs ont mis en évidence une variabilité interindividuelle importante. Ainsi, alors que certains animaux âgés présentent des performances altérées, d'autres présentent des performances similaires à celles des animaux jeunes adultes. De manière importante, ces études ont permis de distinguer des altérations neurobiologiques liées au vieillissement pouvant sous-tendre le déclin de mémoire spatiale des animaux âgés de celles ne pouvant pas en rendre compte (voir partie III-1E).

III) IMPACT DU VIEILLISSEMENT SUR LES SUBSTRATS NEUROBIOLOGIQUES DE LA MÉMOIRE SPATIALE

1) Neuroanatomie de la mémoire spatiale

Les substrats anatomiques de la mémoire spatiale sont similaires chez les modèles animaux et chez l'Homme. Les structures cérébrales impliquées dans ces processus ont été mises en évidence par le biais de l'étude des déficits mnésiques observés chez des patients atteints de lésions cérébrales, puis *via* l'étude comportementale de modèles animaux soumis à des lésions de ces mêmes régions. Différentes structures semblent ainsi jouer un rôle clé dans la mémoire spatiale : les régions de la formation hippocampique (FH), à savoir l'hippocampe (HPC), le gyrus denté (GD) et le subiculum (SUB), ainsi que les régions néocorticales adjacentes du lobe temporal médian (notamment le cortex parahippocampique), le striatum dorsal et les régions néocorticales préfrontales (pour revue, voir Nadel et Moscovitch 1997).

A) Structures impliquées dans la mémoire spatiale

a) Navigation spatiale dirigée vers un but

La navigation spatiale dirigée vers un but nécessite une coordination continue des perceptions, des processus mnésiques et de la planification du comportement. Elle implique donc des systèmes cérébraux multiples et étendus. Comme évoqué précédemment, la stratégie de navigation la plus efficace pour la tâche de navigation en piscine de Morris consiste à utiliser une représentation allocentrique de l'environnement, *i.e.* une représentation de la localisation spatiale des différents éléments de l'environnement et des relations spatiales entre ces éléments ainsi qu'une représentation de sa propre position au sein de cet environnement. Diverses études lésionnelles, pharmacologiques et électrophysiologiques effectuées chez le rongeur ont permis de mettre en évidence le rôle clé de différentes régions cérébrales dans la navigation spatiale allocentrique : la FH (Morris *et al.* 1982 ; Moser *et al.* 2008), un réseau de structures corticales incluant le cortex entorhinal médian (CEM) (Moser *et al.* 2008 ; Brandon *et al.* 2014), les cortex péri- et postrhinal (Aggleton *et al.* 2000), rétrospécial (Miller *et al.* 2014), pariétal postérieur (Calton et Taube 2009) et les aires préfrontales (Granon et Poucet 1995) ainsi que le thalamus antérieur (Warburton *et al.* 1997) et le striatum dorsomédian

(Fouquet *et al.* 2013). Ces différentes régions forment un réseau interconnecté (*Fig 6*) permettant l'intégration de la représentation spatiale avec l'orientation du sujet, la planification d'une trajectoire adéquate orientée vers le but puis l'exécution, par une séquence de mouvements appropriés, de la trajectoire planifiée (cortex pariétal postérieur, aires préfrontales et striatum dorsomédian). Elles permettent ainsi au sujet de naviguer de manière flexible jusqu'à son but (p.e. la plate-forme) et d'adapter sa trajectoire si nécessaire (p.e. un changement d'emplacement de la plate-forme). Par ailleurs, la lésion du septum médian (SM) et de la bande diagonale de Broca (BDB) induit également une altération des performances en piscine de Morris (Hagan *et al.* 1988). Ce complexe situé au niveau de la base du cerveau antérieur projette massivement sur la FH et innerve également le CE (Meibach et Siegel 1977). Ces projections pourraient jouer un rôle clé dans la modulation de l'activité du réseau entorhino-hippocampique et donc participer aux mécanismes qui sous-tendent la navigation spatiale.

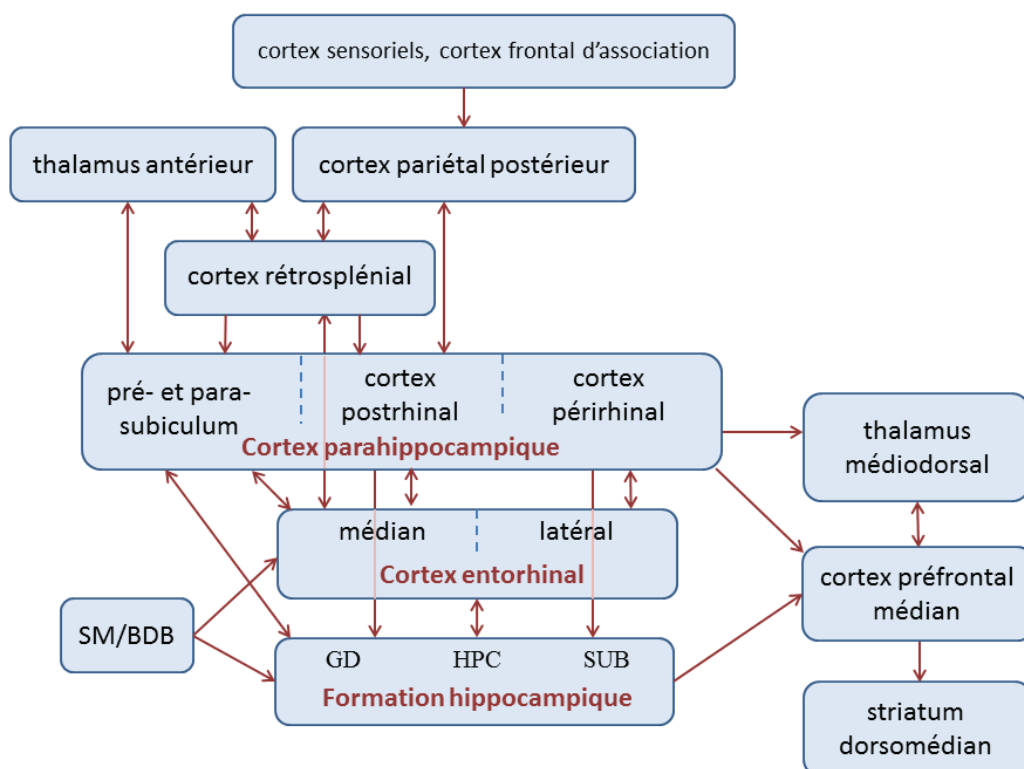


Figure 6. (à partir de Aggleton *et al.* 2000 ; Calton et Taube 2009 ; van Strien *et al.* 2009 ; Miller *et al.* 2014 ; Warburton et Brown 2015) : Schéma des principales connexions anatomiques reliant la formation hippocampique aux aires corticales et sous-corticales impliquées dans la navigation spatiale allocentrique et / ou la détection du changement spatial. BDB : bande diagonale de Broca ; GD : gyrus denté ; HPC : hippocampe ; SM : septum médian ; SUB : subiculum.

b) Détection du changement spatial

De nombreuses structures impliquées dans la navigation spatiale jouent également un rôle important dans d'autres processus mnésiques, notamment lorsqu'ils reposent sur le traitement des représentations spatiales et des relations spatiales entre objets (*Fig 6*). Warburton et Brown (2015) ont récemment recensé les preuves de l'implication de l'HPC ainsi que des cortex préfrontal médian (CPFm) et parahippocampique et du thalamus médiadorsal dans la mémoire de l'association entre un *stimulus* et sa localisation. Les performances de détection du changement spatial sont altérées chez des animaux soumis à une lésion hippocampique (Save *et al.* 1992), une lésion des CEM et CE latéral (CEL) (Van Cauter *et al.* 2013), des cortex périrhinal et postrhinal (Bussey *et al.* 2000), du cortex rétrosplénial (Parron et Save 2004) et du cortex pariétal postérieur (Save *et al.* 1992) ainsi qu'à une lésion du CPFm et du thalamus médiadorsal (Cross *et al.* 2012). Alors que certaines de ces régions cérébrales sont impliquées directement dans le traitement de l'information spatiale (FH, CEM, cortex rétrosplénial), d'autres sont critiques pour le traitement de l'identité des objets (cortex périrhinal : p.e. Aggleton *et al.* 2010), pour la mémoire de l'association des objets avec leur position dans l'espace (CPFm : Cross *et al.* 2012) et avec le contexte environnemental plus global (CEL : Wilson *et al.* 2013a) ou pour les processus non mnésiques de flexibilité comportementale permettant l'orientation du comportement vers les objets déplacés (thalamus médiadorsal : Block *et al.* 2007). Enfin, comme pour la navigation spatiale, la modulation du fonctionnement de la FH par ses afférences du complexe SM/BDB pourrait jouer un rôle critique dans la mémoire de l'association objet-position (Okada et Okaichi 2010).

B) Cellules spécialisées dans le codage de l'espace

Au sein de la région parahippocampique, certaines cellules aux propriétés de décharge spécifiques semblent particulièrement impliquées dans le codage de l'espace. Les cellules de lieu (ou "place cells" : O'Keefe et Dostrovsky 1971) sont présentes dans la FH. Elles codent pour l'emplacement de l'animal dans l'environnement *via* une décharge spécifique à certains endroits particuliers de l'environnement, appelés « champs d'activité ». La FH, par le biais des cellules de lieu, est ainsi capable de fournir une carte spatiale de référence de l'environnement. Les cellules de direction de la tête (ou "head-direction cells" : Taube *et al.* 1990) ont été découvertes dans le post-subiculum et sont aujourd'hui décrites notamment dans le cortex entorhinal (CE), le cortex rétrosplénial, le SUB, le striatum dorsal et certains noyaux

hypothalamiques et thalamiques (pour revue, voir Taube 2007). Elles codent pour l'orientation de la tête par rapport à l'environnement *via* une décharge spécifique dans une gamme d'angles réduite selon l'axe horizontal, quelle que soit la localisation de l'animal dans l'espace. Les cellules de la grille (ou "grid cells" : Fyhn *et al.* 2004) sont présentes dans le CE médian (CEM). Elles codent pour la géométrie de l'environnement, *via* une décharge spécifique à différents points de l'environnement formant un patron répétitif, régulier, en « grille » à travers la totalité de cet environnement. Certaines cellules appelées « conjuguées » (ou "conjunctive cells" : Sargolini *et al.* 2006) sont présentes dans les mêmes structures que les cellules de direction de la tête. Leur profil de décharge consiste en une conjonction de celui des cellules de la grille et des cellules de direction de la tête. Enfin, les cellules de la bordure (ou "border cells" : Solstad *et al.* 2008) se situent dans le CEM, le pré- et le para-subiculum et les cellules de la limite (ou "boundary cells" : Lever *et al.* 2009) ont été mises en évidence dans le SUB. Elles codent pour les contours de l'environnement *via* une décharge spécifique le long d'une ou de plusieurs bordures (celles de la bordure) ou selon une distance et une direction donnée (cellules de la limite) d'une ou de plusieurs bordures de l'environnement. Ces différents types cellulaires pourraient ainsi permettre le codage de différents aspects de la relation spatiale entre le sujet et son environnement. Leurs fonctions exactes et leurs interactions restent cependant à préciser (Brandon *et al.* 2014).

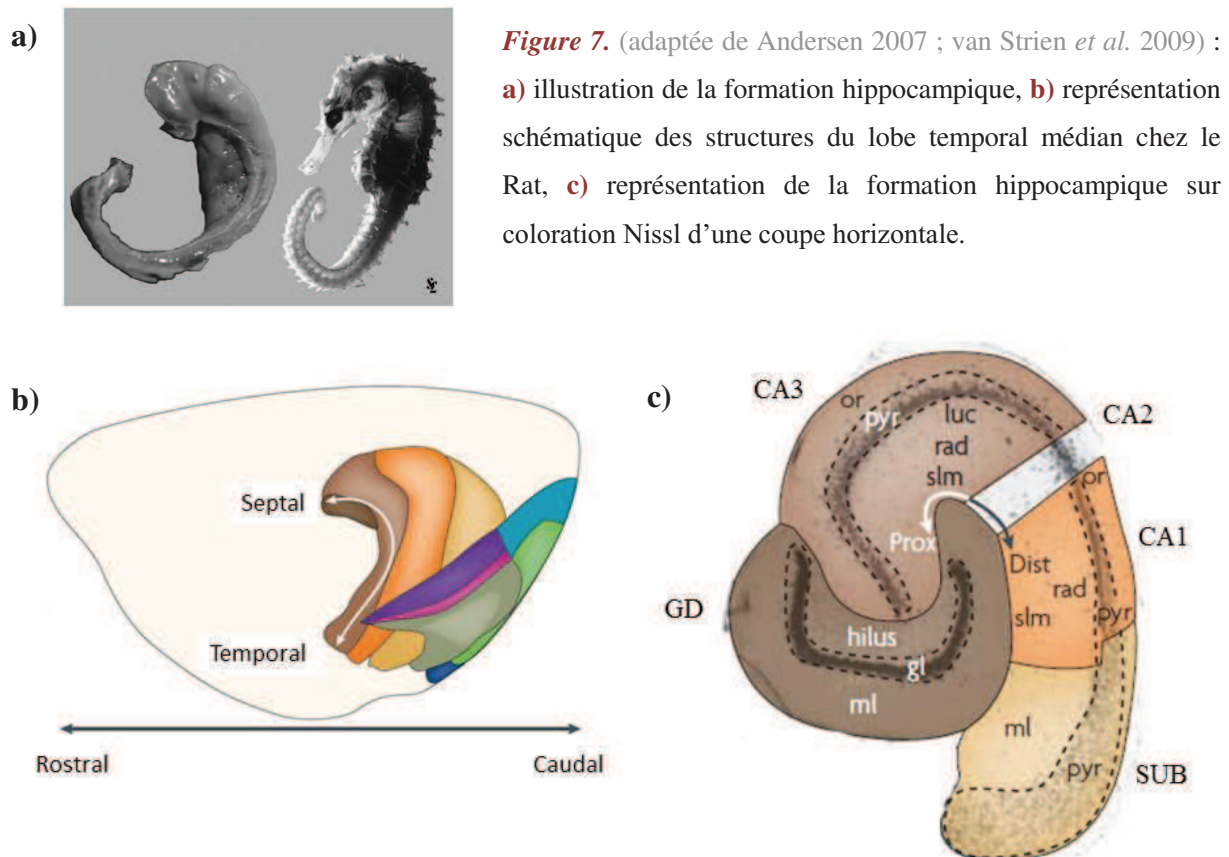
Les déficits de mémoire spatiale observés au cours du vieillissement pourraient être expliqués en partie par les altérations fonctionnelles des cellules de lieu hippocampiques pouvant aboutir à un codage spatial moins précis et moins flexible face à des modifications environnementales (Barnes *et al.* 1983 ; Shen *et al.* 1997 ; Wilson *et al.* 2005a). Notamment, Wilson *et al.* (2003) ont mis en évidence une corrélation entre la rigidité des cellules de lieu chez les animaux âgés et leurs performances en piscine de Morris. Un effet du vieillissement sur les autres types cellulaires décrits ci-dessus n'a à ma connaissance pas encore été démontré.

C) Formation hippocampique

a) Description

La formation hippocampique (dont le nom vient de sa ressemblance avec l'animal ; *Fig 7a*) est une structure bilatérale et symétrique située au sein du lobe temporal médian. De forme incurvée, elle s'étend sur les axes rostro-caudal et dorso-ventral, des noyaux du septum

(base du cerveau antérieur) au lobe temporal (*Fig 7b*). La FH, le complexe subiculaire ainsi que le cortex parahippocampique adjacent peuvent ainsi être divisés selon l'axe septo-temporal (respectivement dorsal et ventral chez le Rat) en portions dorsale, intermédiaire et ventrale réciproquement connectées. Il existe une hétérogénéité fonctionnelle entre les pôles dorsal et ventral de la FH : la partie dorsale joue un rôle critique dans les mécanismes d'apprentissage et de mémoire alors que le pôle ventral serait impliqué majoritairement dans les aspects émotionnels et motivationnels (mais voir Loureiro *et al.* 2012). Ces différentes fonctions sont reflétées par des connexions et des caractéristiques moléculaires particulières (pour revue, voir Fanselow et Dong 2010). Compte tenu de son rôle critique dans la mémoire et l'apprentissage spatial, je me focaliserai sur l'étude de la partie hippocampique dorsale.



Formation hippocampique : gyrus denté (brun foncé), CA3 (brun clair), CA1 (orange), subiculum (jaune) ; Région parahippocampique : cortex périrhinal (violet et rose), postrhinal (bleu clair), entorhinal médian et latéral (verts clair et foncé), pré- et para-subiculum (bleu foncé). CA : corne d'Ammon ; Dist : distal ; gl : couche granulaire ; luc : *stratum lucidum* ; ml : couche moléculaire ; or : *stratum oriens* ; Prox : proximal ; pyr : *stratum pyramidale* ; rad : *stratum radiatum* ; slm : *stratum lacunosum moleculare*.

La formation hippocampique est constituée de l'HPC proprement dit [*i.e.* des cornes d'Ammon 1-3 (CA1 – CA3)], du gyrus denté (GD) et du subiculum (SUB) (*Fig 7c*). Cette structure allocorticale est composée de 3 couches. La couche profonde contient essentiellement des fibres afférentes et efférentes ainsi que des interneurons. Cette couche est appelée *stratum oriens (or)* dans les cornes d'Ammon et hile dans le GD. Adjacente à cette couche superficielle polymorphe se situe la couche cellulaire composée essentiellement des cellules excitatrices principales de la FH ainsi que d'interneurones. Cette couche est appelée pyramidale (*pyr*) dans les CA et granulaire dans le GD. La couche la plus superficielle est composée d'interneurones, de fibres afférentes ainsi que des dendrites apicales des cellules principales. Appelée couche moléculaire dans le GD, elle est divisée en plusieurs couches dans les CA : les *strata radiatum (rad)* et *lacunosum moleculare (lm)*. Dans CA3, une couche supplémentaire se situe entre les *strata pyramidale et radiatum*, la *stratum lucidum*.

La population neuronale de la FH est constituée essentiellement de cellules principales excitatrices de projection. Les interneurons, représentant 10% des neurones hippocampiques, peuvent être catégorisés (au moins 21 classes dans le champ CA1 : Klausberger et Somogyi 2008) en fonction de leur distribution laminaire, de leur anatomie, de leurs cibles, de leurs caractéristiques neurochimiques ainsi que de leurs propriétés oscillatoires. Ils sont organisés en réseau inhibiteur permettant de contrôler et de réguler l'activité des cellules pyramidales.

Selon le modèle standard de la « voie trisynaptique » hippocampique (*Fig 8*), le GD constitue l'entrée principale de la FH. Il reçoit les informations du CE par le biais de la voie perforante, et les transmet au champ CA3 (et CA2) *via* les fibres moussues. Avant de projeter hors du champ CA3, les neurones pyramidaux de cette région se ramifient pour former des collatérales de récurrence innervant à la fois d'autres cellules pyramidales et des interneurons au sein-même du champ CA3 (Amaral et Witter 1989). CA3 projette également vers CA1, et constitue l'entrée majeure de ce champ hippocampique. Cette innervation excitatrice est en partie ipsilatérale, *via* les collatérales de Schaffer, et en partie contralatérale, *via* la voie commissurale. Elle cible principalement les *strata radiatum* et *oriens* du champ CA1 (Amaral et Witter 1989). CA1 projette à son tour sur le SUB, considéré comme la sortie de la FH. Ce circuit est évidemment plus complexe, notamment de par l'existence de nombreuses projections réciproques au sein de la FH, de CA3 vers le GD, de CA1 vers CA3, du SUB vers CA1 (pour revue, voir van Strien *et al.* 2009).

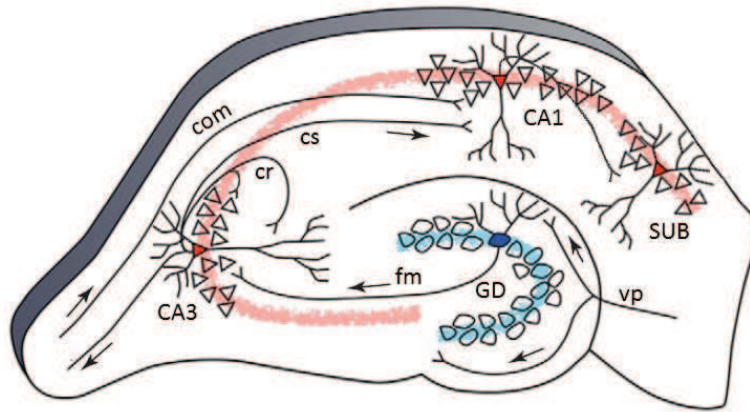


Figure 8. (adaptée de Yassa et Stark 2011) : Schéma de la voie trisynaptique hippocampique (cf texte). com : voie commissurale, cr : collatérales de récurrence, cs : collatérales de Schaffer, fm : fibres moussues, vp : voie perforante.

b) Afférences hippocampiques

La FH dorsale est en relation étroite avec différentes structures néocorticales de la région parahippocampique. Le CE constitue le relai principal entre la FH et de nombreuses aires néocorticales. Les autres régions parahippocampiques (cortex postrhinal, périrhinal, présubiculum et parasubiculum) sont également, dans une moindre mesure, en relation directe avec la FH (Furtak *et al.* 2007 ; Kohler 1985 respectivement). Enfin, elle reçoit également des projections directes de certaines structures sous-corticales telles que le thalamus (Wouterlood *et al.* 1990), les septum médian (SM) et latéral (SLat) et la partie verticale de la bande diagonale de Broca (BDBv) (Meibach et Siegel 1977).

Connexions septo-hippocampiques

Le complexe SM/BDBv, situé au niveau de la base du cerveau antérieur, constitue l'entrée sous-corticale principale de la FH et innerve également le CE (Meibach et Siegel 1977), par le biais de fibres cholinergiques, ciblant principalement les cellules pyramidales, mais aussi les interneurons (FH : Mesulam *et al.* 1983 ; CEM : Alonso et Kohler 1984), de fibres GABAergiques, innervant principalement les interneurons de la FH (Freund et Antal 1988 ; mais voir aussi Sun *et al.* 2014) et du CEM (Gonzalez-Sulser *et al.* 2014), et de fibres glutamatergiques ciblant les cellules pyramidales (FH : Colom *et al.* 2005 ; Huh *et al.* 2010 ; CEM : Manns *et al.* 2001). De plus, la majorité des neurones cholinergiques et GABAergiques ont la capacité de co-synthétiser et de libérer du glutamate (Gritti *et al.* 2006). La cible principale du complexe SM/BDBv est la *stratum or* du champ CA3. Le champ CA1 reçoit une innervation moins dense, également au niveau de la *stratum or* essentiellement.

Un retour indirect de la FH vers le complexe SM/BDBv existe par le biais d'une projection des cellules pyramidales de l'HPC vers le septum latéral (SLat) qui, lui, innerve le SM

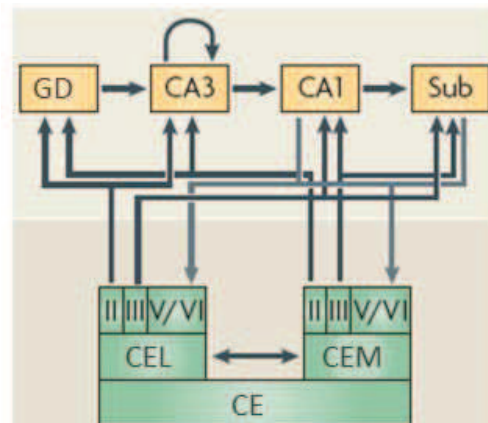
(Leranth et Frotscher 1989 ; Swanson et Cowan 1979). Cependant, ces projections du SLat vers le SM semblent peu nombreuses (Leranth *et al.* 1992). D'autres projections directes de certains neurones GABAergiques de l'HPC vers les cellules GABAergiques, et en moindre mesure cholinergiques, du complexe SM/BDBv ont également été décrites (Toth *et al.* 1993 ; Meibach et Siegel 1977 ; Leranth et Frotscher 1989). La modulation de l'activité de la FH par le complexe SM/BDBv est critique pour la mémoire spatiale, notamment par le biais de la régulation du rythme θ (voir partie III-2C).

Connexions entorhino-hippocampiques

Les afférences principales de la FH proviennent du CE et sont organisées de façon topographique. Ainsi, la partie dorsale du CEM innerve spécifiquement la partie dorsale de la FH et la partie ventrale du CEM innerve spécifiquement la FH ventrale (Fyhn *et al.* 2004). Le CEM est la cible d'afférences provenant des cortex occipital et pariétal et permet le relai des informations visuospatiales au niveau dorsal de la FH *via* la voie perforante (Fig 9). Il existe deux systèmes principaux de projections excitatrices : un premier système de projection, principalement ipsilatéral, prend son origine dans les cellules de la couche II et cible la couche moléculaire du GD et les dendrites distales des cellules pyramidales dans la *stratum lm* de CA3. Un deuxième système de projection, bilatéral, prend son origine dans les cellules de la couche III du CE et cible les dendrites distales des cellules pyramidales de CA1 dans la *stratum lm*, ainsi que le SUB (Steward et Scoville 1976). Cette dernière est appelée voie temporo-ammonique.

En retour, la FH projette massivement vers les couches profondes et les couches plus superficielles du CEM *via* le champ CA1 et le SUB (Cenquizca et Swanson 2007). En plus des connexions glutamatergiques entre le CEM et la FH, il existe une connexion GABAergique réciproque entre ces deux structures. Certains neurones GABAergiques de projection du CEM innervent principalement les neurones GABAergiques de la FH, et vice versa (Germroth *et al.* 1989 ; Melzer *et al.* 2012).

Figure 9. (adaptée de van Strien *et al.* 2009) : Représentation schématique des connexions entorhino-hippocampiques excitatrices selon le modèle standard de la voie trisynaptique (cf texte).



Les entrées entorhino-hippocampiques impliquent à la fois des cellules dont l'activité est modulée spatialement (cellules de la grille, cellules de direction de la tête et cellules de la bordure) et d'autres cellules dont l'activité est non spatiale. Une convergence importante de ces différents types d'informations traités par le CE arrive dans la FH et pourrait être à l'origine de l'activité spatiale sélective des cellules de lieu hippocampiques (Zhang *et al.* 2014).

D) Particularité du champ CA1 hippocampique

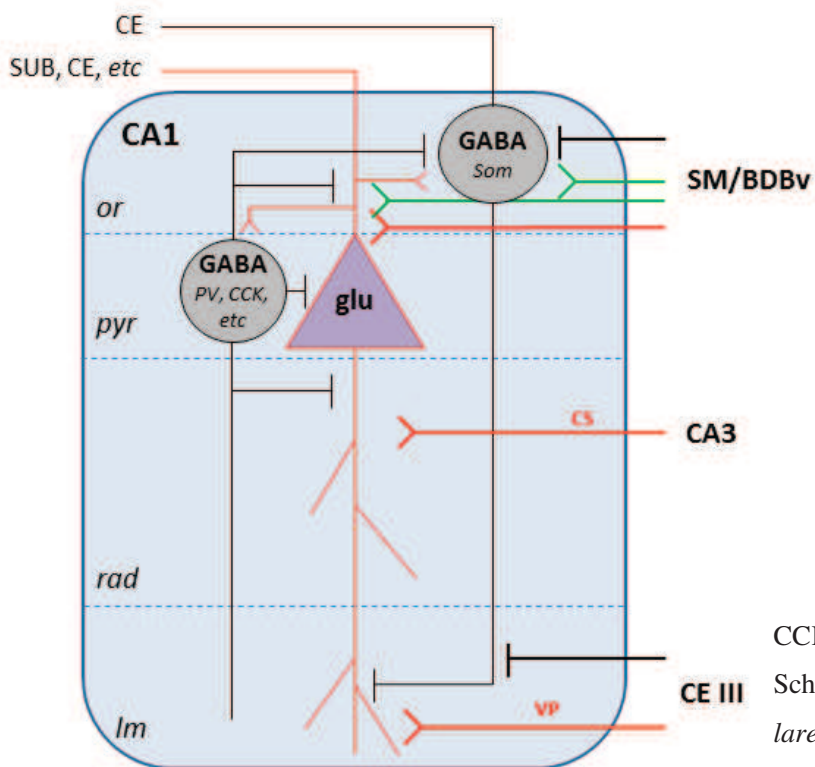


Figure 10. : Illustration schématique de la connectivité du champ CA1 hippocampique. Le réseau de cellules pyramidales et d'interneurones du champ CA1, ainsi que les sorties vers le CE et le SUB sont représentés en traits fins. Les entrées à partir du CE, de CA3 et du complexe SM/BDBv sont représentées en traits épais. Les projections glutamatergiques sont en rouge, GABAergiques en noir et cholinergiques en vert.

CCK : cholécystokinine, CS : collatérales de Schaffer, Im : *stratum lacunosum moleculare*, or : *stratum oriens*, pyr : *stratum pyramidale*, PV : parvalbumine, rad : *stratum radiatum*, som : somatostatine, VP : voie perforante.

Le champ CA1 hippocampique est suggéré comme étant une structure principale du traitement de l'information spatiale. Tout d'abord, la nouveauté spatiale induit une augmentation de la fréquence de décharge des cellules de lieu spécifiquement dans CA1 (Larkin *et al.* 2014). De plus, d'un point de vue anatomique, le champ CA1 est la cible d'entrées directes du CEM et du champ CA3 (Fig 10). Des cellules individuelles de CA1, pyramidales et interneurones, sont d'ailleurs la cible de ces deux projections convergentes (Kajiwara *et al.* 2008). Le CEM relaie les informations concernant le contexte environnemental actuel du sujet prenant leur origine dans les aires corticales sensorielles et les

aires d'association. En complément, le champ CA3 hippocampique, par le biais de son réseau auto-associatif de collatérales récurrentes, fournit une information concernant les représentations mnésiques de l'environnement et permet le rappel de l'expérience passée grâce au mécanisme de complétion de pattern (Treves et Rolls 1994). Ainsi, le champ CA1 hippocampique semble critique pour la détection des changements dans l'environnement du sujet de par un rôle de comparateur entre les informations actuelles en provenance du CEM et les prédictions en provenance de CA3 (Fig 11 ; Hasselmo *et al.* 1995).

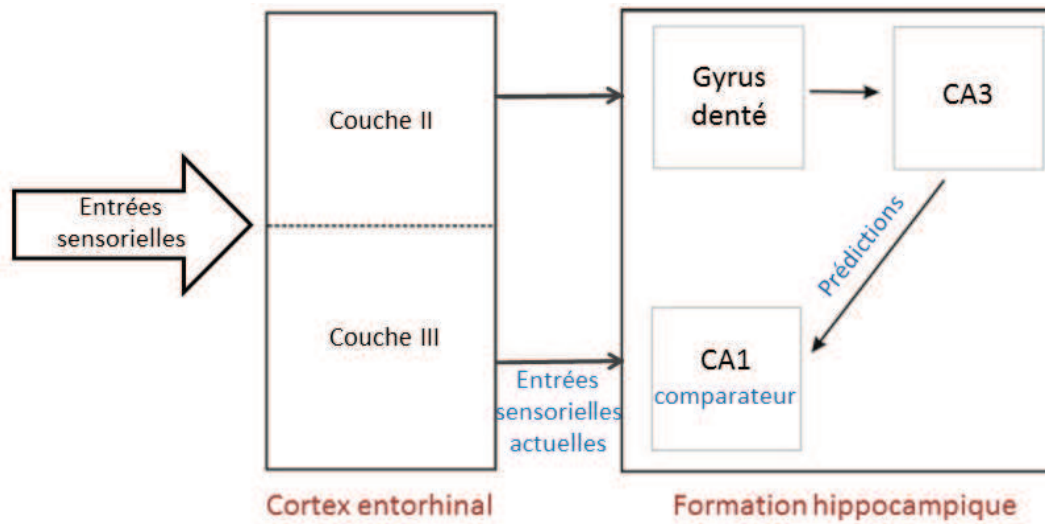


Figure 11. (adaptée de Kumaran et Maguire 2007) : Représentation schématique du champ CA1 en tant que comparateur des entrées sensorielles actuelles en provenance directe du CE et des informations rappelées en mémoire relayées par le GD et le champ CA3.

Etant donné son rôle central dans le traitement de l'information spatiale et la détection de la nouveauté spatiale, mon travail de thèse s'est concentré sur le champ CA1 ; c'est pourquoi je présenterai essentiellement les résultats de la littérature qui concernent cette région hippocampique.

E) Effet du vieillissement sur le circuit de la mémoire spatiale

L'intégrité structurelle globale des structures du lobe temporal médian semble préservée au cours du vieillissement. En effet, des études de stéréologie ont mis en évidence un maintien du nombre de neurones quels que soient l'âge et le statut cognitif des animaux (Rapp et Gallagher 1996 ; Rasmussen *et al.* 1996 ; Rapp *et al.* 2002). En dépit de ce maintien neuronal global, la connectivité et la neuroplasticité hippocampiques sont susceptibles aux effets du vieillissement.

*a) Connectivité hippocampique (Fig 11)*Connectivité intrahippocampique

Connectivité CA3-CA1 : Alors que le nombre de synapses du champ CA1 est préservé au cours du vieillissement (Geinisman *et al.* 2004), une altération fonctionnelle des synapses aux collatérales de Schaffer est observée avec l'âge. En effet, l'amplitude de la réponse post-synaptique du champ CA1 à une stimulation des collatérales de Schaffer est plus faible chez des rats âgés que chez des rats adultes (Barnes *et al.* 2000b). De plus, chez les animaux âgés, l'amplitude de la réponse est positivement corrélée à leurs performances en piscine de Morris (Barnes *et al.* 2000b). Au niveau anatomique, Nicholson *et al.* (2004) ont mis en évidence une diminution de la taille des densités postsynaptiques des synapses perforées dans CA1, spécifiquement chez les animaux âgés aux capacités altérées. Les densités postsynaptiques sont le lieu privilégié d'ancrage des récepteurs glutamatergiques et la diminution de la densité de ces récepteurs au niveau hippocampique (conjointement à l'augmentation des transporteurs vésiculaires présynaptiques du glutamate) a été corrélée aux déficits comportementaux des rats âgés (Menard *et al.* 2015). L'ensemble de ces résultats suggère la présence de synapses silencieuses ou non fonctionnelles chez les animaux âgés déficitaires (Burke et Barnes 2010). La diminution de l'excitabilité des cellules pyramidales de CA1 pourrait également être expliquée par l'augmentation de l'amplitude de l'après-hyperpolarisation (ou « after-hyperpolarizing », AHP), mise en évidence spécifiquement chez les animaux âgés déficitaires en piscine de Morris (Tombaugh *et al.* 2005).

Connectivité du réseau d'interneurones inhibiteurs de CA1 : Les données de la littérature sont controversées quant à l'impact du vieillissement sur le réseau inhibiteur hippocampique. Différentes classes d'interneurones ont été étudiées par le biais de l'expression de diverses protéines spécifiques. Malgré des résultats divergents, dans le champ CA1, la majorité des études rapporte que le nombre de neurones exprimant la somatostatine (Vela *et al.* 2003 ; Potier *et al.* 2006 ; Stanley *et al.* 2012 ; mais voir Miettinen *et al.* 1993) semble particulièrement affecté par l'âge, alors que les neurones exprimant la parvalbumine (PV) seraient plus épargnés (Miettinen *et al.* 1993 ; Potier *et al.* 1994 ; Vela *et al.* 2003 ; Potier *et al.* 2006 ; Stanley *et al.* 2012 ; mais voir Lolova et Davidoff 1992 ; Shetty et Turner 1998). En outre, l'expression de l'enzyme de synthèse du GABA (la GAD, ou décarboxylase de l'acide glutamique) est réduite dans les différents champs de la FH chez les animaux âgés (Shetty et Turner 1998 ; Vela *et al.* 2003 ; Stanley *et al.* 2012). Une altération de l'innervation

hippocampique GABAergique avec l'âge pourrait ainsi être liée à la perte de certains types d'interneurones et / ou à des changements phénotypiques induisant une réduction de la synthèse de GABA par les interneurones (Stanley *et al.* 2012). En accord avec cette diminution d'innervation GABAergique, une diminution de la libération de GABA dans l'HPC (Stanley *et al.* 2012) ainsi qu'une réduction de l'amplitude et de la durée des potentiels post-synaptiques inhibiteurs aux cellules pyramidales de CA1 (Potier *et al.* 2006) ont été mises en évidence chez les rats âgés. Cette réduction de la plasticité des entrées synaptiques GABAergiques aux neurones de CA1 pourrait être due notamment à une altération de l'activation des récepteurs cholinergiques présents sur ces neurones GABAergiques hippocampiques par les fibres afférentes du complexe SM/BDBv (Potier *et al.* 2006).

Afférences hippocampiques

Afférences septo-hippocampiques : Des atteintes des projections septo-hippocampiques ont été rapportées et pourraient contribuer au déclin fonctionnel hippocampique.

Un nombre important d'études s'est focalisé sur l'influence du vieillissement sur les projections cholinergiques septo-hippocampiques. Ces études ont souvent mis en évidence une diminution (plus ou moins importante) du nombre de neurones cholinergiques du complexe SM/BDBv avec l'âge (p.e. Fischer *et al.* 1992 ; Banuelos *et al.* 2013 ; Harati *et al.* 2013 ; mais voir Ypsilanti *et al.* 2008). Cette perte des neurones cholinergiques a été généralement associée au déclin de mémoire spatiale des animaux âgés (corrélation positive entre le nombre de neurones et les performances : p.e. Fischer *et al.* 1992 ; mais voir Banuelos *et al.* 2013). Ces divergences pourraient être liées à la souche, au sexe et à l'âge des animaux, ainsi qu'aux techniques de quantification utilisées. Le vieillissement s'accompagne également d'une altération des mécanismes calciques au niveau des neurones cholinergiques du complexe SM/BDBv, spécifiquement chez les animaux présentant des déficits cognitifs (Murchison *et al.* 2009). De plus, la transmission cholinergique pourrait être compromise par un déclin avec l'âge de la synthèse (p.e. Baxter *et al.* 1999 ; mais voir Ypsilanti *et al.* 2008) et / ou de la libération d'acétylcholine (ACh) par les neurones septo-hippocampiques (Gilad *et al.* 1987) ainsi que par une altération de l'intégrité des récepteurs post-synaptiques muscariniques (Chouinard *et al.* 1995). Cette altération induit une réduction de la transduction du signal cholinergique, corrélée au déclin de mémoire spatiale des animaux (Chouinard *et al.* 1995). Au niveau électrophysiologique, la stimulation des fibres cholinergiques induit une amplitude de réponse plus faible chez les sujets âgés que chez les sujets jeunes dans les différentes régions de la FH (Shen et Barnes 1996). Ces diverses modifications pré- ou

postsynaptiques du fonctionnement cholinergique septo-hippocampique au cours du vieillissement pourraient être critiques pour les mécanismes d'apprentissage et de mémoire (voir partie III-3C).

D'autres études se sont plus particulièrement intéressées à l'impact du vieillissement sur les projections GABAergiques septo-hippocampiques. De manière intéressante, bien que le nombre de neurones GABAergiques ne semble pas affecté dans une population globale de rats âgés (Krzywkowski *et al.* 1995 ; Banuelos *et al.* 2013), ces derniers auteurs ont mis en évidence une augmentation du nombre de neurones exprimant la GAD au niveau du complexe SM/BDBv spécifiquement chez les sujets âgés présentant des déficits de mémoire spatiale (Banuelos *et al.* 2013). Les neurones GABAergiques septo-hippocampiques innervant préférentiellement les interneurons GABAergiques de l'HPC (Freund et Antal 1988), cette augmentation pourrait expliquer en partie l'hyperexcitabilité mise en évidence avec l'âge dans le champ CA3 hippocampique (Wilson *et al.* 2005a). Enfin, des altérations fonctionnelles des neurones GABAergiques du complexe SM/BDBv pourraient également apparaître avec le vieillissement. Notamment, une diminution avec l'âge du nombre de neurones exprimant la PV, protéine de liaison au calcium normalement fortement co-exprimée dans les neurones GABAergiques de projection (Freund 1989), a été démontrée (Miettinen *et al.* 1993 ; Krzywkowski *et al.* 1995). Compte tenu du maintien du nombre de neurones marqués à la GAD, cette réduction pourrait refléter une dérégulation de la signalisation calcique aboutissant à une altération de la fonction synaptique, de manière similaire à ce qui a été démontré dans les neurones cholinergiques.

Afférences entorhino-hippocampiques : Une préservation du nombre de neurones a été démontrée au sein des différentes couches du CE chez les rats âgés, quelles que soient leurs performances de mémoire spatiale (Merrill *et al.* 2001). Alors que les entrées synaptiques de la couche III du CE vers CA1 semblent préservées (Smith *et al.* 2000), plusieurs études ont mis en évidence une perte synaptique aux niveaux du GD et de CA3, recevant les entrées de la couche II du CE (Geinisman *et al.* 1986 ; Adams *et al.* 2010). Cette perte synaptique, reflétée notamment par une diminution des niveaux de synaptophysine, est d'ailleurs associée aux déficits de mémoire spatiale car elle n'apparaît que chez les animaux âgés déficients en piscine de Morris (Smith *et al.* 2000). En outre, Barnes et McNaughton (1980) ont observé une réduction de l'amplitude de la réponse postsynaptique et de la réponse des fibres afférentes suite à la stimulation de la voie perforante. Ces résultats confortent l'hypothèse d'une réduction du nombre de collatérales d'axones afférents au GD. Ces différentes

modifications pourraient refléter une altération de certaines connexions entorhino-hippocampiques en dépit du maintien neuronal global dans ces deux structures. Cependant, certains mécanismes de compensation peuvent exister : d'une part, pour une amplitude donnée de réponse d'une fibre afférente de la voie perforante, la réponse postsynaptique des animaux âgés dans le GD est plus importante que celle des jeunes, ce qui suggère une augmentation de l'efficacité synaptique aux synapses restantes chez les animaux âgés ; d'autre part, le seuil de décharge des cellules granulaires est réduit chez les animaux âgés, permettant le maintien partiel d'une activité neuronale en dépit des pertes synaptiques (Barnes et McNaughton 1980).

b) Neuroplasticité, neurogenèse et facteurs neurotrophiques

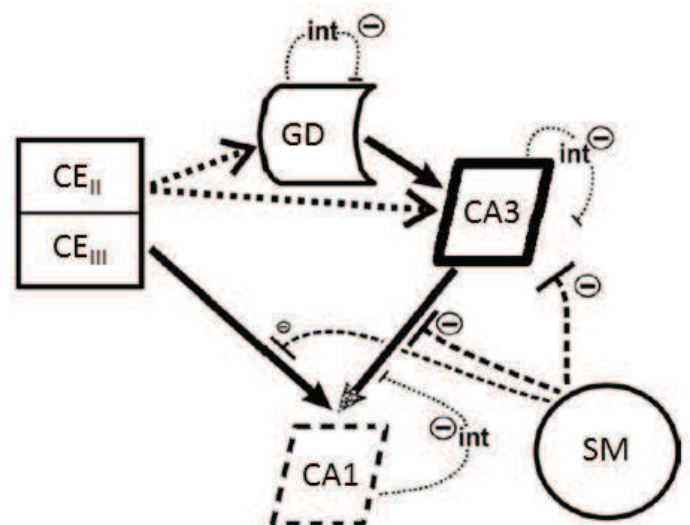
L'augmentation de l'AHP dans le champ CA1, potentiellement liée à une altération de l'homéostasie du calcium (Thibault et Landfield 1996), pourrait interférer avec l'apprentissage spatial en élevant le seuil de décharge des neurones de CA1, et en limitant la potentialisation à long-terme (PLT). Cette PLT constitue l'un des mécanismes sous-jacent des processus d'apprentissage et de mémoire. Le principe de la PLT (Hebb 1949) postule que si deux cellules pré- et post-synaptiques déchargent simultanément, la force de connexion entre ces deux cellules augmente. Ainsi, l'activité coordonnée de deux populations neuronales (plus ou moins éloignées) pourrait permettre un renforcement de la communication entre ces deux populations. L'implication de ce phénomène de PLT dans les mécanismes d'apprentissage et de mémoire a été largement démontrée (pour revue, voir Lynch 2004). Or, des modifications de la PLT ont été mises en évidence avec l'âge au niveau de la FH. Au niveau du champ CA1 hippocampique, un déficit d'induction de la PLT est observé, sous certaines conditions de stimulation, chez les sujets âgés (p.e. Moore *et al.* 1993 ; mais voir Deupree *et al.* 1991). Au niveau du GD, des déficits d'induction (Barnes *et al.* 2000a) et de maintien (Barnes 1979) de la PLT ont été démontrés chez les animaux âgés, en corrélation avec leurs déficits de mémoire. Ces modifications de plasticité synaptique avec l'âge suggèrent que les déficits mnésiques pourraient être dus à des altérations d'adaptation des réseaux hippocampiques en réponse à l'expérience comportementale. Les déficits de PLT pourraient notamment être responsables de la réduction de la plasticité induite par l'expérience des cellules permettant le codage de l'espace (Burke et Barnes 2010).

Il est aujourd'hui bien connu que de nouveaux neurones sont formés au niveau du GD tout au long de la vie et pourraient contribuer aux mécanismes de mémoire dépendants de

l'HPC (Shors *et al.* 2001). Or, une diminution de cette neurogenèse a été démontrée chez les animaux âgés (p.e. Kuhn *et al.* 1996). Cette observation a mené à l'hypothèse que le déclin de la formation de nouveaux neurones pourrait constituer un facteur de contribution aux déficits cognitifs liés à l'âge. Pourtant, la corrélation entre le renouvellement cellulaire et les performances de mémoire spatiale des animaux (p.e. Driscoll *et al.* 2006) n'apparaît pas dans toutes les études (p.e. Bizon et Gallagher 2003) et pourrait être dépendante du type d'apprentissage (apprentissage en masse vs apprentissage distribué sur plusieurs jours). De plus, il est intéressant de noter que la diminution de la neurogenèse au niveau du GD n'influence pas l'excitabilité cellulaire et les mécanismes de PLT dans le champ CA1 hippocampique (Shors *et al.* 2001).

L'effet du vieillissement sur les mécanismes de plasticité synaptique et sur la neurogenèse pourrait être en partie expliqué par une modification de l'expression des facteurs neurotrophiques. Ces protéines promeuvent la survie et la fonction cellulaire et sont particulièrement associées à la plasticité synaptique et aux mécanismes d'apprentissage et de mémoire (pour revue, voir Lu et Gottschalk 2000). Par exemple, le BDNF (« brain derived neurotrophic factor » ou facteur neurotrophique issu du cerveau) promeut notamment l'induction (Figurov *et al.* 1996) et le maintien (Kang *et al.* 1997) de la PLT aux synapses de CA1, la survie des néoneurones (Sairanen *et al.* 2005) et semble directement impliqué dans l'apprentissage et la mémoire (Mu *et al.* 1999). Or, une réduction des niveaux d'ARNm du BDNF a été mise en évidence spécifiquement dans les champs CA1 et CA3 chez des animaux âgés (Smith et Cizza 1996). L'altération de la production et de la libération du BDNF pourrait ainsi sous-tendre en partie la réduction de la plasticité et le déclin cognitif lié à l'âge (Calabrese *et al.* 2013).

Figure 12. (adaptée de Wilson *et al.* 2005a) : Vieillesse de la formation hippocampique. La perte des entrées du CE et du SM, ainsi que celle des interneurons hippocampiques (lignes pointillées), induit une hyperexcitabilité de CA3 (trait épais). De plus, ces mécanismes favorisent, en association avec la perte de fonction des synapses des collatérales de Schaffer (flèche pointillée), une diminution de l'excitabilité du champ CA1 (trait discontinu).



Le vieillissement, bien que n'induisant pas de perte neuronale massive au sein des régions impliquées dans la mémoire spatiale, affecte la structure et la fonction hippocampiques (*Fig 12*). La connectivité de la FH est altérée : au niveau intrahippocampique, une altération fonctionnelle de certaines synapses des collatérales de Schaffer et une modification de l'expression de certains marqueurs des interneurons sont observées. De plus, les entrées du CE vers le GD et du septum médian vers l'HPC sont également affectées. Enfin, le vieillissement s'accompagne d'une altération de la neuroplasticité, notamment par le biais d'une réduction de la neurogenèse et d'une diminution d'expression des facteurs neurotrophiques. Chacune de ces modifications prise à part est sûrement insuffisante pour causer des déficits comportementaux chez l'animal âgé mais l'ensemble des altérations au sein du réseau pourrait être à l'origine des déficits de mémoire spatiale liés au vieillissement.

2) Mémoire spatiale et activités oscillatoires

Toute expérience que nous vivons est transformée en patterns d'activité électrique au sein des circuits neuronaux de notre cerveau. Ces patterns d'activité peuvent induire différentes formes de plasticité structurelle et fonctionnelle *via* une action coordonnée dans le temps et dans l'espace. Cette plasticité permet ainsi l'adaptation des neurones et des circuits neuronaux en réponse aux expériences (Sale *et al.* 2014). Cette fonction est essentielle pour les processus de mémoire et d'apprentissage, et peut être modulée par le biais des activités oscillatoires.

A) Description des activités oscillatoires

Les oscillations représentent des variations rythmiques du potentiel de membrane de dizaines de milliers de neurones. Elles émergent de l'interaction entre les propriétés cellulaires intrinsèques et les propriétés du circuit. En effet, chaque neurone est doté de capacités intrinsèques pour résonner (*i.e.* répondre préférentiellement à une fréquence d'entrée donnée) et osciller à de multiples fréquences (pour revues, voir Llinas 1988 ; Hutcheon et Yarom 2000). D'autre part, il est également sous l'influence d'afférences excitatrices et / ou inhibitrices potentiellement rythmiques qui peuvent moduler les oscillations intrinsèques. Les oscillations sont donc générées par la sommation de potentiels de membrane intrinsèques et de potentiels post-synaptiques excitateurs et inhibiteurs

synchrones qui en déterminent la fréquence. Différents rythmes, dépendants des états de vigilance et du comportement, sont conservés chez de nombreuses espèces de mammifères bien que les gammes de fréquences puissent varier en fonction de l'espèce étudiée. Chez le Rat, les rythmes delta (δ : 1 – 4 Hz), thêta (θ : 4 – 12 Hz), beta (β : 15 – 25 Hz) et gamma (γ : 25 – 140 Hz) ont été décrits. Ces oscillations peuvent être étudiées en superficie par électroencéphalographie (EEG) ou électrocorticographie (ECoG) ou en profondeur par enregistrement des potentiels de champ locaux au sein des structures d'intérêt.

B) Rôle de l'activité oscillatoire dans la communication neuronale

Les processus cérébraux dépendent des interactions entre des groupes neuronaux qui reposent sur les connexions anatomiques reliant ces groupes neuronaux et sur des mécanismes modulant l'efficacité de ces connexions (Womelsdorf *et al.* 2007). Les oscillations favorisent la synchronisation et, par conséquent, la communication entre les groupes neuronaux (*Fig 13*). En effet, la phase de l'oscillation module la probabilité de décharge des neurones. Par exemple, dans la couche pyramidale de CA1, le pic de l'oscillation enregistrée en extracellulaire correspond à un état hyperpolarisé des cellules qui présentent une faible probabilité de décharge. Inversement, le creux de l'oscillation correspond à la plus forte dépolarisation des neurones qui présentent alors une probabilité de décharge plus importante. L'activité oscillatoire favorise ainsi la décharge des cellules dans une fenêtre temporelle réduite. Cette décharge simultanée de plusieurs neurones présynaptiques est plus efficace pour induire une dépolarisation suffisante d'une cible postsynaptique commune pour l'induction de potentiels d'action (*Fig 13a*). De plus, la synchronisation entre des populations neuronales permet un transfert efficace des informations (*Fig 13b*). Si les potentiels d'action émis lors de la phase de dépolarisation de l'oscillation sont transférés d'une région cérébrale à une autre et arrivent durant la phase de dépolarisation de l'aire cible, ils sont davantage susceptibles d'induire des potentiels d'action dans cette région cible. Au contraire, si l'entrée n'a pas lieu à une phase appropriée de l'oscillation, elle peut induire une réponse différée ou ne pas induire de réponse de la cellule cible (Hutcheon et Yarom 2000). Enfin, le maintien d'une relation de phase pour la décharge neuronale de deux populations distinctes (*i.e.* la cohérence) permet l'induction de mécanismes de plasticité synaptique (p.e. la PLT) favorisant la communication (*Fig 13c* ; pour revue, voir Fries 2005).

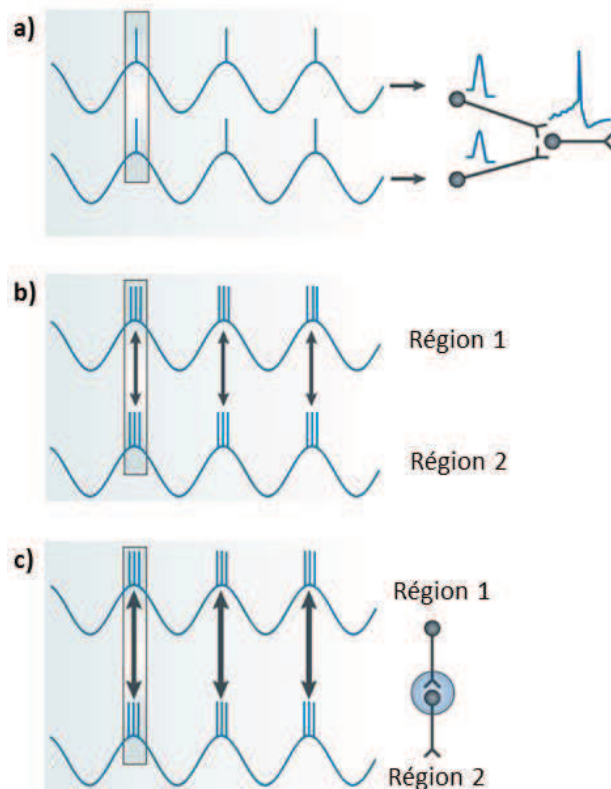


Figure 13. (adaptée de Fell et Axmacher 2011) : Rôles potentiels de la synchronisation dans la communication neuronale. **a)** L'activité coïncidente de multiples cellules (encadré) favorise l'induction de potentiels d'action sur leur cible commune. **b)** La synchronisation entre différentes régions (1 et 2) favorise le transfert de l'information (flèches). **c)** L'émission coordonnée de potentiels d'action résultant de la cohérence entre deux régions (1 et 2) peut induire une plasticité synaptique (représentée à droite), favorisant la communication entre ces régions (flèches plus épaisses).

Les différentes oscillations jouent des rôles distincts : les oscillations lentes semblent plus impliquées dans la coordination de régions éloignées, leur fréquence étant plus adaptée aux longs délais de conduction, et les oscillations plus rapides dans la coordination de régions proches (von Stein et Sarnthein 2000). Au niveau hippocampique, deux principales oscillations synchronisent l'activité neuronale : les oscillations thêta (θ) et gamma (γ).

C) Oscillations thêta (θ) et gamma (γ) hippocampiques et leur couplage

a) Description

Chez le Rat, l'**oscillation θ** représente l'oscillation comprise entre 4 et 12 Hz (Mitchell *et al.* 2008) et apparaît sous forme d'épisodes pouvant durer quelques secondes à plusieurs minutes (Vanderwolf 1969). Outre sa prédominance dans l'ensemble du lobe temporal (FH : Buzsaki *et al.* 1986 ; CE : Mitchell et Ranck 1980 ; cortex périrhinal : Muir et Bilkey 1998 ; cortex postrhinal : Furtak *et al.* 2012 ; pré- et parasubiculum : Boccaro *et al.* 2010), le rythme θ est également présent dans de nombreuses régions corticales (p.e. le CPFm : Jones et Wilson 2005) et dans certaines structures sous-corticales telles que le septum médian (Nerad et McNaughton 2006), le striatum dorsal (Berke *et al.* 2004), l'amygdale (Seidenbecher *et al.*

2003) et certains noyaux hypothalamiques (Slawinska et Kasicki 1995) et thalamiques (Vanderwolf 1969).

L'oscillation θ hippocampique est une onde sinusoïdale dont la puissance varie à travers la profondeur de la FH selon l'axe somato-dendritique des cellules pyramidales et granulaires (Fig 14). Ainsi, elle atteint une puissance maximale aux niveaux de la fissure hippocampique puis du hile du GD. De plus, un décalage de phase de 180° est observé le long de cet axe, entre la couche pyramidale et la fissure hippocampique. Compte tenu de ce décalage de phase, la décharge des cellules pyramidales a lieu au creux de l'oscillation θ enregistrée dans la couche pyramidale de CA1 mais au pic de l'oscillation θ enregistrée dans la *stratum lm*.

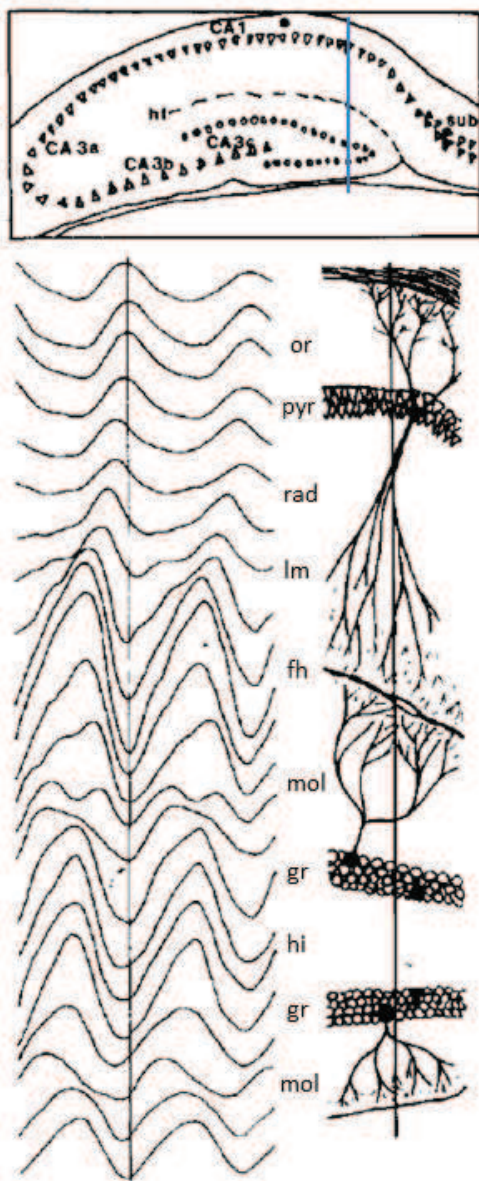


Figure 14. (adaptée de Buzsaki *et al.* 1986) : Illustration du profil de l'oscillation θ dans la profondeur de la FH chez le Rat. L'insert représente l'emplacement de l'électrode (trait bleu). Chaque tracé représente la moyenne de 64 exemples d'oscillations θ enregistrées en potentiel de champ par incrément de $82.5 \mu\text{m}$ durant 256 ms. Sur la droite des tracés, une reconstruction histologique représente l'électrode d'enregistrement.

fh : fissure hippocampique, gr : couche granulaire du GD, hi : hile du GD, lm : *stratum lacunosum-moleculare*, mol : couche moléculaire du GD, or : *stratum oriens*, pyr : *stratum pyramidale*, rad : *stratum radiatum*.

La présence de l'oscillation θ hippocampique dépend du comportement de l'animal. Elle est prédominante pendant la « veille active », correspondant à des comportements de type « activité locomotrice volontaire » (p.e. marche, course, nage), « activité préparatoire » et « activité d'orientation ou exploratoire » (p. e. redressement, mouvements de la tête) et lors des ajustements posturaux (Vanderwolf 1969), ainsi que pendant la « veille attentive », lorsque l'animal est immobile et alerte (Vanderwolf 1969 ; Sainsbury et Montoya 1984). Elle a également été décrite pendant le sommeil paradoxal et lorsque l'animal est placé sous anesthésie à l'uréthane (Robinson *et al.* 1977 ; pour revue, voir Bland 1986).

L'oscillation γ est une onde sinusoïdale dont la puissance varie à travers la profondeur de la FH et atteint son maximum dans le hile du GD. De plus, un décalage de phase est observé à travers la couche granulaire du GD (Fig 15).

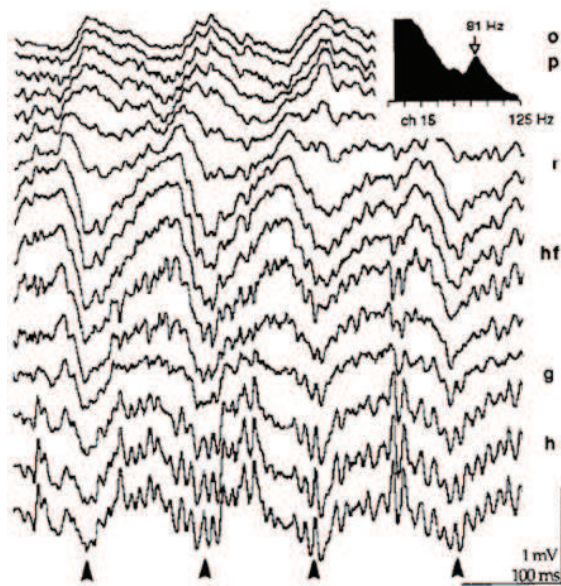


Figure 15. (adaptée de Bragin *et al.* 1995) : Illustration du profil de l'oscillation γ dans la profondeur de la FH chez le Rat. Cette oscillation est superposée à l'oscillation θ , plus lente, dont le creux est marqué par les flèches au bas de la figure.

g : couche granulaire ; h : hile du GD ; hf : fissure hippocampique ; o : *stratum oriens* ; p : couche pyramidale ; r : *stratum radiatum*.

La présence de l'oscillation γ est, elle aussi, dépendante du comportement de l'animal et est essentiellement présente en même temps que l'oscillation θ , à savoir lors de la veille active et attentive, lors des mouvements volontaires ainsi que pendant le sommeil paradoxal (Bragin *et al.* 1995). Cette oscillation a également été décrite lorsque l'animal est immobile, en relation étroite avec les « sharp waves-ripples » (p.e. Carr *et al.* 2012). Outre sa présence dans la FH (Bragin *et al.* 1995), les oscillations γ sont également observées dans différentes aires néocorticales (le CE : Chrobak et Buzsaki 1998 ; les cortex sensoriels et le CPFm : p.e. Sirota *et al.* 2008) et dans des structures sous-corticales telles que le striatum (Tort *et al.* 2008), l'amygdale (Popescu *et al.* 2009) et certains noyaux thalamiques (Popescu *et al.* 2009).

L'amplitude de l'oscillation γ n'est pas constante au cours du temps, mais apparaît en bouffées à des temps particuliers au sein du cycle θ (p.e. Bragin *et al.* 1995). Le **couplage θ - γ** consiste donc en la modulation de l'amplitude de l'oscillation γ par la phase de l'oscillation θ . La force de ce couplage est représentée par l'index de modulation (*Fig 16*). Le couplage θ - γ peut être observé au sein d'une région cérébrale (p.e. l'HPC : Bragin *et al.* 1995) mais peut également être observé entre différentes régions cérébrales (p.e., la phase de l'oscillation thêta hippocampique peut moduler l'amplitude de l'oscillation gamma dans le striatum dorsal : Tort *et al.* 2008).

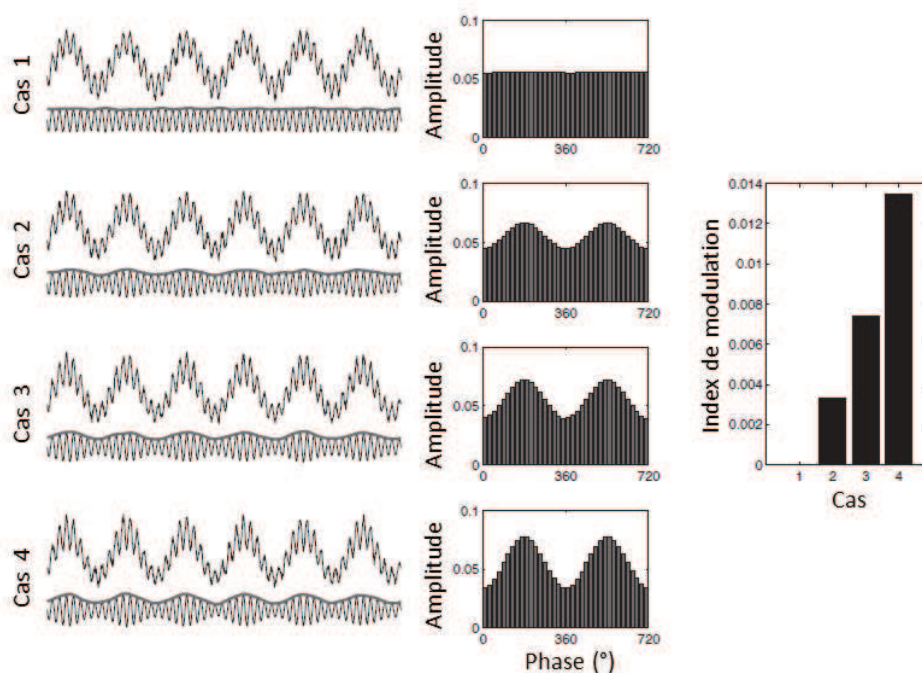


Figure 16. (adaptée de Tort *et al.* 2010) : Illustration schématique du couplage phase-amplitude. Les tracés du haut représentent l'oscillation θ sur laquelle se superpose l'oscillation γ . En dessous, l'oscillation γ filtrée ainsi que l'enveloppe de son amplitude sont représentées. Les quatre cas reflètent quatre forces de couplage différentes : dans le cas 1, l'amplitude de l'oscillation rapide est constante, quelle que soit la phase de l'oscillation lente, le couplage est nul ; au contraire, dans le cas 4, la variation d'amplitude de l'oscillation rapide est importante, en fonction de la phase de l'oscillation lente, le couplage est important. La force de ce couplage est représentée par l'index de modulation (à droite).

L'oscillation γ peut être divisée en oscillation γ lente (γ_L : 25-50 Hz) et en oscillation γ rapide (γ_R : 50-140 Hz) (Colgin *et al.* 2009 ; Balakrishnan et Pearce 2014). Les oscillations γ_L et γ_R apparaissent à des phases différentes du cycle θ (*Fig 17* ; p.e. Colgin *et al.* 2009 ; Lasztoczi et Klausberger 2014 ; Schomburg *et al.* 2014). Des enregistrements de la couche pyramidale de CA1 ont mis en évidence que l'oscillation γ_L est d'amplitude maximale lors de

la phase descendante du cycle θ et est fortement cohérente avec l'oscillation γ enregistrée dans CA3 ; alternativement, l'oscillation γ_R est d'amplitude maximale lors du pic du cycle et est cohérente avec l'oscillation γ enregistrée dans la couche III du CEM (Schomburg *et al.* 2014 ; mais voir Colgin *et al.* 2009).

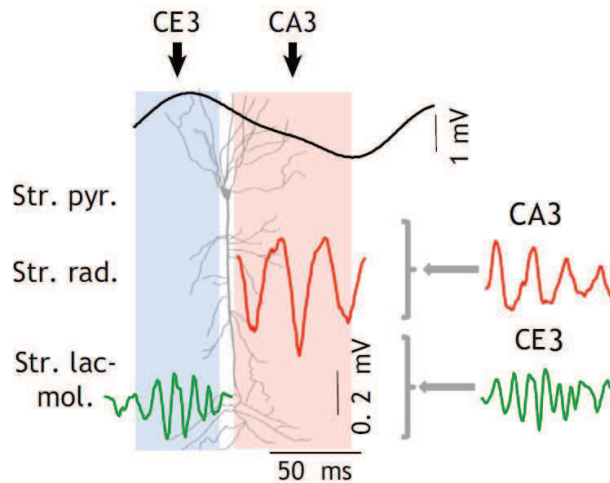


Figure 17. (adaptée de Schomburg *et al.* 2014) : Illustration schématique du transfert des informations de différentes entrées par le biais du couplage de l'oscillation θ aux deux oscillations γ dans CA1. Exemples d'enregistrements des oscillations γ_L (*str. rad.*) et γ_R (*str. lm.*), en fonction de l'oscillation θ enregistrée dans la couche pyramidale (en haut).

b) Genèse de l'oscillation θ

Les mécanismes sous-tendant la genèse de l'oscillation θ hippocampique sont très étudiés depuis plusieurs décennies mais restent encore aujourd'hui en partie non résolus. Dans le modèle « classique » de genèse du θ , le complexe SM/BDBv jouerait le rôle de « pacemaker » du rythme global dans lequel les réseaux hippocampiques et entorhinaux sont entraînés (Stewart et Fox 1990). Cependant, de nombreuses études utilisant des techniques variées [pharmacologie, inactivation, enregistrements intra- et extracellulaires, *in vivo* et *in vitro*, mesures de densité de source de courant (current-source density, ou CSD)] ont pu par la suite mettre en évidence l'existence de multiples générateurs de rythme au sein même de l'HPC et dans le cortex entorhinal (CE) (pour revue, voir Buzsaki 2002). Aujourd'hui, il est admis qu'il existe plusieurs générateurs du θ hippocampique : l'oscillation θ enregistrée dans le champ CA1 reposerait ainsi sur des oscillateurs intra-hippocampiques localisés notamment dans CA3 et CA1 et extra-hippocampique par le biais de l'innervation du CE. Le complexe SM/BDBv pourrait quant à lui jouer un rôle de générateur et / ou de modulateur du rythme θ *via* une action directe sur CA1 ou *via* un impact sur CA3 et sur le CE.

Oscillateurs intra- et extra-hippocampiques

Rôle du CE : La lésion du CE entraînant, chez plusieurs espèces de rongeurs, une réduction de l'amplitude du rythme θ hippocampique (Montoya et Sainsbury 1985 ; Kocsis *et*

al. 1999), la question du rôle du CE dans la genèse de ce rythme a été posée. L'oscillation θ enregistrée dans le CE, dont l'amplitude est plus importante dans le CEM que dans le CEL (Deshmukh *et al.* 2010), semble reposer sur un ou plusieurs générateurs locaux (Mitchell et Ranck 1980 ; Mizuseki *et al.* 2009). Notamment, les cellules des couches II et III du CE présentent des propriétés intrinsèques d'oscillation de leur potentiel de membrane, de résonance et / ou de décharge rythmique à la fréquence θ (Alonso et Garcia-Austt 1987 ; Alonso et Llinas 1989 ; Gloveli *et al.* 1997). Ces neurones pourraient donc induire l'oscillation θ enregistrée en potentiels de champ dans le CEM et, de par leurs projections *via* la voie perforante, moduler rythmiquement l'excitabilité de la FH. De manière intéressante, la couche III entorhinale, qui cible directement le champ CA1 hippocampique, présente un rythme θ en phase avec le rythme thêta de CA1, d'amplitude et de forme similaire au rythme θ de CA1 (Mitchell et Ranck 1980 ; Mizuseki *et al.* 2009). Les mêmes observations sont vraies pour la couche II entorhinale et le rythme θ enregistré dans le GD (Mitchell et Ranck 1980). De plus, Buzsaki *et al.* (1986) ont effectué une analyse de CSD de manière à mettre en évidence les entrées (puits) et les sorties (sources) de courant au sein de la FH. Ils ont ainsi observé de larges puits de courants θ , qui représentent des entrées excitatrices à la fréquence θ , dans la *stratum lm* de CA1 et dans la couche moléculaire du GD (ou zone supragranulaire), couches cibles des entrées entorhinales. L'ensemble de ces résultats suggère que le CEM serait un générateur de l'oscillation θ hippocampique. D'autre part, l'activation des projections GABAergiques entorhino-hippocampiques et hippocampo-entorhinales favorise l'activité infra- et supraliminaire des cellules cibles à la fréquence θ et promeut l'oscillation du réseau local à la fréquence θ (Melzer *et al.* 2012). Ces projections réciproques semblent ainsi pouvoir supporter la synchronisation au rythme θ entre le CEM et la FH.

Rôle de CA3 : La source principale d'entrées de CA1 provient du champ CA3 hippocampique. Strata (1998) a mis en évidence que les cellules pyramidales de CA3 présentent des propriétés intrinsèques d'oscillation du potentiel de membrane à la fréquence θ . De par ses nombreuses collatérales de récurrence, une cellule est capable d'activer plusieurs cellules voisines et d'influencer la décharge synchrone au niveau de la population neuronale (Miles et Wong 1983). Ce circuit de récurrence semble donc agir comme un générateur de rythme et pourrait ainsi constituer un oscillateur θ intra-hippocampique. Le rythme θ généré au sein du champ CA3 peut être transmis au champ CA1, comme l'indique la présence de puits de courant θ dans la *stratum rad* de CA1, couche cible des collatérales de Schaffer (Buzsaki *et al.* 1986 ; Brankack *et al.* 1993). Cette hypothèse est confortée par l'étude de

Kocsis *et al.* (1999) qui a mis en évidence une forte cohérence entre l'oscillation θ de la *stratum rad* de CA1 et l'oscillation θ de CA3 et une cohérence très faible entre l'oscillation θ de la *stratum rad* de CA1 et l'oscillation θ entorhinale (qui, elle, est cohérente avec l'oscillation θ de la *stratum lm* de CA1).

Rôle de la boucle d'excitation-inhibition de CA1 : Goutagny *et al.* (2009) ont mis en évidence que, dans une préparation d'HPC isolé, le champ CA1, isolé de ses afférences en provenance du champ CA3, est capable de générer spontanément une oscillation θ par lui-même. Les cellules pyramidales de CA1 présentent des propriétés intrinsèques de résonance à la fréquence θ (Leung et Yu 1998 ; Pike *et al.* 2000) qui pourraient contribuer à la variation rythmique de leur potentiel de membrane (Leung et Yim 1991) ainsi qu'à leur propriété de décharge à la fréquence θ (Pike *et al.* 2000). De plus, les cellules pyramidales sont sous l'influence de nombreux interneurons inhibiteurs. Parmi les différentes classes d'interneurones, plusieurs présentent des propriétés intrinsèques de résonance (p.e. les cellules Oriens Lacunosum-Moleculare, ou O-LM : Pike *et al.* 2000) et / ou de décharge rythmique à la fréquence θ (p.e. les cellules en corbeille, axo-axoniques, bistratifiées, O-LM), avec une probabilité de décharge maximale à différentes phases de l'oscillation θ (pour revue, voir Klausberger et Somogyi 2008). En outre, les interneurons hippocampiques pourraient être synchronisés par les entrées du CE (p.e., les cellules axo-axoniques : Buhl *et al.* 1994b) ou de CA3 (p.e. les cellules bistratifiées, pour revue voir Muller et Remy 2014). En fournissant une inhibition des cellules pyramidales hippocampiques à différents niveaux dendritique et / ou somatique, ces interneurons sont supposés être impliqués dans la genèse et / ou la modulation du rythme θ hippocampique. Pour finir, l'excitation des interneurons *via* les collatérales récurrentes des cellules pyramidales (Buhl *et al.* 1994a) pourrait renforcer la décharge rythmique des interneurons. La boucle d'excitation-inhibition formée des cellules pyramidales et des interneurons de CA1 jouerait donc un rôle clé dans la synchronisation du réseau hippocampique à la fréquence θ .

Rôle du complexe SM/BDBv

L'ensemble de ces générateurs intra- et extra-hippocampiques pourraient eux-mêmes être coordonnés de manière à produire des signaux cohérents. Or, ils possèdent tous une innervation du complexe SM/BDBv (voir partie III-1C). De nombreuses études ont montré que la lésion du complexe SM/BDBv réduit drastiquement l'amplitude du rythme θ dans l'HPC et le CEM (p.e. Mitchell *et al.* 1982). Ainsi, Vertes et Kocsis (1997) ont proposé un

modèle de genèse du θ hippocampique par le SM/BDBv. Une partie des neurones du SM/BDBv présente une décharge rythmique à la fréquence θ (Petsche *et al.* 1962) et pourrait constituer un réseau « pacemaker » entraînant l'activité rythmique du CEM et de l'HPC. Notamment, certains neurones GABAergiques du SM/BDBv déchargent par bouffées à la fréquence θ (Borhegyi *et al.* 2004). L'activité rythmique de ces neurones induit une hyperpolarisation rythmique des interneurons hippocampiques et permet donc une désinhibition rythmique des cellules principales. De plus, une étude effectuée sur tranche a montré que, dans le CEM, la stimulation à la fréquence θ des entrées septales peut entraîner une décharge rythmique des interneurons inhibiteurs (Gonzalez-Sulser *et al.* 2014). Les projections du SM pourraient ainsi coordonner, *via* les interneurons du CE, la décharge à la fréquence θ à travers le réseau entorhino-hippocampique. De manière importante, les collatérales locales provenant des cellules septales GABAergiques elles-mêmes pourraient participer à la synchronisation du pacemaker local (Borhegyi *et al.* 2004). De plus, les neurones GABAergiques septaux exprimant la PV sont sous l'influence des neurones locaux glutamatergiques et cholinergiques. En effet, les neurones septaux glutamatergiques, en plus de leur innervation directe des cellules pyramidales et des interneurons hippocampiques (Sun *et al.* 2014), innervent également localement les neurones GABAergiques PV+ du SM/BDBv (Hajszan *et al.* 2004). Leur activité rythmique à la fréquence θ leur permettrait également de réguler le rythme θ hippocampique (Huh *et al.* 2010). De manière surprenante, Simon *et al.* (2006) ont mis en évidence que les neurones cholinergiques septaux présentent quant à eux une décharge lente non reliée au rythme θ . Ces neurones cholinergiques projettent à la fois sur les interneurons et les cellules pyramidales de l'HPC, sur le CE ainsi que sur les neurones GABAergiques au sein du SM (Dannenberg *et al.* 2015). Ils exercent leur action *via* une transmission extra-synaptique diffuse en plus de la transmission synaptique (Descarries *et al.* 2004) et pourraient de cette manière induire une dépolarisation lente des cellules cibles pour favoriser leur excitabilité. Pourtant, l'implication des neurones cholinergiques septo-hippocampiques dans la genèse de l'oscillation θ hippocampique a été remise en question étant donné l'impact limité de leur activation optogénétique sur le rythme θ chez l'animal en situation comportementale (Vandecasteele *et al.* 2014). Enfin, la projection retour de l'HPC et du CE vers le complexe SM/BDBv (Alonso et Kohler 1984) pourrait être critique pour le support de la synchronisation entre ces structures et pour la modulation du rythme θ hippocampique (Manseau *et al.* 2008).

Modulation par les voies ascendantes et descendantes

Outre la boucle de contrôle qui existe entre le SM/BDBv, la FH et le CE, le complexe SM/BDBv est également sous l'influence de nombreux noyaux du pont, *via* « les voies ascendantes du système de synchronisation ». En particulier, le noyau *reticularis pontis oralis* projette sur le noyau supramillaire (SuM) de l'hypothalamus (Vertes et Martin 1988) qui, lui, innerve le complexe SM/BDBv (Veazey *et al.* 1982). De manière intéressante, le noyau *reticularis pontis oralis* envoie une entrée tonique et soutenue (Vertes 1977) dont l'intensité est convertie par le noyau SuM en pattern de décharge phasique par bouffées à la fréquence θ (Kirk 1998 ; Kirk et McNaughton 1993). Le noyau SuM envoie ainsi au système septo-hippocampique une information codée en fréquence impliquant une régulation rythmique des cellules du SM dans la genèse du θ . Ces structures sont également sous influence des noyaux sérotoninergique (noyaux du raphé) et noradrénergique (locus coeruleus) qui pourraient eux aussi moduler l'activité oscillatoire au rythme θ . Des contrôles descendants du septum (Leranth *et al.* 1999) et de la FH (Allen et Hopkins 1989) sur les noyaux hypothalamiques et thalamiques impliqués dans la modulation du rythme θ permettraient à leur tour une régulation de cette activité oscillatoire hippocampique.

Le θ hippocampique semble être le fruit de multiples oscillateurs intra (CA3 et CA1)- et extra (CE)-hippocampiques qui pourraient eux-mêmes être contrôlés par le complexe SM/BDBv. De nombreuses structures sous-corticales pourraient permettre une modulation fine de l'oscillation θ hippocampique *via* une multiplicité de systèmes ascendants et descendants.

c) Genèse des oscillations γ et du couplage θ - γ

Bien que les oscillations γ soient généralement associées aux oscillations θ , ces deux rythmes hippocampiques semblent être générés, au moins en partie, indépendamment (Stumpf 1965). Au moins deux oscillateurs indépendants semblent permettre la genèse de ces oscillations, le premier étant situé dans le CE, le deuxième dans le champ CA3 hippocampique.

Le CE

La présence d'une oscillation γ et d'une activité neuronale en phase avec cette oscillation dans les couches superficielles du CE a été démontrée par Chrobak et Buzsaki

(1998). Cette oscillation ne dépend pas de l'activité γ hippocampique car elle persiste suite à l'aspiration de l'HPC (Charpak *et al.* 1995). Par contre, la lésion ou l'inactivation entorhinale induisent, quant à elles, une diminution drastique des oscillations γ hippocampiques (Bragin *et al.* 1995 ; Charpak *et al.* 1995), ce qui suggère un rôle du CE dans la genèse de l'oscillation γ hippocampique. Ce rôle de générateur du CE a été conforté par des études de CSD qui ont mis en évidence de larges courants à la fréquence γ dans la couche moléculaire du GD (Bragin *et al.* 1995 ; Charpak *et al.* 1995) et dans la *stratum lm* de CA1 (Charpak *et al.* 1995), recevant toutes deux les entrées du CEM. Les oscillations γ enregistrées dans le champ CA1 hippocampique restent présentes suite à la séparation des champs CA1 et CA3, les entrées directes du CE par la voie temporo-ammonique semblent particulièrement importantes (Charpak *et al.* 1995).

Le champ CA3 hippocampique

Suite à la lésion du CE, une oscillation γ est toujours observée dans la FH, de fréquence légèrement plus faible que chez les animaux non lésés (Bragin *et al.* 1995). La puissance maximale de cette oscillation est alors enregistrée dans le champ CA1 hippocampique, où de larges courants excitateurs sont observés dans la *stratum rad*, cible des projections de CA3 (Bragin *et al.* 1995). En particulier, le réseau de cellules pyramidales et d'interneurones périsomatiques au sein du champ CA3 pourrait constituer un générateur de γ intrahippocampique, permettant la genèse de l'oscillation γ_L (Hajos et Paulsen 2009). Le transfert de cette oscillation vers le champ CA1 se ferait par le biais d'une excitation rythmique des interneurons de CA1 par les collatérales de Schaffer, induisant une inhibition rythmique subséquente des cellules pyramidales (Zemankovics *et al.* 2013).

Ces deux oscillateurs, le CE et le champ CA3 hippocampique, pourraient ainsi produire différentes fréquences de γ au sein du champ CA1. Cette hypothèse a été confirmée par une étude de CSD ayant montré que les oscillations γ_L et γ_R sont respectivement associées à des puits de courant dans la *stratum rad* et la *stratum lm* de CA1 (Belluscio *et al.* 2012). L'oscillation γ_L semble ainsi entraînée par le champ CA3 et l'oscillation γ_R par le CE.

Modulation au sein du champ CA1 hippocampique

Le champ CA1 est lui-même capable, *in vitro*, de générer une oscillation γ sous certaines conditions (Whittington *et al.* 1995) et pourrait, *in vivo*, moduler les oscillations γ par le biais de son réseau d'interneurones inhibiteurs. Une forte corrélation est observée entre

la décharge de certaines classes d'interneurones et la phase des oscillations γ enregistrées en potentiels de champ dans CA1 (p.e. Zemankovics *et al.* 2013). Plus spécifiquement, certaines classes d'interneurones présentent une décharge en phase avec l'oscillation γ_L alors que d'autres sont en phase avec l'oscillation γ_R (Lasztocki et Klausberger 2014). Ces différents types d'interneurones semblent être activés par les différentes entrées de CA1 à des phases distinctes de l'oscillation θ . En accord avec ces résultats, plusieurs études ont montré que des potentiels postsynaptiques inhibiteurs en phase avec les oscillations γ sont présents dans les cellules pyramidales (p.e. Penttonen *et al.* 1998). Ces résultats suggèrent que certains types d'interneurones contribuent directement aux potentiels postsynaptiques inhibiteurs associés au γ dans les cellules pyramidales et participent ainsi à la genèse et / ou la modulation des oscillations γ_L et γ_R . La capacité de résonance des cellules pyramidales de CA1 à la fréquence γ pourrait ensuite faciliter la mise en place de l'activité oscillatoire au sein du réseau (Penttonen *et al.* 1998). En outre, certaines classes d'interneurones périsomatiques pourraient contribuer à la fois aux rythmes θ et γ , de par une décharge en bouffées de potentiels d'actions à la fréquence γ , répétées rythmiquement à la fréquence θ (Penttonen *et al.* 1998). Il a ainsi été suggéré que ces cellules pourraient participer à la genèse du couplage θ - γ (Zemankovics *et al.* 2013 ; Lasztocki et Klausberger 2014).

Les mécanismes responsables de la transition entre les phases de γ_L et de γ_R sont encore à l'étude (pour revue, voir Colgin et Moser 2010). L'oscillation γ « par défaut » pourrait consister en une oscillation rapide, générée par le CE. En effet, ces oscillations γ_R sont observées sur un pourcentage de cycles θ plus important que les oscillations γ_L , et les cellules de lieu modulées par l'activité γ_R sont plus nombreuses que celles modulées par l'activité γ_L (Colgin *et al.* 2009). L'augmentation de la puissance du γ dans le champ CA3 pourrait favoriser la transition vers une oscillation γ plus lente au sein du champ CA3 (Atallah et Scanziani 2009) et la transmission de cette oscillation au champ CA1.

L'ensemble de ces résultats suggère que les oscillations γ enregistrées en potentiels de champ dans CA1 reflètent la sommation à la fois des potentiels postsynaptiques excitateurs des entrées du CE (oscillation γ_R) et de CA3 (oscillation γ_L) et des potentiels postsynaptiques inhibiteurs des interneurones locaux (*Fig 18*).

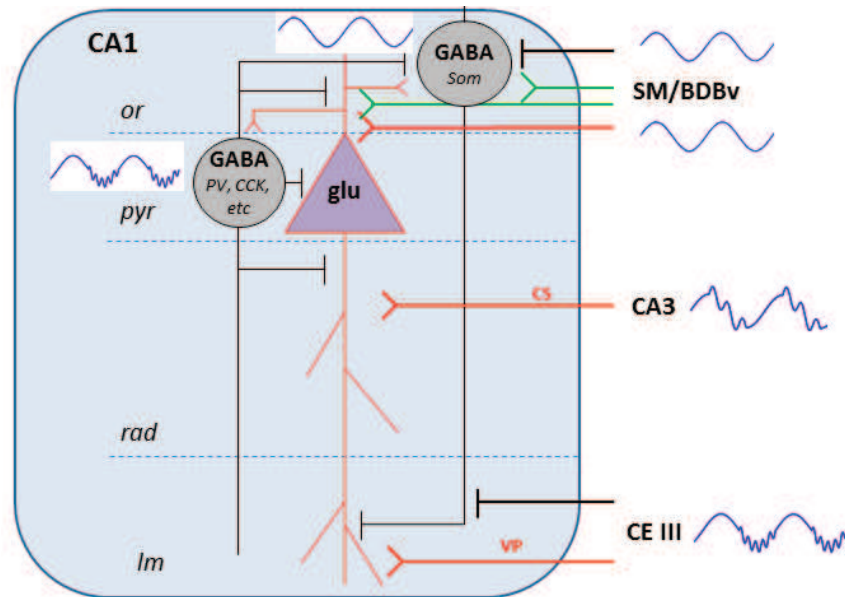


Figure 18. : Illustration schématique des structures impliquées dans la genèse des oscillations θ , γ_L et γ_R enregistrées au sein du champ CA1 hippocampique. Les afférences hippocampiques pourraient constituer des générateurs des oscillations : en particulier, le CE pourrait constituer un générateur des rythmes θ et γ_R et CA3 un générateur des rythmes θ et γ_L (adapté de Colgin et Moser 2010). Le complexe SM/BDBv, par le biais de ses projections GABAergiques et glutamatergiques, pourrait moduler le rythme θ du champ CA1. Enfin, différents types d'interneurones inhibiteurs présentent des caractéristiques leur permettant de participer à la genèse des rythmes θ et / ou γ .

d) Fonctions

Le fait que les mécanismes de genèse des oscillations hippocampiques soient encore en partie non élucidés rend difficile l'évaluation de l'impact de la modulation de ces oscillations sur les performances de mémoire. Les études portant sur cette question consistent donc essentiellement en des études corrélationnelles et de modélisation. Elles permettent tout de même de poser des hypothèses quant à l'implication des oscillations hippocampiques dans différents mécanismes mnésiques.

Deux études de lésion ont suggéré que l'oscillation θ joue un rôle critique dans la mémoire, et plus particulièrement dans la mémoire spatiale, en montrant que l'élimination sélective du θ hippocampique résulte en des déficits mnésiques sévères. Dans son étude, Winson (1978) montre qu'une lésion importante du SM induit une abolition de l'oscillation θ alors qu'une lésion moins importante permet la préservation d'une oscillation θ intacte. Or, les capacités de mémoire spatiale, largement diminuées chez les animaux chez qui le rythme θ est aboli, sont préservées chez les animaux qui présentent un rythme θ intact. Ces résultats suggèrent donc

un rôle de l'oscillation θ dans les fonctions mnésiques. Par la suite, une étude de McNaughton *et al.* (2006) a permis de confirmer cette hypothèse en mettant en évidence que les capacités de mémoire spatiale, altérées suite à la lésion des entrées septales, peuvent être restaurées suite à la réinstauration du rythme θ hippocampique.

L'implication des rythmes θ et γ dans les processus mnésiques pourrait reposer sur différents mécanismes.

Potentialisation synaptique : Les oscillations semblent agir comme des synchronisateurs de l'activité cérébrale, à la fois au sein de la FH et entre la FH et les aires cérébrales reliées, de manière à promouvoir la communication neuronale (voir partie III-2B). De cette manière, la FH peut être synchronisée avec le SM et le CE essentiellement, mais aussi avec d'autres structures présentant une activité à la fréquence θ cohérente avec l'activité hippocampique (O'Keefe et Burgess 1999). D'après de nombreuses études, l'activité au rythme θ crée une dynamique temporelle appropriée entre l'activité présynaptique et l'excitabilité postsynaptique qui favorise la plasticité synaptique. Ainsi, *in vitro* (Larson et al. 1986) comme *in vivo* (Staubli et Lynch 1987), l'induction de la PLT dans le champ CA1 est optimale lors d'une stimulation à la fréquence θ et peut rester stable jusqu'à 5 semaines (Staubli et Lynch 1987). La fréquence des oscillations γ est quant à elle particulièrement adaptée aux mécanismes de plasticité synaptique dépendante de la synchronisation des potentiels d'action (« spike-timing dependent plasticity ») et favorise également le renforcement synaptique nécessaire à la mémoire (pour revue, voir Axmacher et al. 2006). Ces différents résultats sont en faveur d'un rôle des oscillations θ et γ dans les mécanismes de plasticité, et par conséquent dans les processus d'apprentissage et de mémoire.

Codage de l'information : La superposition des oscillations θ et γ pourrait fournir un système d'horloge périodique pour la décharge des cellules de lieu hippocampiques. Lorsque l'animal traverse le champ d'activité d'une cellule de lieu, la relation de phase de la décharge de cette cellule avec l'oscillation θ n'est pas constante : la fréquence entre les bouffées de potentiels d'action est légèrement plus rapide que la fréquence θ concomitante, ce qui conduit à une précession de phase de la décharge vers un point plus précoce à chaque cycle successif (Fig 19 ; O'Keefe et Recce 1993). La phase de la décharge étant corrélée à la position de l'animal dans le champ d'activité de la cellule de lieu, le phénomène de précession de phase au θ donne une information précise quant à la localisation de l'animal dans l'espace.

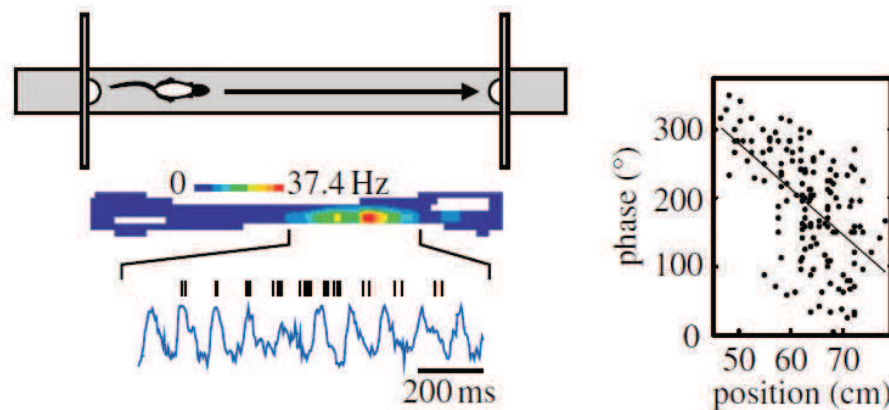


Figure 19. (adaptée de Hartley *et al.* 2014) : Relation entre l'oscillation θ dans CA1 et la décharge d'une cellule de lieu au sein de son champ d'activité. Illustration de la trajectoire du rat dans un environnement linéaire (en haut) et de la fréquence de décharge d'une cellule de lieu au sein de cet environnement (au milieu). En bas, le tracé représente l'oscillation θ enregistrée en potentiels de champ (tracé bleu). Les potentiels d'action de la cellule de lieu (barres noires) arrivent un peu plus tôt à chaque cycle de l'oscillation θ . Ce mécanisme est appelé « précession de phase ». Sur le graphique (à droite) est représentée la phase de l'oscillation θ à laquelle a lieu la décharge de la cellule en fonction de la position de l'animal au sein du champ d'activité de la cellule de lieu.

Or, la précession de phase ne se fait pas au hasard au sein du cycle θ mais les cellules déchargent plus tôt à chaque cycle θ , par pas discrets à la fréquence γ . Ce mécanisme, impliqué dans la mémoire spatiale, a été interprété comme le rappel indicé de la séquence des positions à venir (Fig 20). Grâce à ce codage, chaque position de l'animal peut être représentée par un cycle γ particulier au sein d'un trajet contenu dans un cycle θ (Jensen et Lisman 2005). Le stockage de telles séquences permet notamment à l'animal d'anticiper les prochain(e)s positions ou évènements.

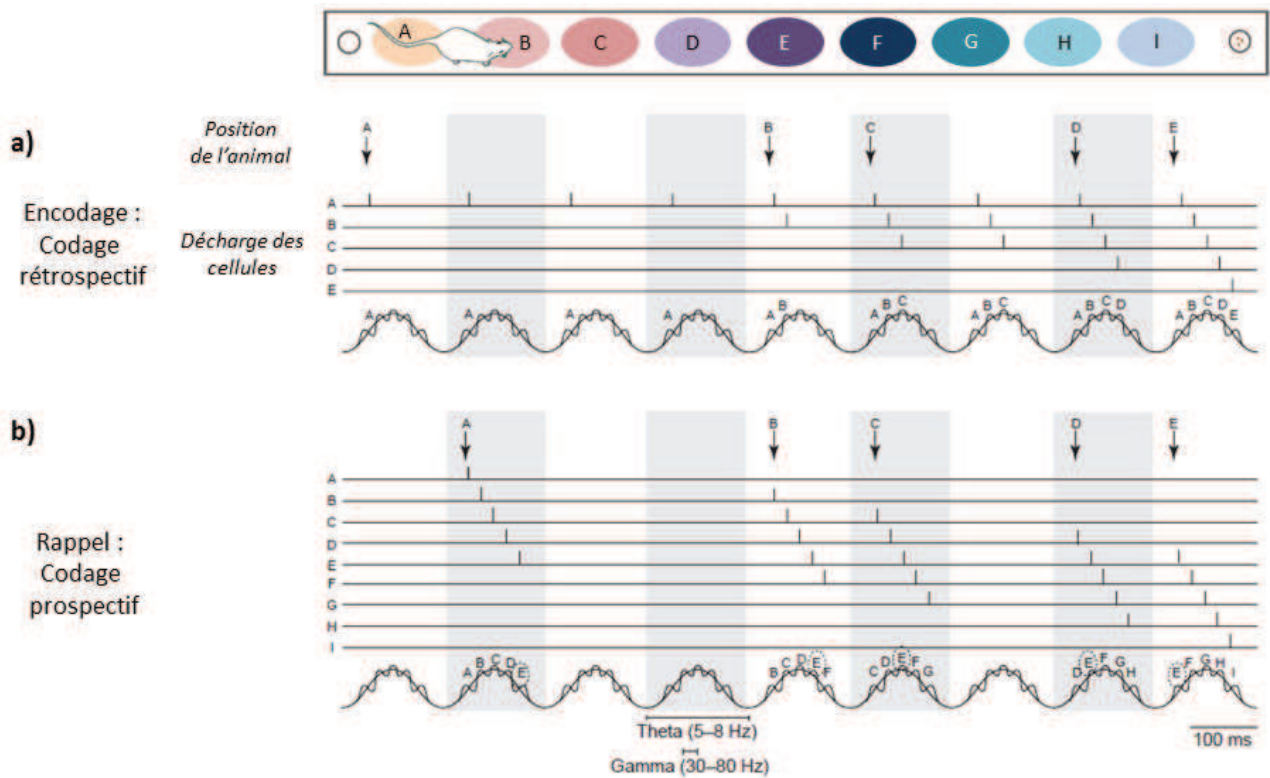


Figure 20. (adaptée de Jensen et Lisman 2005 ; Girardeau et Zugaro 2011) : Codage des cellules de lieu en lien avec les oscillations θ et γ . **a)** Suite à la présentation de l'*item* A (considéré ici comme une position), la cellule qui représente A continue de décharger à chaque cycle de l'oscillation θ . Cette activité subséquente représente le passé et est donc « rétrospective ». L'*item* B est présenté environ 1s après l'*item* A. La cellule qui représente B décharge à chaque cycle θ , à une phase différente de celle qui représente A : spécifiquement, la cellule A décharge lors du premier cycle γ et la cellule B décharge lors du 2^e cycle γ à chaque cycle de l'oscillation θ . La décharge répétée des cellules représentant A et B selon la fréquence γ promeut la mise en place d'une plasticité synaptique. **b)** Lorsque l'animal est à nouveau en présence de l'*item* A, A est représenté dans l'HPC à une phase précoce du θ et, par un processus synaptique en chaîne, induit la décharge des *items* suivants (positions) lors des cycles γ subséquents (codage « prospectif »). Lorsque, plusieurs cycles θ plus tard, le rat se trouve à la position B qui sert alors d'indice, B cause à son tour le rappel de la séquence stockée. En conséquence de ce rappel de séquence compressé dans le temps, la cellule E décharge plus tôt à chaque cycle θ , par pas discrets à la fréquence γ .

Ce même modèle de codage de l'information peut être appliqué aux processus de perception sensorielle et aux mécanismes de la mémoire non spatiale. Au niveau du système visuel par exemple, les différentes caractéristiques des *stimuli* (couleur, orientation, *etc*) sont codées séparément par des cellules distribuées spatialement. L'oscillation γ pourrait permettre à la fois la synchronisation des cellules de manière à créer des assemblées de cellules codant pour un même aspect du *stimulus* (Gray *et al.* 1989) et pourrait également permettre la synchronisation de cellules codant pour les différents aspects d'un même *stimulus*, afin

d'obtenir une représentation perceptuelle cohérente (notion de "binding" : pour revue, voir Singer 1993). L'oscillation γ constituerait ainsi un mécanisme neuronal d'intégration et de ségrégation de l'activité en ensembles fonctionnels de cellules durant le traitement perceptuel. Comme dans les cortex sensoriels, des assemblées de cellules présentant une activité synchrone à la fréquence γ ont été mises en évidence au niveau hippocampique chez le Rat (Harris *et al.* 2003). A ce niveau de traitement, l'oscillation γ pourrait promouvoir le regroupement de cellules codant pour un *item* particulier et, par conséquent, la ségrégation des différents éléments d'un souvenir. D'après le modèle de Lisman et Idiart (1995), une séquence d'*items* maintenus en mémoire pourrait être représentée par une séquence d'ensembles neuronaux déchargeant selon les différents cycles γ au sein d'un cycle θ . Ainsi, le cycle θ contiendrait tout le « stock mnésique » et chaque cycle γ contiendrait un élément de cette mémoire. Le nombre limité de cycles γ au sein d'un cycle θ est d'ailleurs cohérent avec le nombre moyen d'*items* rappelés en mémoire de travail (environ 7 ; Lisman et Idiart 1995).

Coordination des processus d'encodage et de rappel : D'après le modèle d'Hasselmo *et al.* (2002), le rythme θ permettrait de coordonner les processus d'encodage et de rappel des informations. En effet, la phase des oscillations permet une séparation temporelle pour l'encodage et le rappel, en favorisant des mécanismes de plasticité requis pour chacun de ces processus (Huerta et Lisman 1995). Alors qu'une entrée synaptique importante du CE atteint CA1 lors du pic de l'oscillation θ (enregistrée au niveau de la couche pyramidale), une entrée importante à partir du champ CA3 atteint CA1 lors du creux de l'oscillation θ . Par conséquent, au sein de chaque cycle θ , l'encodage des informations actuelles en provenance du CE serait favorisé au pic de l'oscillation et le rappel des informations par le réseau du champ CA3 serait favorisé lors du creux de l'oscillation (*Fig 21*). Lorsqu'un animal se trouve dans une situation familière ou lors d'un changement environnemental, la relation de phase de la décharge des cellules pyramidales de CA1 par rapport à l'oscillation θ est d'ailleurs modifiée de manière à promouvoir les fonctions de rappel et d'encodage respectivement (Manns *et al.* 2007).

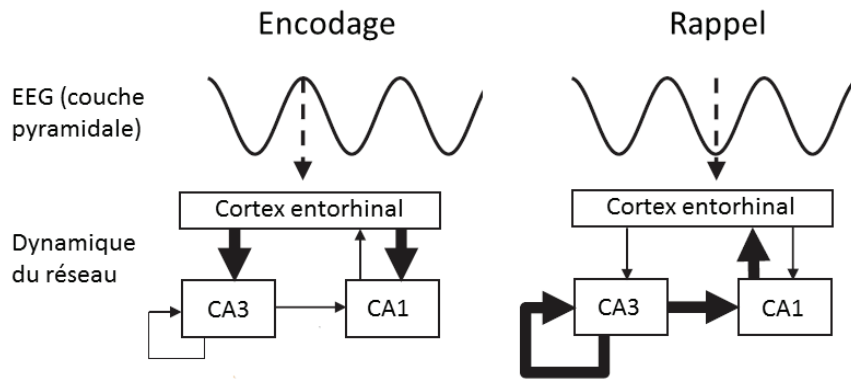


Figure 21. (adaptée de Hasselmo et Stern 2014) : Modèle de séparation des processus d'encodage et de rappel en fonction de la phase de l'oscillation θ . Encodage (à gauche) : au pic de l'oscillation θ dans la couche pyramidale de CA1, l'entrée synaptique du CE est forte (flèches épaisses), dirigeant l'activité des champs CA3 et CA1 hippocampiques. Les synapses de CA3 vers CA1 ont une transmission faible (flèches fines), induisant un rappel moindre. Rappel (à droite) : au creux de l'oscillation θ , l'entrée synaptique du CE est faible, mais la transmission synaptique de CA3 est forte, permettant le rappel des associations stockées.

Depuis l'élaboration de ce modèle en 2002, l'évolution des connaissances sur les différentes gammes de fréquence de l'oscillation γ a permis de le confirmer et de le compléter. D'une part, l'augmentation de la puissance de l'activité oscillatoire hippocampique et de certaines aires corticales spécifiquement dans la bande de fréquences rapides du γ durant l'encodage chez l'Homme est associée à de meilleures performances de rappel (Sederberg *et al.* 2007). La facilitation du transfert d'informations entre le CE et CA1 durant l'oscillation γ_R (Colgin *et al.* 2009) pourrait ainsi promouvoir l'encodage des informations. Un mécanisme similaire semble également être impliqué durant l'exploration d'un nouvel environnement chez l'animal (Manns *et al.* 2007). D'autre part, l'implication des oscillations γ dans le rappel a également été suggérée, par le biais d'une coordination entre les champs CA3 et CA1 hippocampiques (Montgomery et Buzsaki 2007), certainement liée à l'augmentation de la puissance de l'oscillation γ et du couplage θ - γ_L au moment du rappel (Schomburg *et al.* 2014). Ainsi, la facilitation du transfert d'informations entre CA3 et CA1 durant l'oscillation γ_L (Colgin *et al.* 2009) pourrait favoriser le rappel les représentations mnésiques par le champ CA3 hippocampique. La ségrégation des entrées du CE et de CA3, par le biais des différentes gammes de fréquence de l'oscillation γ , pourrait être critique pour limiter l'interférence entre des informations apprises précédemment et l'encodage de nouvelles informations. Le couplage des oscillations γ_L et γ_R à différentes phases de l'oscillation θ semble donc cohérent avec le modèle de séparation de phase entre encodage et rappel (Hasselmo *et al.* 2002), ainsi

qu'avec le rôle de CA1 comme comparateur et détecteur de nouveauté entre les entrées de CA3 qui concernent les informations en mémoire et les entrées du CE qui concernent les informations actuelles.

Maintien des informations en mémoire : Différentes études suggèrent également une implication des oscillations θ et γ dans le maintien de l'information en mémoire de travail et en mémoire à long-terme. En effet, le maintien en mémoire de travail est accompagné d'une augmentation de la cohérence entre le CPFm et l'HPC à la fréquence θ (Jones et Wilson 2005) et d'une augmentation de la force de couplage θ - γ au sein de l'HPC (Axmacher *et al.* 2010). De plus, la puissance de l'oscillation γ corrèle avec la charge mnésique (Howard *et al.* 2003). En mémoire à long-terme, une augmentation de la force du couplage θ - γ a été associée à l'amélioration des performances des animaux au cours d'un apprentissage (Tort *et al.* 2009 ; Igarashi *et al.* 2014 ; Nishida *et al.* 2014). Outre l'implication des oscillations dans les mécanismes de plasticité synaptique à long-terme (voir plus haut), les oscillations γ hippocampiques pourraient également être impliquées dans certains processus attentionnels, permettant la sélection des indices environnementaux pertinents (Fries *et al.* 2001). Etant donné que l'attention détermine largement quelles expériences seront mémorisées, le recrutement d'assemblées de cellules par les oscillations γ pourrait jouer un rôle clé dans la régulation de l'information qui sera retenue sur le long-terme (pour revue, voir Muzzio *et al.* 2009).

Les oscillations hippocampiques θ et γ participent ainsi à la synchronisation des populations neuronales au sein de la FH, mais aussi entre la FH et d'autres régions cérébrales distantes. Par le biais de la facilitation des mécanismes de potentialisation synaptique et de la ségrégation des différents processus d'encodage, de maintien et de rappel de l'information, ces oscillations, ainsi que leur couplage, constitueraient un mécanisme clé de la mémoire. De plus, de par le contrôle de l'activité des cellules de lieu hippocampiques, elles semblent particulièrement impliquées dans la mémoire spatiale et dans les mécanismes de détection de changements environnementaux.

D) Effet du vieillissement sur l'activité oscillatoire hippocampique

Les modifications de l'activité oscillatoire hippocampique liées au vieillissement sont encore peu étudiées chez l'animal. Plusieurs données concernent plus particulièrement l'oscillation θ enregistrée dans le champ CA1 hippocampique. D'une part, chez l'animal se

déplaçant dans un environnement familier, Shen *et al.* (1997) et Jacobson *et al.* (2013) observent une puissance θ similaire chez des rats adultes (11-12 mois) et âgés (> 23 mois), alors que Huxter *et al.* (2012) montrent quant à eux une puissance θ plus faible chez des rats adultes (9 mois) que chez des rats plus jeunes (4 mois). Alors que la puissance de l'oscillation θ est généralement corrélée positivement à la vitesse de déplacement de l'animal (p.e. Hinman *et al.* 2011), cette relation semble elle aussi modifiée avec l'âge. En effet, Huxter *et al.* (2012) observent une diminution de la corrélation entre l'amplitude de l'oscillation θ et la vitesse chez les animaux adultes par rapport aux animaux plus jeunes, mais Shen *et al.* (1997) et Jacobson *et al.* (2013) n'observent pas de différence entre les animaux âgés et les animaux adultes. D'après ces résultats, il est possible que la puissance de l'oscillation θ et sa relation avec la vitesse diminuent à un âge adulte précoce, puis restent stables au cours du vieillissement. En outre, la fréquence de l'oscillation θ est également susceptible aux effets de l'âge : elle est plus faible chez les rats âgés que chez les rats adultes (Shen *et al.* 1997 ; Jacobson *et al.* 2013) et plus importante chez les rats adultes que chez les rats plus jeunes (Huxter *et al.* 2012). De plus, la corrélation entre la fréquence de l'oscillation θ et la vitesse de déplacement classiquement décrite chez l'animal adulte (Hinman *et al.* 2011) reste identique entre 4 et 9 mois (Huxter *et al.* 2012) mais diminue chez les animaux âgés (Shen *et al.* 1997). Contrairement à la puissance de l'oscillation θ , sa fréquence semble donc augmenter au début de l'âge adulte puis diminuer au cours du vieillissement, avec une réduction conjointe de sa relation avec la vitesse. D'autre part, pendant le sommeil paradoxal, Shen *et al.* (1997) ont mis en évidence une puissance et une fréquence de l'oscillation θ similaires chez les rats adultes et âgés. Ces résultats suggèrent que l'influence de l'âge sur l'oscillation θ n'est pas linéaire au cours de la vie adulte, et peut dépendre des états de vigilance des animaux. Cette distinction pourrait notamment être liée aux différences de neurotransmission hippocampique entre la veille et le sommeil paradoxal (voir partie III-3C).

Concernant l'oscillation γ , Huxter *et al.* (2012) ont évalué l'impact de l'âge sur une seule bande de fréquence, comprise entre 30 et 80 Hz. D'après leurs résultats, la puissance et la fréquence de cette oscillation sont similaires pour les animaux de 4 et 9 mois. A ma connaissance, seule l'étude récente de Jacobson *et al.* (2013) a évalué l'impact du vieillissement sur les oscillations γ_L et γ_R ainsi que leur couplage avec l'oscillation θ . Lorsque les animaux se déplacent dans un environnement familier, la puissance des oscillations γ_L (25-55 Hz) et γ_R (65-140 Hz) n'est pas modifiée mais le couplage de ces oscillations avec l'oscillation θ est plus faible chez les rats âgés que chez les animaux adultes.

3) Mémoire spatiale et système de neurotransmission cholinergique

A) Anatomie de l'innervation cholinergique cérébrale

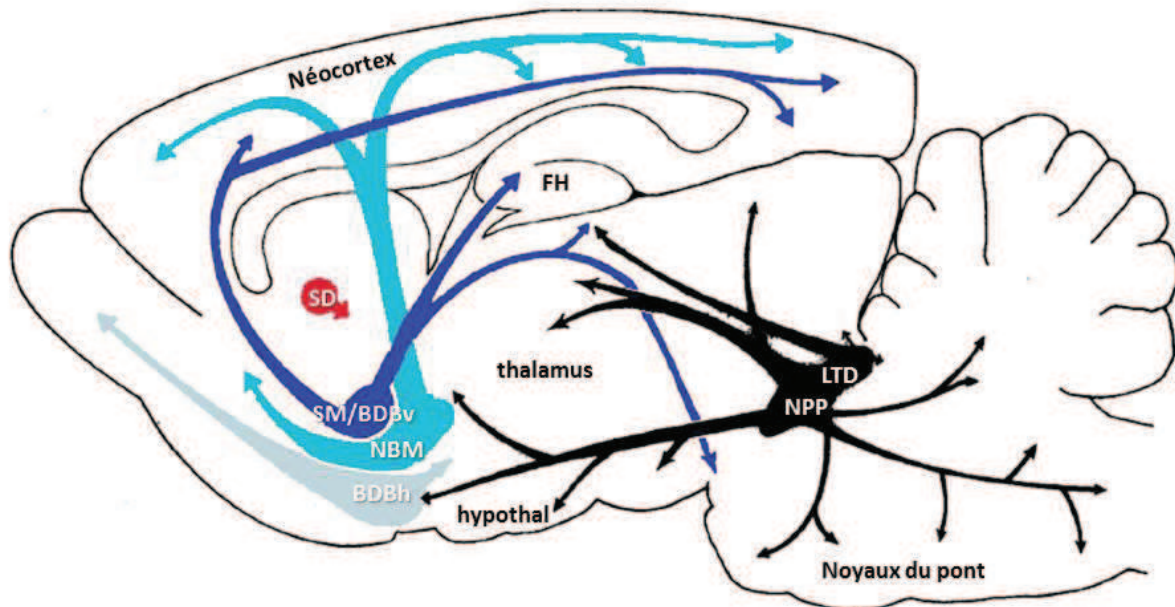


Figure 22. (adaptée de Woolf 1991) : Représentation schématique des principales projections cholinergiques sur une coupe sagittale de Rat. BDBh : partie horizontale de la bande diagonale de Broca ; BDBv : partie verticale de la bande diagonale de Broca ; FH : formation hippocampique ; hypothal : hypothalamus ; LTD : noyau tegmental latérodorsal ; NBM : noyau basal magnocellulaire ; NPP : noyau pédonculopontin ; SD : striatum dorsal ; SM : septum médian.

L'innervation cholinergique cérébrale est composée de différentes voies chez les mammifères (*Fig 22*). Une première voie prend son origine dans le système cholinergique ponto-mésencéphalique constitué des noyaux pédonculopontin (NPP) et du tegmentum latérodorsal (LTD) et innerve les structures sous-corticales (*Fig 22, en noir*). Les autres voies prennent leur origine au niveau de la base du cerveau antérieur et innervent les structures corticales. Ces noyaux cholinergiques de la base du cerveau antérieur forment un continuum dans le plan rostrocaudal, mais différentes régions peuvent tout de même être distinguées : le complexe SM/BDBv, la partie horizontale de la BDB (BDBh) et le noyau basal magnocellulaire (NBM). Ce dernier est souvent décrit comme l'ensemble constitué du noyau basal de Meynert, de la *substantia innominata*, du *pallidum ventral* et pour certains auteurs du *globus pallidus* (Rye et al. 1984). Le complexe SM/BDBv cible préférentiellement la FH ainsi que certaines structures néocorticales (p.e. les cortex préfrontal médian, cingulaire antérieur, entorhinal et rétrospécial : Gaykema et al. 1990 ; *Fig 22, en bleu foncé*), la BDBh innerve

essentiellement le bulbe olfactif ainsi qu'une partie du néocortex (*Fig 22, en gris*), et le NBM innerve essentiellement le néocortex ainsi que l'amygdale (*Fig 22, en bleu clair*). En plus de ces systèmes de projection, de nombreux interneurons cholinergiques sont présents au niveau du striatum dorsal (*Fig 22, en rose*) et quelques interneurons cholinergiques existent dans la FH (Frotscher *et al.* 1986) et le néocortex (p.e. Houser *et al.* 1985), bien qu'ils y représentent une faible proportion de l'innervation cholinergique.

Une caractéristique anatomique importante du système cholinergique cérébral consiste en un nombre très réduit de synapses sur les neurones cibles des fibres cholinergiques, mais en la présence de nombreuses varicosités le long des axones permettent la libération d'ACh dans l'environnement local et sa diffusion vers ses récepteurs selon un mécanisme de conduction volumique (Umbriaco *et al.* 1995 ; Vizi et Kiss 1998). Ce mécanisme de transmission extra-synaptique entraîne une cinétique lente de la transmission cholinergique. Les nombreux effets de l'ACh au niveau du système nerveux central sont liés à la variété de ses récepteurs pré- et post-synaptiques, muscariniques et nicotiques. Au niveau présynaptique, les récepteurs cholinergiques permettent le contrôle par l'ACh de sa propre libération au niveau des terminaisons cholinergiques par le biais d'un rétrocontrôle négatif ou positif (pour revue, voir Vizi et Kiss 1998). En outre, l'activation de ces récepteurs présynaptiques permet également de moduler la libération d'autres neurotransmetteurs tels que le glutamate (p.e. Marchi *et al.* 1989 ; Gray *et al.* 1996) ou le GABA (p.e. Marchi *et al.* 1990 ; Alkondon *et al.* 1997). Au niveau post-synaptique, les récepteurs cholinergiques sont nombreux sur les cellules pyramidales et les interneurons. Alors que l'activation de ces récepteurs augmente l'excitabilité cellulaire et favorise la décharge soutenue des cellules pyramidales, leur effet sur les interneurons est plus complexe. Malgré un effet de dépolarisation sur une majorité d'interneurons, la diversité d'expression des différents sous-types de récepteurs et la diversité de leur distribution sur les différentes classes d'interneurons rend difficile une généralisation des résultats (pour revues, voir Cobb et Davies 2005 ; Alger *et al.* 2014).

B) Acétylcholine et mémoire

De par son rôle de modulation de l'excitabilité cellulaire, notamment au niveau hippocampique, l'ACh pourrait jouer un rôle clé dans la mémoire. Notamment, l'ACh est capable de promouvoir les mécanismes de plasticité à long-terme, directement (Auerbach et Segal 1994) ou indirectement par le biais d'interactions avec le système de neurotransmission glutamatergique (Huerta et Lisman 1995). Cette modulation est cependant spécifique de

certaines localisations au sein de l'HPC. En effet, de par son action variée sur les différents types cellulaires hippocampiques, l'ACh pourrait moduler l'inhibition des cellules pyramidales à différents niveaux somato-dendritiques et ainsi réguler l'intégration des signaux afférents. Dans CA1, alors que l'ACh induit une suppression de la transmission excitatrice au niveau des collatérales de Schaffer (p.e. Fernandez de Sevilla et Buno 2003), les entrées entorhinales sont relativement préservées (Hasselmo et Schnell 1994). De cette manière, l'ACh influence la balance entre encodage et rappel : l'augmentation des niveaux d'ACh durant l'exploration d'un nouvel environnement permet de diminuer l'entrée de CA3 pour favoriser l'entrée du CE et promouvoir l'encodage des nouvelles informations ; au contraire, la diminution de l'entrée cholinergique au niveau du champ CA1 dans une situation familière pourrait réduire l'influence relative des entrées entorhinales par la voie perforante et favoriser la réactivation des informations à partir du réseau récurrent de CA3 (Hasselmo et Schnell 1994). L'administration d'un antagoniste cholinergique induit d'ailleurs un déficit d'encodage alors que l'administration d'un inhibiteur de l'enzyme de dégradation de l'ACh altère le rappel de l'information (Rogers et Kesner 2003). Cette suppression sélective des entrées de CA3 pourrait être critique pour limiter l'interférence entre des informations apprises précédemment et l'encodage de nouvelles informations (pour revue, voir Hasselmo et McGaughy 2004).

En plus de la modulation des entrées hippocampiques, les neurones cholinergiques septo-hippocampiques pourraient participer aux mécanismes de mémoire par le biais d'autres processus. Ils sont notamment impliqués dans certains processus attentionnels permettant la réduction de l'attention portée aux stimuli environnementaux prédictibles (Baxter *et al.* 1997). De plus, les entrées hippocampiques cholinergiques seraient particulièrement impliquées dans la mémoire spatiale, en contribuant à la plasticité des cellules de lieu hippocampiques. Ainsi, l'administration d'un antagoniste cholinergique induit un ralentissement de la fréquence de décharge et une instabilité des champs d'activité des cellules de lieu (Brazhnik *et al.* 2003) alors que la lésion cholinergique septo-hippocampique induit une réduction de la flexibilité des cellules de lieu suite à un changement environnemental (Ikonen *et al.* 2002).

Bien que ces différents résultats suggèrent l'implication du système de neurotransmission cholinergique dans les mécanismes mnésiques, la lésion sélective des neurones cholinergiques septo-hippocampiques chez le rongeur semble épargner en grande partie les capacités d'apprentissage et de mémoire spatiale récente des animaux et pourrait principalement affecter les capacités de mémoire ancienne (p.e. Baxter *et al.* 1995 ; Lecourtier

et al. 2011). Certaines données suggèrent que les neurones cholinergiques agiraient en synergie avec les neurones GABAergiques septo-hippocampiques pour promouvoir l'apprentissage et / ou la consolidation d'une mémoire spatiale (Pang *et al.* 2001 ; Lecourtier *et al.* 2011).

C) Acétylcholine et activité oscillatoire hippocampique

Les mécanismes par lesquels l'ACh influence les oscillations θ et γ ne sont pour le moment pas entièrement élucidés. Alors que sur des tranches d'HPC *in vitro*, l'application d'agonistes cholinergiques induit l'apparition d'oscillations θ et γ (p.e. Fisahn *et al.* 1998), le rôle de l'ACh *in vivo* est plus controversé. L'ACh semble particulièrement impliquée dans la régulation des oscillations hippocampiques pendant le sommeil paradoxal ainsi que chez l'animal anesthésié. En effet, chez l'animal anesthésié, l'activation optogénétique des neurones cholinergiques septo-hippocampiques induit une augmentation de la puissance des oscillations θ et γ au sein du champ CA1 hippocampique (Vandecasteele *et al.* 2014). Pendant le sommeil paradoxal, état de vigilance caractérisé par une réduction massive de la transmission monoaminergique (Aston-Jones et Bloom 1981 ; Trulson et Jacobs 1979) et un maintien de la neurotransmission cholinergique (Jasper et Tessier 1971), la lésion sélective des neurones septaux cholinergiques induit une réduction drastique de l'oscillation θ hippocampique (Lee *et al.* 1994). A l'inverse, chez l'animal en situation comportementale, la modification de l'activité du système cholinergique septo-hippocampique induit des effets limités sur les oscillations hippocampiques. Vandecasteele *et al.* (2014) ont montré une légère diminution de la puissance des oscillations θ et γ au sein du champ CA1 hippocampique suite à l'activation optogénétique des neurones cholinergiques septo-hippocampiques (effet inverse à ceux obtenus chez l'animal anesthésié). De manière étonnante, suite à l'administration d'un antagoniste cholinergique, Hentschke *et al.* (2007) n'observent pas de modification de la puissance de l'oscillation θ mais montrent également une diminution de la puissance de l'oscillation γ dans le champ CA1 hippocampique. Le système cholinergique n'aurait donc pas la même influence sur les oscillations θ et γ , en fonction de l'état de vigilance des animaux et les mécanismes précis par lesquels le système cholinergique influence l'activité oscillatoire hippocampique restent largement inexplicés.

D) Effet du vieillissement sur la neurotransmission cholinergique

L'hypothèse cholinergique du dysfonctionnement mnésique lié au vieillissement a été émise plusieurs décennies en arrière (Bartus *et al.* 1982), reposant essentiellement sur l'observation d'altérations cholinergiques sévères chez des sujets atteints de la maladie d'Alzheimer. Cependant, les changements liés au vieillissement normal semblent beaucoup plus subtiles (Bartus *et al.* 1982). Chez l'animal, alors que le système cholinergique ponto-mésencéphalique est largement préservé au cours du vieillissement (Baskerville *et al.* 2006), différentes études ont montré une altération des autres systèmes cholinergiques (voir partie III-1E pour le système septo-hippocampique). Notamment, une diminution du nombre de neurones exprimant la ChAT a été souvent rapportée au niveau de la base du cerveau antérieur et des interneurons striataux (p.e. Fischer *et al.* 1992 ; Stemmelin *et al.* 2000 ; Baskerville *et al.* 2006). Ces déficits ont d'ailleurs été corrélés au déclin des performances de mémoire chez l'animal âgé (p.e. Fischer *et al.* 1992 ; Stemmelin *et al.* 2000). En plus d'une potentielle perte neuronale, la réponse post-synaptique aux entrées cholinergiques est diminuée avec l'âge dans l'HPC (Chouinard *et al.* 1995 ; Shen et Barnes 1996). Les déficits cholinergiques pourraient donc être liés à une atteinte directe du système cholinergique mais pourraient également être liés à des altérations des autres systèmes de neurotransmission. En effet, les systèmes glutamatergiques, GABAergiques, noradrénergiques ou sérotoninergiques sont en interaction avec le système cholinergique et peuvent influencer la libération d'ACh (pour revue, voir Vizi et Kiss 1998). Etant donné qu'ils subissent également des modifications au cours du vieillissement (pour revues, voir Segovia *et al.* 2001 ; McQuail *et al.* 2015), l'altération conjointe de ces différents systèmes de neurotransmission pourrait être à l'origine des multiples déficits cognitifs observés chez les sujets âgés.

L'acétylcholine est un neurotransmetteur clé du système nerveux central, par le biais de son innervation diffuse de nombreuses régions cérébrales et de son interaction avec les autres systèmes de neurotransmission. Compte tenu de son influence sur l'activité oscillatoire hippocampique et sur les processus mnésiques, les modifications de la neurotransmission cholinergique avec l'âge pourraient jouer un rôle critique dans le déclin cognitif observé au cours du vieillissement.

4) Mémoire spatiale et sommeil

A) Le sommeil chez le Rat

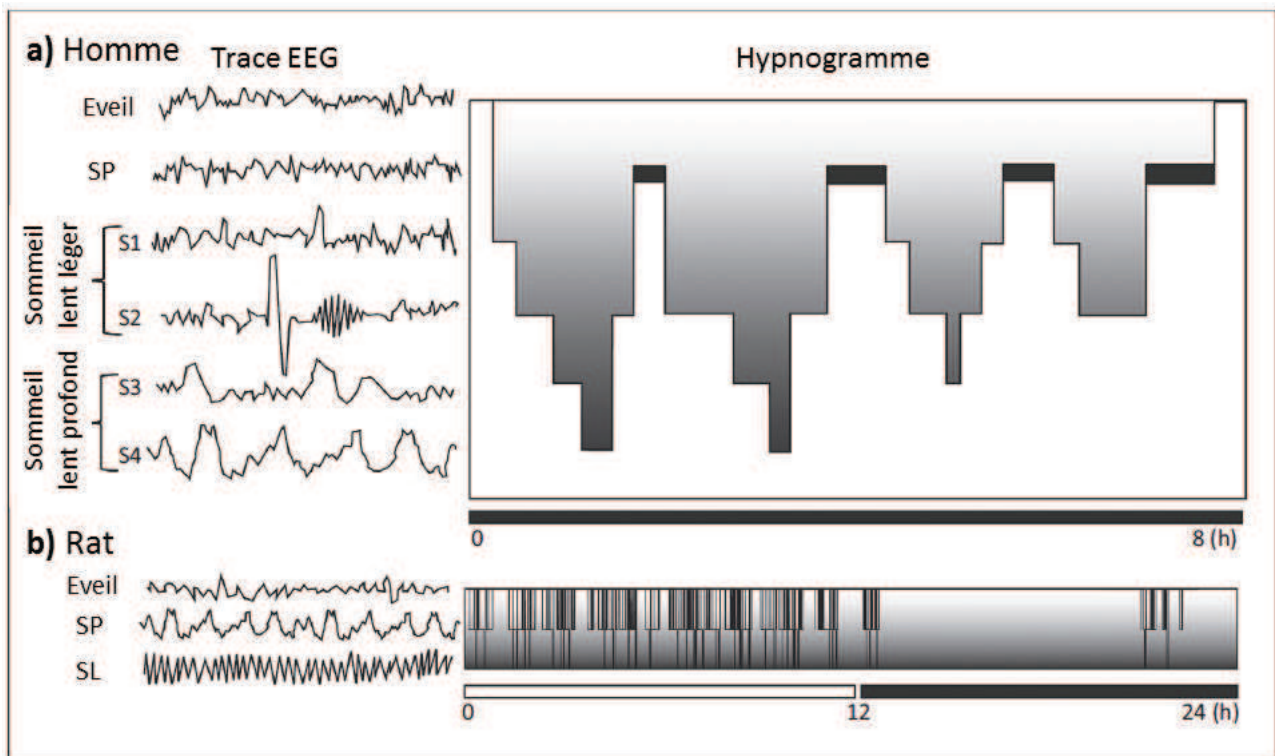


Figure 23. (adaptée de Genzel *et al.* 2014) : Illustration des différents états de vigilance **a)** chez l'Homme et **b)** chez le Rat. Représentation de tracés EEG caractéristiques des différents états de vigilance (à gauche) et illustration d'un hypnogramme caractéristique de chaque espèce (à droite).

Le sommeil est défini comme un état comportemental naturel et réversible de réactivité réduite aux *stimuli* externes et d'inactivité relative, accompagnées par une perte de conscience. Le sommeil peut être séparé en deux états : le sommeil paradoxal (SP, caractérisé par la présence de mouvements oculaires rapides qui justifient son autre appellation de REM, ou rapid eye-movement sleep) est distingué du sommeil « non-paradoxal » ou sommeil lent (SL). Chez l'Homme, ce dernier peut être divisé en 4 stades distincts, représentant des stades de sommeil léger ou des stades de sommeil plus profond (*Fig 23a*). Chez le Rat, le SL est généralement considéré comme un état unique, même si quelques études font également une distinction entre sommeil lent léger et profond (*Fig 23b*, mais voir Gottesmann 1992). Alors que, chez l'Homme, le sommeil apparaît essentiellement durant la phase nocturne, selon des cycles d'environ 90 min formés de l'alternance entre un épisode de SL puis de SP, le Rat est

un animal nocturne et présente donc un temps de sommeil plus important durant la phase diurne, distribué selon des épisodes beaucoup plus fragmentés. Au niveau de l'activité cérébrale, le SL est caractérisé par des oscillations lentes et amples dans la gamme de fréquence du δ alors que le SP est caractérisé par une activité θ prédominante.

B) Sommeil et mémoire

Les arguments en faveur de l'implication du sommeil dans les processus mnésiques ont été apportés par l'observation d'altérations des performances dans des tâches de mémoire suite à une privation de sommeil (pour revue, voir Alkadhi *et al.* 2013). Chez le Rat, la privation de sommeil total (p.e. Guan *et al.* 2004) ainsi que la privation spécifique du SP (p.e. Zagaar *et al.* 2012) affectent les capacités de mémoire des animaux dans des tâches spatiales. De plus, des modifications plus fines du sommeil, telles qu'une restriction (McCoy *et al.* 2013) ou une fragmentation du sommeil (Tartar *et al.* 2006) peuvent également induire des déficits de mémoire spatiale. Cette consolidation mnésique au cours du sommeil est sélective, et promeut certains souvenirs particuliers. Ainsi, chez le Rat, le sommeil favorise la consolidation des souvenirs qui dépendent essentiellement de l'HPC tels que la mémoire de la localisation d'une plate-forme en piscine de Morris (Salari *et al.* 2015) ou de l'association entre un objet et sa localisation dans l'espace (Inostroza *et al.* 2013).

Plusieurs hypothèses ont été proposées quant aux mécanismes pouvant sous-tendre une implication directe du sommeil dans les processus de consolidation mnésique chez l'Homme. Tout d'abord, Jenkins et Dallenbach (1924) ont été les premiers à montrer que le rappel dans une tâche mnésique est meilleur immédiatement après une période de sommeil qu'après la même période de veille. Ils ont ainsi proposé que le sommeil constitue une protection passive de la mémoire contre les mécanismes d'interférence rétroactive. Ces derniers consistent en l'oubli des souvenirs précédemment encodés suite à l'encodage de nouvelles informations. Or, le sommeil représente un temps durant lequel l'encodage de nouvelles informations est largement réduit, permettant une réduction de cette interférence. D'après cette hypothèse, le sommeil permettrait de protéger transitoirement les souvenirs mais ne permettrait pas de les consolider (pour revue, voir Ellenbogen *et al.* 2006b). Une étude plus récente a remis en cause cette hypothèse passive (Ellenbogen *et al.* 2006a). Dans cette étude, les sujets ont été soumis à un premier apprentissage, suivi d'une période de consolidation de 12 h de sommeil vs de veille, à la suite de laquelle ils ont été soumis à un deuxième apprentissage « interférent ». Les capacités de rappel du premier apprentissage ont ensuite été évaluées. Les auteurs ont montré,

à cette occasion, que les sujets ayant dormi pendant 12 h suite au premier apprentissage présentent de meilleures performances que les sujets étant restés éveillés, alors que les deux groupes ont été soumis à la même interférence. Le sommeil permet donc une consolidation active du souvenir permettant une protection contre l'interférence subséquente.

Cette consolidation reposerait sur des mécanismes complémentaires mis en évidence chez le Rat, ayant lieu séquentiellement durant le SL, puis durant le SP (pour revue, voir Ambrosini et Giuditta 2001). Lors du SL a lieu une réactivation répétée des représentations des événements récemment encodés. Notamment, la décharge de cellules de lieu séquentiellement activées lorsque l'animal se déplace dans une enceinte est observée selon le même ordre temporel durant le SL subséquent (Wilson et McNaughton 1994 ; Ji et Wilson 2007). Ces réactivations compressées dans le temps ont lieu lors de certains épisodes oscillatoires particuliers que sont les sharp waves-ripples dans l'HPC (Nakashiba *et al.* 2009), apparaissant simultanément aux spindles thalamo-corticaux. Ces oscillations favoriseraient la redistribution des représentations temporairement stockées de l'HPC vers les sites néocorticaux de stockage à long-terme (Ji et Wilson 2007 ; pour revue, voir Girardeau et Zugaro 2011). Ces réactivations, qui ont lieu essentiellement durant les épisodes de SL suivant immédiatement l'encodage des informations, pourraient ainsi constituer un mécanisme de « marquage » des synapses corticales pour un renforcement durant le SP subséquent. Ce dernier servirait pour la consolidation synaptique permettant la stabilisation des représentations réactivées pendant le SL précédent, notamment grâce à la PLT (Bramham et Srebro 1989 ; Ravassard *et al.* 2015). De plus, une étude a également observé une réactivation séquentielle de cellules de lieu durant le SP, près de 24 h après la période d'encodage. Cette réactivation pourrait refléter une activation subséquente des circuits hippocampiques par le néocortex lors d'un stade tardif de la consolidation (Louie et Wilson 2001).

L'oscillation θ , prédominante pendant le SP, pourrait jouer un rôle particulier dans les processus de consolidation mnésique. Lorsqu'un rat est placé dans un environnement nouveau, la réactivation de la décharge hippocampique lors du SP subséquent présente la même relation de phase avec l'oscillation θ que lors du comportement. Au contraire, lorsque l'animal est placé dans un environnement familier, la réactivation de la décharge hippocampique lors du SP subséquent présente une relation de phase opposée avec l'oscillation θ . Etant donné que la phase des oscillations module les mécanismes de plasticité synaptique, ces données suggèrent que l'oscillation θ , lors du SP, participerait à la

consolidation de l'information récente et à l'érosion de l'information mnésique lorsqu'elle devient familière (Poe *et al.* 2000). Par ailleurs, la puissance de l'oscillation γ_L augmente simultanément aux sharp waves-ripples et pourrait supporter la formation d'assemblées de cellules coordonnées au sein des champs CA3 et CA1 (Carr *et al.* 2012).

Les niveaux d'ACh sont largement modulés en fonction des états de vigilance : la concentration cholinergique est maximale durant la veille et le SP et minimale durant le SL (Jasper et Tessier 1971). Lors de la veille, un haut niveau d'ACh promeut l'encodage de nouvelles informations, par le biais de la promotion des entrées à partir du CE (voir partie III-3B). La diminution de la transmission cholinergique à partir des noyaux du système pontomésencéphalique et de la base du cerveau antérieur permet l'apparition des ondes lentes caractéristiques du SL. Cette suppression de l'activité cholinergique durant le SL favorise la réactivation spontanée des réseaux hippocampiques des champs CA3 et CA1 et la réactivation des informations encodées dans ces réseaux, ainsi que le transfert des informations réactivées vers les réseaux néocorticaux (pour revue, voir Hasselmo et McGaughy 2004). L'augmentation des niveaux d'ACh durant le SP favorise la consolidation synaptique, notamment par le biais de l'augmentation de l'activité de certains gènes précoces (p.e. Teber *et al.* 2004), et pourrait de cette manière promouvoir la consolidation des représentations réactivées. Ainsi, la modulation des niveaux d'ACh en fonction des états de vigilance pourrait constituer un des mécanismes sous-tendant le rôle du sommeil dans la mémoire.

C) Vieillesse, sommeil et mémoire

Etant donné l'implication cruciale du sommeil dans les processus mnésiques, une question importante est de savoir si les modifications de l'architecture du sommeil avec l'âge pourraient expliquer en partie le déclin des performances de mémoire chez les sujets âgés.

Chez le Rat âgé, les modifications du cycle veille-sommeil ont été souvent évaluées, mais les résultats obtenus sont très divergents. De multiples facteurs peuvent être à l'origine de ces variations : tout d'abord, comme pour toute étude, l'âge et la souche des animaux étudiés sont variables (à ma connaissance, l'ensemble des études abordant cette question ont été effectuées chez des animaux mâles, limitant les divergences liées au sexe). De plus, les variables quantifiées peuvent être très différentes : certains auteurs s'intéressent au rythme circadien de l'activité locomotrice ou des comportements consommatoires (p.e. Peng *et al.* 1980). D'après ces études, l'amplitude des variations circadiennes de l'activité globale des animaux est réduite au cours du vieillissement (pour revue, voir Ingram *et al.* 1982). D'autres

auteurs visent, quant à eux, à quantifier les différents états de vigilance grâce à des enregistrements de l'activité électrophysiologique cérébrale (*Tableau 3*) permettant ainsi de déterminer l'architecture du cycle veille-sommeil. Dans ces dernières études, le traitement des données (codage automatique ou manuel, le pas d'analyse) peut être déterminant. Enfin, les périodes de la journée étudiées, *i.e.* la durée et la position de ces périodes en fonction des phases diurne et nocturne sont des éléments pouvant expliquer certaines différences obtenues dans la littérature.

Chez le Rongeur, le vieillissement s'accompagne généralement d'une diminution de la durée de sommeil (SL et SP), associée à une augmentation de la durée de veille. Le SL subit une fragmentation, reflétée par une augmentation du nombre d'épisodes et une diminution de leur durée moyenne. De plus, l'amplitude circadienne du rythme veille sommeil est souvent réduite chez les animaux âgés (*Tableau 3*).

Certaines de ces études ont également évalué l'impact des modifications de l'architecture du cycle veille-sommeil avec l'âge sur les performances des animaux dans des tâches de mémoire. Ces études corrélationnelles apportent elles aussi des résultats contradictoires. Par exemple, Stone *et al.* (1989) ont montré une corrélation positive entre le temps total et la durée moyenne des épisodes de SP et les performances des animaux dans une tâche d'évitement passif, contrairement à Markowska *et al.* (1989). Ces derniers observent par contre une corrélation positive entre la durée moyenne des épisodes de SL en phase claire et les performances en piscine de Morris. Buechel *et al.* (2011), quant à eux, n'observent pas de corrélation avec la durée du SL profond en phase claire mais montrent une corrélation négative avec le temps passé en SL profond durant la phase sombre. Compte tenu de la variabilité des résultats obtenus, il est difficile de conclure quant à l'impact potentiel des modifications de l'architecture du cycle veille-sommeil sur les performances des sujets âgés.

Tableau 3 : Liste non exhaustive de diverses études évaluant l'impact du vieillissement sur l'architecture du cycle veille-sommeil chez le Rat grâce à des enregistrements de l'activité cérébrale, représentant la diversité de résultats obtenus dans ce domaine. Différents facteurs susceptibles d'influencer les résultats (cf texte) sont répertoriés. DM : durée moyenne, DT : durée totale, m : mois, Nb : nombre épisodes, PC : phase claire, PS : phase sombre ; ↑ : augmentation significative, ↓ : diminution, (↓) : diminution non significative, – : pas de modification.

Souche	Age	Quantification	Période	Résultats			Article
				SL	SP	Veille	
Sprague-Dawley	Entre 3 et 30 m	Manuelle, par pas de 3 s	24 - 48 h, par phase	Avant 18 mois – ; Entre 18 et 30 mois, DT et DM de sommeil sur 24 h (↓), pourcentage de SP (↓)			Zepelin <i>et al.</i> (1972)
Fischer 344	5-6 m vs 24 - 26 m	Manuelle, par pas de 6 s	23 h, par phase	DM sur 23 h (↓), amplitude circadienne ↓	DM sur 23 h (↓)	DT sur 23 h ↑ ; Nb sur 23 h ↑ ; DM sur 23 h –	Rosenberg <i>et al.</i> (1979)
Wistar	4 m vs 28 m	Automatique, par pas de 30 s	24h, par phase	DT en PC (↓), en PS –	DT en PC ↓, en PS – ; DM en PC (↓), en PS – ; amplitude circadienne ↓	DT en PC ↑, en PS – ; amplitude circadienne ↓	Van Gool et Mirmiran (1983)
Sprague-Dawley	6-7 m vs 15-16 vs 23-26 m	Manuelle, par pas de 30 s	24h, par phase	Chez les plus âgés, DT et Nb – ; DM (↓) sur 24 h	Chez les plus âgés, DT, Nb et DM sur 24 h ↓	Dès 15 m, amplitude circadienne ↓	Stone <i>et al.</i> (1989)
Brown-Norway	6-8 m vs 30-32 m	Automatique	24 h, par phase	DT sur 24 h – ; amplitude circadienne ↓	DT sur 24 h – ; amplitude circadienne –	DT sur 24 h – ; amplitude circadienne ↓ pour la veille active	Witting <i>et al.</i> (1993)
Wistar	4 m vs 11 m vs 23 m	Manuelle, par pas de 30 s	12 h, en PC	Chez les plus âgés, DT en PC ↓	Chez les plus âgés, DT en PC –	Chez les plus âgés, DT de la veille active en PC ↑	Kirov et Moyanova (2002)
Wistar	3-5 m vs 19-24 m	Manuelle, par pas de 30 s	24h, par phase	DT en PC et PS – ; Nb en PC –, en PS ↑ ; DM en PC et PS –	DT en PC ↓, en PS – ; Nb en PC –, PS ↑ ; DM en PC et PS –, sur 24 h ↓	DT en PC et PS – ; Nb en PC –, en PS ↑ ; DM en PC –, en PS ↓	Clement <i>et al.</i> (2003)
Wistar	3 m vs 22 m	Manuelle, par pas de 12 s	24h, par phase	En PC, DT, Nb et DM – ; en PS, DT et Nb ↑, DM –	En PC, DT, Nb et DM – ; en PS, Nb ↑, DT et DM –	En PC, DT, Nb et DM – ; en PS, DT et DM ↓, Nb –	Acosta-Pena <i>et al.</i> (2015)

Le sommeil est un élément clé de la mémoire, de par son implication dans les processus de consolidation du souvenir. Ceux-ci reposent sur des mécanismes ayant lieu séquentiellement durant le SL (réactivation neuronale) puis le SP (consolidation synaptique) et sont en partie régulés par le système de neurotransmission cholinergique. Compte tenu de son rôle critique dans la mémoire, une altération du sommeil avec l'âge pourrait sous-tendre en partie les déficits cognitifs observés chez les sujets âgés.

IV) ENRICHISSEMENT DES CONDITIONS DE VIE ET VIEILLISSEMENT COGNITIF

L'enrichissement environnemental fait référence à toute condition expérimentale dans laquelle les animaux sont exposés à un environnement plus complexe sur les plans social (nombre de congénères), sensoriel et physique (dimension, texture et contenu de la cage) que celui dans lequel ils sont habituellement maintenus en laboratoire (Simpson et Kelly 2011). Ce dernier constitue l'environnement standard (ES) et consiste en l'hébergement des animaux au minimum par paire dans des cages standard de laboratoire. L'hébergement en environnement enrichi (EE), quant à lui, consiste à maintenir les animaux en groupes sociaux dans des cages de grandes dimensions dans lesquelles sont contenus différents objets (tunnels, échelles, chaînes *etc* ; objets de formes, de couleurs et de textures différentes) qui sont régulièrement renouvelés de manière à favoriser l'exploration volontaire et la curiosité des animaux. Cet EE apporte davantage de nouveauté et de complexité par le biais des stimulations sociales, physiques et cognitives, et permet ainsi de modéliser en partie un style de vie actif observé chez l'Homme.

1) Protocoles d'enrichissement

La littérature portant sur l'évaluation de l'influence de l'hébergement en environnement enrichi est particulière de par les différences importantes de protocoles d'enrichissement utilisés par les équipes de recherche. Ces différences rendent difficile la comparaison des résultats obtenus au sein de différents laboratoires.

A) Composition des cages d'enrichissement

Les protocoles d'enrichissement chez le Rat varient selon les études (pour revue, voir Simpson et Kelly 2011) : la dimension des cages, bien que toujours supérieure à celle des cages standard, peut aller de 20 914 cm³ (soit 42,5 x 26,6 x 18,5 cm : Brillaud *et al.* 2005) à 3 600 000 cm³ (soit 200 x 100 x 180 cm : Zimmermann *et al.* 2001), les groupes sociaux peuvent être constitués de 2 (Morley-Fletcher *et al.* 2003) à 15 animaux (Brenes *et al.* 2009), le nombre et la nature des objets ajoutés à l'environnement ainsi que la fréquence de renouvellement de ces objets sont également variables. Le degré de complexité peut ainsi

varier, de l'addition d'un ou deux objets dans une cage standard à l'addition de nombreux objets dans un environnement plus complexe. Différents objets de nature, de dimension et de couleur différentes sont classiquement utilisés de manière à fournir des abris pour les animaux (p.e. des tunnels ou tout endroit leur permettant de s'isoler de la lumière) et leur permettre d'augmenter leur exploration et leur activité physique (échelles, roues, chaînes, petits objets à manipuler, *etc*). La fréquence de changement des objets peut s'étendre d'un renouvellement quotidien (p.e. Xie *et al.* 2013) à un renouvellement hebdomadaire (p.e. Kobayashi *et al.* 2002).

Certains protocoles d'enrichissement consistent à fournir un seul type de stimulation aux animaux, dans le but d'en définir les effets spécifiques aux niveaux comportemental et neurobiologique. Par exemple, la mise à disposition d'une roue dans la cage, sans augmenter le nombre de congénères, favorise l'activité physique (Xie *et al.* 2013). Alternativement, lorsque les animaux sont hébergés en groupes sociaux dans des cages ne présentant pas d'autre stimulus, l'impact spécifique de cet enrichissement social peut être étudié (Rosenzweig *et al.* 1978). Cependant, ces distinctions ne sont pas toujours évidentes. Notamment, l'enrichissement social pourrait induire une augmentation de l'activité des animaux dans leur cage, par rapport à des animaux isolés (Xie *et al.* 2013). D'autre part, l'ajout d'objets dans une cage peut consister à la fois en une stimulation physique et cognitive (Birch *et al.* 2013). D'autres protocoles visent, quant à eux, à induire plusieurs types de stimulations, sociale, physique et cognitive. Bien qu'il n'existe pour le moment pas de consensus dans la littérature concernant l'enrichissement optimal d'un hébergement pour observer des effets comportementaux et / ou neurobiologiques chez le Rongeur, les stimulations sociale (Rosenzweig *et al.* 1978 ; Hullinger *et al.* 2015) ou physique (Bernstein 1973 ; Kumar *et al.* 2012) seules semblent participer aux - mais ne semblent pas pouvoir expliquer entièrement les - bénéfices observés suite à un enrichissement plus global des conditions de vie. L'interaction entre ces différents facteurs pourrait constituer l'élément essentiel à l'origine des bénéfices.

B) Espèce, souche et sexe des animaux

L'étude des effets de l'hébergement en EE est effectuée essentiellement chez le Rat et la Souris. Les résultats que je présente dans cette partie proviennent ainsi de la littérature obtenue chez ces deux espèces. Chez le Rat, les souches utilisées sont variées et les comparaisons entre souches sont rares. Cependant, une donnée de la littérature suggère que

les rats Long-Evans seraient plus sensibles aux effets bénéfiques de l'EE que d'autres souches telles que les rats Wistar (Benloucif *et al.* 1995).

Les études sur l'environnement enrichi portent le plus souvent sur des sujets mâles. Cependant, les femelles sont également utilisées pour étudier les effets de l'hébergement en EE sur les plans comportemental et neurobiologique (pour revue, voir Girbovan et Plamondon 2013), en particulier dans le cadre des études sur le vieillissement. En effet, l'importance des comportements agressifs intervenant dans des groupes sociaux de rongeurs mâles rend difficile leur hébergement à long terme (Van Loo *et al.* 2003). L'hébergement des mâles en groupes sociaux induit un stress chez ces animaux, reflété par une augmentation des taux de corticostérone alors qu'il semble réduire le stress chez des femelles (Brown et Grunberg 1995). Ainsi, l'hébergement en EE n'a pas toujours la même influence sur le comportement des animaux en fonction de leur sexe (Elliott et Grunberg 2005).

C) Hébergement des animaux contrôles

Pour témoigner des effets de l'EE, il est nécessaire de comparer les animaux hébergés en EE à des animaux hébergés en conditions plus « standard ». Pour cela, un contrôle couramment utilisé est l'environnement standard (ES), consistant en l'hébergement des animaux au minimum par paire dans des cages standard de laboratoire. Cependant, certaines études utilisent un « environnement appauvri », consistant en l'hébergement d'animaux isolés dans des cages standard. Ce dernier présente un désavantage majeur en raison de l'induction de stress et de différentes altérations comportementales et neurochimiques chez les animaux n'ayant pas accès au contact social avec des congénères (Hall 1998).

D) Aspects temporels de l'enrichissement

L'influence de l'hébergement en EE dépend de l'âge auquel cet enrichissement est initié. La plupart des auteurs démarrent l'enrichissement des conditions de vie après le sevrage, au cours des premières semaines de vie (p. e. Brenes *et al.* 2009 ; Harati *et al.* 2011), mais certains protocoles sont mis en place à des âges plus tardifs allant jusqu'à 2 ans (p.e. Kobayashi *et al.* 2002). Ces divergences viennent en partie de la question posée : alors que certaines études s'intéressent aux effets de l'enrichissement durant le développement (p.e. Brenes *et al.* 2009), d'autres mettent l'accent sur ses effets chez l'animal adulte et d'autres encore étudient l'impact d'un enrichissement sur les performances et les modifications neurobiologiques liées à l'âge. L'hébergement en EE peut avoir des effets différents en

fonction de l'âge des animaux. Pour une durée d'enrichissement identique, certaines études montrent un effet bénéfique de l'enrichissement chez des sujets jeunes et non chez des sujets plus âgés (p.e. Mora-Gallegos *et al.* 2015 ; Segovia *et al.* 2006), alors que d'autres études observent l'inverse (p.e. Harburger *et al.* 2007) et d'autres encore ne montrent pas de différence en fonction de l'âge (p.e. Sampedro-Piquero *et al.* 2013).

L'influence bénéfique de l'enrichissement des conditions d'hébergement dépend également de la durée d'exposition à l'EE. Dans la littérature, cette durée peut s'étendre de quelques semaines seulement (p.e. Elliott et Grunberg 2005 ; Birch *et al.* 2013) à plusieurs mois (p.e. Freret *et al.* 2012) voire à toute la vie post-sevrage (Kobayashi *et al.* 2002 ; Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). Un effet « dose-dépendant » de l'hébergement en EE peut être observé sur les performances de mémoire des animaux, quel que soit leur âge. D'une part, un enrichissement intermittent (quelques heures par jour : Bennett *et al.* 2006 ; Speisman *et al.* 2013 ; ou par semaine : Leal-Galicia *et al.* 2008) semble apporter des bénéfices comportementaux et neurobiologiques moindres par rapport à ceux d'un enrichissement continu (24 h / 24 : Bennett *et al.* 2006). D'autre part, chez des animaux jeunes adultes (Amaral *et al.* 2008 ; Birch *et al.* 2013 ; Leger *et al.* 2014), comme chez des animaux âgés (Kobayashi *et al.* 2002), les bénéfices liés à l'enrichissement sont plus importants pour une durée plus longue d'exposition à un tel environnement.

Enfin, dans certaines études, l'hébergement en EE est conservé au cours de la période d'expérimentation (p.e. Elliott et Grunberg 2005 ; Leggio *et al.* 2005) alors que dans d'autres études, les animaux sont isolés et placés dans des cages standard quelques jours avant les tests (p.e. Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). Ces dernières permettent d'évaluer les effets persistants de l'hébergement en EE. A nouveau, des résultats contradictoires ont été obtenus. Alors que certains bénéfices peuvent persister pendant plusieurs mois après la fin de l'enrichissement chez l'animal jeune et âgé (Amaral *et al.* 2008 ; Fernandez-Teruel *et al.* 2002 respectivement), d'autres, au contraire, semblent se dissiper lorsque l'enrichissement n'est pas maintenu (Kempermann et Gage 1999 ; Leger *et al.* 2014).

2) Impacts de l'hébergement en EE...

L'importance de l'enrichissement des conditions d'hébergement pour les rongeurs de laboratoire a d'abord été mise en évidence par Donald Hebb dans les années 1940 : il a ainsi montré que des rats « enrichis », élevés dans sa maison comme des animaux de compagnie, présentaient de meilleures capacités d'apprentissage que les rats élevés dans les conditions standard de laboratoire (Hebb 1947). Depuis, les bénéfices de l'EE, des aspects moléculaires aux aspects comportementaux, n'ont cessé d'être démontrés chez l'animal intact adulte, suite à diverses lésions, chez l'animal âgé ou dans les modèles de neuropathologie (pour revues, voir Nithianantharajah et Hannan 2009 ; Pang et Hannan 2013).

A) ... sur les performances spatiales

Chez le **Rongeur adulte**, les tâches de mémoire spatiale dépendantes de l'HPC sont sous une influence robuste des conditions de vie, et l'enrichissement des conditions d'hébergement promeut une amélioration des performances des animaux (p.e. Leggio *et al.* 2005 ; Birch *et al.* 2013 ; Pena *et al.* 2009). Dans cette partie, je me limiterai à nouveau à décrire les effets de l'hébergement en EE sur les tâches de mémoire spatiale que j'ai utilisées dans ma thèse.

Dans la tâche de navigation en piscine de Morris, les performances d'animaux hébergés en EE sont améliorées par rapport à celles d'animaux hébergés en ES, indépendamment de la durée d'enrichissement, de l'espèce, de la souche, de l'âge ou du genre des animaux (p.e. Paylor *et al.* 1992 ; Kempermann *et al.* 1997 ; Schrijver *et al.* 2002 ; Leggio *et al.* 2005 ; Hullinger *et al.* 2015), grâce notamment à l'acquisition plus rapide d'une stratégie de recherche adaptée (Leggio *et al.* 2005).

Dans la tâche de détection du changement spatial, l'effet de l'hébergement en EE est plus limité. En effet, d'après Tees (1999), l'enrichissement permettrait d'améliorer la détection du changement de la configuration spatiale des objets, caractérisée par une augmentation de l'exploration de l'objet déplacé. Cependant, il existe un biais important dans cette étude étant donné que les animaux hébergés en EE présentent déjà une exploration supérieure à celle des animaux hébergés en ES lors de la première présentation aux objets. Ainsi, ces résultats seraient en accord avec l'absence de bénéfice lié à l'enrichissement observé dans cette tâche par Schrijver *et al.* (2002). Par contre, l'hébergement en EE pourrait promouvoir la mémoire de l'association objet-position sur un intervalle de temps plus long. En effet, certains auteurs

ont mis en évidence qu'après un intervalle de 24 h, les animaux hébergés en EE sont capables de détecter le changement spatial, contrairement aux animaux hébergés en ES (Birch *et al.* 2013). L'hébergement en EE semble également favoriser une familiarisation plus rapide à un nouvel environnement, différents auteurs ayant observé une diminution plus rapide de l'activité locomotrice au sein d'une enceinte vide (p.e. Schrijver *et al.* 2002 ; Amaral *et al.* 2008 ; Brenes *et al.* 2009). Cet effet peut persister jusqu'à 6 mois après la fin de l'hébergement différentiel des animaux (Amaral *et al.* 2008). Ces résultats suggèrent que les animaux soumis à une vie plus riche en stimulations assimilent plus vite les informations de leur environnement et s'adaptent plus efficacement à de nouveaux environnements que des animaux hébergés en condition standard. Il est possible que cette amélioration des performances dans une tâche de détection du changement spatial soit directement liée aux opportunités d'exploration de nouveaux objets des animaux dans leur cage d'élevage tout au long de la période d'enrichissement. Cependant, les objets utilisés durant la tâche sont généralement sélectionnés de manière à être très différents de ceux auxquels les animaux sont exposés durant leur hébergement pour limiter cet effet (p.e. Birch *et al.* 2013). Les stimulations liées à l'enrichissement des conditions de vie pourraient par ailleurs renforcer les circuits neuronaux qui sont associés au traitement des informations environnementales et ainsi fournir un bénéfice lorsque les animaux sont soumis à un nouvel environnement. Ce bénéfice pourrait inclure les tâches mettant en jeu l'exploration d'objets mais également toute autre tâche nécessitant le traitement d'informations spatiales, telle que la tâche de navigation en piscine de Morris.

De manière similaire aux facteurs environnementaux influençant positivement les performances cognitives des sujets âgés chez l'Homme, l'hébergement en EE chez le **Rongeur âgé** permet de « protéger » les animaux du déclin cognitif observé classiquement chez des animaux âgés hébergés en condition standard. Les tâches de mémoire spatiale dépendantes de l'HPC sont particulièrement sensibles à ces effets (p.e. Kobayashi *et al.* 2002 ; Lores-Arnaiz *et al.* 2006 ; Huang *et al.* 2007 ; Bell *et al.* 2009). Ainsi, l'hébergement en EE permet le plus souvent une préservation (au moins partielle) des performances d'apprentissage et de mémoire spatiale des animaux âgés en piscine de Morris, quel que soit le protocole d'enrichissement et le protocole utilisé pour la tâche (*Tableau 4*), même si un enrichissement tardif n'est pas toujours suffisant pour limiter le déclin des performances (voir partie IV-3 ; p.e. Bouet *et al.* 2011).

Espèce / Souche	Age	Sexe	Protocole d'enrichissement	Résultats				Article
				Acquisition		Rétention		
				Age	EE	Age	EE	
Souris C57BL/6	4 m vs 27-28 m	♀	14 derniers jours, intermittent	Déficit	Préservation	Déficit en début d'apprentissage	Préservation partielle	Frick et Fernandez (2003)
Souris C57BL/6	5 m vs 23 m	♂	6 dernières semaines, continu ou intermittent	Pas de déficit	Pas d'effet	Déficit	Préservation partielle (surtout pour EE continu)	Bennett <i>et al.</i> (2006)
Souris C57BL/6	4 m vs 16 m vs 22 m	♂	4 dernières semaines, continu	Déficit chez les plus âgés	Préservation	Déficit chez les plus âgés	Préservation	Harburger <i>et al.</i> (2007)
Rat LE	4 m vs 13 m vs 25 m	♀	toute la vie post-sevrage, continu	Déficit chez les plus âgés	Préservation partielle	Déficit chez les plus âgés	Préservation	Harati <i>et al.</i> (2011)
Souris NMRI	3 m vs 20 m	♀	14 derniers mois, continu	Déficit	Préservation	Déficit	Préservation	Freret <i>et al.</i> (2012)
Rat F344	5-8 m vs 20-22 m	♂	10-12 dernières semaines, continu	Déficit	Pas d'effet	Déficit	Préservation partielle	Kumar <i>et al.</i> (2012)
Rat F344	5-8 m vs 20-22 m	♂	4 dernières semaines, intermittent	Déficit	Préservation	Déficit	Préservation partielle	Speisman <i>et al.</i> (2013)
Rat LE	5 m vs 14 m vs 26 m	♀	toute la vie post-sevrage, continu	Déficit dès 13 m	Préservation partielle	Déficit chez les plus âgés	Préservation partielle	Harati <i>et al.</i> (2013)

Tableau 4 : Liste de diverses études effectuées chez le Rongeur, évaluant l'impact de l'hébergement en EE sur les performances de navigation en piscine de Morris chez les sujets âgés. F344 : Fischer 344, LE : Long-Evans ; m : mois, ♀ : femelle, ♂ : mâle.

Concernant la tâche de détection du changement spatial, seules deux études ont, à ma connaissance, évalué l'impact de l'hébergement en EE sur les performances d'animaux âgés. La première (Van Waas et Soffié 1996) a évalué l'impact d'un enrichissement durant toute la vie sur la capacité de détection du changement spatial à court-terme (3 min). D'après ces auteurs, lorsque les animaux sont exposés au changement de la configuration spatiale des objets dans une enceinte connue, les animaux âgés, quelle que soit leur condition d'hébergement, ne présentent pas de ré-exploration des objets. L'EE ne permet donc pas de prévenir le déficit de détection du changement spatial. Cependant, certains paramètres propres à cette étude pourraient expliquer l'absence de résultats significatifs (notamment, la variable utilisée pour évaluer la détection du changement de configuration est peu appropriée, voir partie II-1B). La seconde étude (Morse *et al.* 2015) a évalué l'impact d'un enrichissement de courte durée (5 semaines) sur les performances de mémoire spatiale à long-terme (24 h) d'animaux âgés dans cette tâche. De manière similaire à ce qui a été montré chez l'animal adulte (Birch *et al.* 2013), leurs résultats suggèrent que l'hébergement en EE permettrait aux animaux âgés de maintenir la mémoire de la position des objets sur un intervalle de temps long, contrairement à l'hébergement en ES.

B) ... sur les substrats neurobiologiques de la mémoire spatiale

Les premières études ayant évalué les modifications liées à l'hébergement en EE ont mis en évidence une augmentation de la masse et / ou du volume de certaines régions cérébrales, à la fois chez le rongeur adulte et âgé, en particulier aux niveaux de la FH et de certaines aires néocorticales (Bennett *et al.* 1964 ; Diamond *et al.* 1966 ; Cummins *et al.* 1973 ; Diamond *et al.* 1985 ; Kempermann *et al.* 1997), suggérant que certaines aires cérébrales seraient plus sensibles que d'autres à l'expérience. Depuis, un nombre important d'études a permis d'explorer l'impact de l'EE à différents niveaux structurels et fonctionnels (pour revues, voir van Praag *et al.* 2000 ; Simpson et Kelly 2011 ; Sale *et al.* 2014 ; Hirase et Shinohara 2014).

a) Connectivité et plasticité des structures de la mémoire spatiale

Chez le rongeur adulte, une augmentation de la synaptogenèse a été rapportée, associée à des modifications des éléments pré- et post-synaptiques. De nombreuses études ont notamment mis en évidence une augmentation de l'arborisation dendritique (FH : Faherty *et al.* 2003 ; aires néocorticales : p.e., Greenough *et al.* 1973 ; Leggio *et al.* 2005), de la densité

des épines dendritiques (FH : Malik et Chattarji 2012 ; aires néocorticales : p.e. Turner et Greenough 1985 ; Leggio *et al.* 2005) et de l'expression de protéines pré- et post-synaptiques (FH : Leal-Galicia *et al.* 2008 ; Birch *et al.* 2013 ; Donato *et al.* 2013 ; néocortex : Nithianantharajah *et al.* 2004). Des effets similaires sont globalement retrouvés chez le Rongeur âgé hébergé en EE, quelle que soit la durée de cet enrichissement. Ainsi, les auteurs ont mis en évidence une augmentation de l'arborisation dendritique et de la densité synaptique (Kolb *et al.* 2003 ; mais voir Nakamura *et al.* 1999) et une augmentation des niveaux de synaptophysine (Saito *et al.* 1994 ; Frick et Fernandez 2003 ; Leal-Galicia *et al.* 2008 ; mais voir Bennett *et al.* 2006). D'après Nakamura *et al.* (1999), ces modifications reflèteraient plus particulièrement une augmentation de la densité de vésicules synaptiques, suggérant une potentialisation de la capacité de neurotransmission chez ces animaux. Ces réarrangements de connectivité liés à l'hébergement en EE, observés quel que soit l'âge des animaux, pourraient favoriser le renforcement synaptique et, par conséquent, les mécanismes de plasticité synaptique à long-terme impliqués dans les processus mnésiques.

Dans le champ CA1 hippocampique, une augmentation de la PLT a souvent été mise en évidence, *in vitro* et *in vivo*, suite à l'hébergement des animaux adultes en EE (p.e. Buschler et Manahan-Vaughan 2012 ; Malik et Chattarji 2012 ; Hullinger *et al.* 2015). Certaines caractéristiques propres à chaque étude (p.e. l'espèce ou la souche utilisée, la durée d'enrichissement ou le protocole d'induction) peuvent cependant expliquer l'obtention de quelques résultats contraires (Foster et Dumas 2001 ; Bouet *et al.* 2011). L'augmentation de la PLT pourrait être liée à l'augmentation de la densité synaptique, induisant une hausse de la fréquence des potentiels post-synaptiques excitateurs aux synapses de CA1 (Malik et Chattarji 2012). En plus de la transmission synaptique, l'hébergement en EE induit une augmentation de l'excitabilité des cellules pyramidales de CA1 (Malik et Chattarji 2012). De manière intéressante, Valero-Aracama *et al.* (2015) ont récemment mis en évidence que cet effet n'apparaît que chez des animaux dont la durée d'enrichissement est courte (*i.e.* de moins de 40 jours). D'après Eckert et Abraham (2013), l'augmentation initiale de l'excitabilité et de la transmission synaptique pourrait retourner à un niveau de base par le biais de mécanismes homéostatiques, alors que d'autres mécanismes (encore non élucidés) pourraient sous-tendre les effets comportementaux observés à long-terme. L'excitabilité cellulaire du champ CA1 ainsi que la transmission synaptique basale et la PLT aux collatérales de Schaffer diminuent avec le vieillissement (p.e. Huang *et al.* 2007 ; Freret *et al.* 2012 ; voir partie III-2D). Pourtant, peu d'études se sont intéressées aux effets de l'enrichissement des conditions

d'hébergement sur les propriétés électrophysiologique de l'HPC chez le Rongeur âgé. Certaines modifications liées à l'EE tardif ont tout de même été mises en évidence : d'une part, Kumar et Foster (2007) ont montré que l'hébergement en EE empêche l'augmentation de l'après-hyperpolarisation observée chez des rats âgés, ce qui pourrait favoriser la préservation de l'excitabilité des cellules pyramidales. D'autre part, l'enrichissement des conditions d'hébergement permet de limiter les altérations de transmission basale au niveau des collatérales de Schaffer (Freret *et al.* 2012). Par contre, son impact sur la PLT est plus controversé, certaines études ayant montré une préservation chez les animaux âgés hébergés en EE (Huang *et al.* 2007 ; Kumar *et al.* 2012) alors que d'autres non (Bouet *et al.* 2011 ; Freret *et al.* 2012). A nouveau, l'espèce, le genre ou l'âge des animaux, ainsi que les différences de protocoles d'enrichissement, pourraient expliquer les divergences de résultats obtenus. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que l'hébergement en EE peut, dans certains cas, améliorer la physiologie hippocampique sénescence.

Un effet critique de l'hébergement en EE à l'âge adulte consiste en une augmentation de la neurogenèse dans le GD (p.e. Kempermann *et al.* 1997 ; Bruel-Jungerman *et al.* 2005 ; Segovia *et al.* 2006 ; Tanti *et al.* 2013 ; Leger *et al.* 2014). De plus, alors qu'une diminution de la neurogenèse est observée avec le vieillissement (voir partie III-1D), l'hébergement en EE limite cette altération en promouvant la prolifération cellulaire (Leal-Galicia *et al.* 2008 ; Speisman *et al.* 2013), la différenciation neuronale (Leal-Galicia *et al.* 2008) et la survie neuronale (Kempermann *et al.* 2002). Bien que la contribution de la neurogenèse à l'amélioration des performances de mémoire liée à l'enrichissement soit controversée (Bruel-Jungerman *et al.* 2005 ; mais voir Meshi *et al.* 2006), il est prouvé que ces neurones nouvellement formés sont fonctionnellement intégrés dans le réseau, permettant une réorganisation des circuits neuronaux (van Praag *et al.* 2002). Cette augmentation de la neurogenèse pourrait ainsi promouvoir l'adaptation du réseau hippocampique à de nouvelles expériences et favoriser l'effet bénéfique de l'EE sur le vieillissement cognitif (Kempermann 2008).

Les facteurs neurotrophiques sont des molécules exerçant des fonctions critiques au niveau cérébral, notamment sur la plasticité synaptique et la neurogenèse, qui présentent une diminution d'expression au cours du vieillissement (voir partie III-1D). Or, l'un des effets de l'hébergement en EE est de stimuler l'expression de différents facteurs neurotrophiques : notamment, les niveaux de BDNF sont augmentés chez des rats moyennement âgés hébergés en EE, en particulier dans l'HPC et le cortex cérébral (Ickes *et al.* 2000). Cette hausse

d'expression du BDNF suite à l'enrichissement pourrait participer à l'induction d'une plasticité neuronale chez ces animaux (Novkovic *et al.* 2015).

b) Activité oscillatoire hippocampique

L'influence des conditions d'hébergement sur l'activité oscillatoire hippocampique est très peu étudiée aujourd'hui. A ma connaissance, une seule étude a récemment évalué l'impact de l'hébergement en EE sur la puissance des oscillations θ et γ dans le champ CA1 hippocampique chez l'animal adulte (Shinohara *et al.* 2013). Ainsi, sous anesthésie à l'uréthane, lors d'« épisodes θ » spontanés (*i.e.* lorsque l'oscillation θ est prédominante), la puissance des oscillations γ_L et γ_R est plus importante chez des animaux hébergés en EE que chez des animaux hébergés en environnement appauvri. Cet effet étant spécifique de la *stratum rad.*, ces résultats suggèrent une modification, par l'enrichissement des conditions d'hébergement, de la fonction des synapses aux collatérales de Schaffer. Contrairement aux oscillations γ , l'oscillation θ , quant à elle, n'est pas affectée par l'hébergement en EE d'après cette étude.

L'impact de l'hébergement en EE sur l'activité oscillatoire hippocampique chez l'animal en situation comportementale n'a pour le moment pas été étudié, que ce soit chez l'animal adulte ou âgé.

c) Système cholinergique

L'EE peut influencer les systèmes de neurotransmission par le biais de modifications de synthèse, de libération ou de dégradation des molécules ou *via* un impact sur l'expression et le renouvellement de leurs récepteurs. La susceptibilité du système de neurotransmission cholinergique à l'enrichissement des conditions d'hébergement a d'ailleurs fait l'objet des premières études neurochimiques dans ce domaine. Une hausse de l'activité de l'enzyme de dégradation de l'ACh a ainsi été mise en évidence dans différentes aires cérébrales chez des animaux adultes et âgés hébergés en EE (Bennett *et al.* 1964). Par la suite, plusieurs auteurs ont montré que, par contre, l'activité de la ChAT dans le néocortex et l'HPC (Park *et al.* 1992 ; Dhanushkodi *et al.* 2007), le niveau basal d'ACh dans le CPF (Del Arco *et al.* 2007) et les niveaux d'expression des récepteurs muscariniques de l'ACh dans le néocortex, l'HPC et le striatum (Por *et al.* 1982 ; McOmish *et al.* 2008) ne semblent pas significativement influencés par l'enrichissement des conditions d'élevage chez l'adulte. Chez le rongeur âgé, l'hébergement en EE durant toute la vie prévient la diminution liée au vieillissement du

nombre de neurones marqués à la ChAT dans la base du cerveau antérieur et limite la diminution observée au niveau striatal (Harati *et al.* 2013). De manière intéressante, cette même étude a montré que l'enrichissement des conditions d'hébergement n'a pas d'effet sur le nombre de neurones ChAT positifs chez des animaux adultes et moyennement âgés. Ainsi, l'hébergement en EE ne semble pas exercer une influence majeure sur le système cholinergique dans des conditions basales, mais pourrait protéger ce système des altérations qui apparaissent avec l'âge chez les animaux hébergés en condition standard.

Etant donné les interactions entre les différents systèmes de neurotransmission, il est également possible que l'hébergement en EE influence la neurotransmission cholinergique par le biais de modifications du fonctionnement des systèmes monoaminergiques, GABAergique et / ou glutamatergique (pour revue, voir Solinas *et al.* 2010). Ces modifications pourraient expliquer en partie l'influence de ce type d'hébergement sur la plasticité cérébrale et sur les améliorations comportementales.

d) Cycle veille-sommeil

Plusieurs études ont évalué l'influence de l'hébergement en EE sur l'architecture du cycle veille-sommeil chez le rongeur mâle jeune. Plus précisément, certaines de ces études ont étudié l'impact d'un enrichissement mis en place chez le juvénile, juste après le sevrage, lorsque l'architecture du cycle veille-sommeil est encore en évolution (Gutwein et Fishbein 1980a, b ; Mirmiran *et al.* 1982). D'autres études ont quant à elles évalué l'influence de l'hébergement en EE sur le cycle veille-sommeil chez des animaux jeunes (Kiyono *et al.* 1981) ou adultes (van Gool et Mirmiran 1986 ; *Tableau 5*). Les résultats de ces dernières études suggèrent que l'hébergement en EE induit une augmentation du SL et du SP. Chez le rongeur âgé par contre, une seule étude a, à ma connaissance, montré un effet de l'EE sur l'organisation du sommeil (van Gool et Mirmiran 1986). Ces auteurs ont comparé l'architecture du cycle veille-sommeil chez des rats Brown-Norway jeunes adultes (4-6 mois) et âgés (28-30 mois), avant et après une exposition de 4 à 5 semaines à un EE. D'après leurs résultats, un tel protocole d'enrichissement induit, chez les animaux adultes et âgés, une augmentation des durées de SL et de SP, associée à une diminution de la durée de veille, et ce spécifiquement pendant la phase claire. L'adaptation de l'architecture du sommeil aux conditions d'hébergement semble donc préservée chez les animaux âgés.

Espèce / Souche	Age d'insertion	Protocole EE	Quantification	Période	Résultats		Article
					SL	SP	
Souris CF-1	3 semaines	Continu, 30 jours	nr	24 h	Nb -, DM -	Nb ↑, DM ↑	Gutwein et Fishbein (1980a)
Souris CF-1	3 semaines	Continu, 30 jours	nr	24 h, par phase	En PC, rien ; En PS, DT -, Nb ↑, DM -	En PC, DT -, Nb -, DM ↑ ; En PS, DT ↑, Nb ↑, DM ↑	Gutwein et Fishbein (1980b)
Rat LE	Environ 2 m	Continu, 30 jours	Manuelle, par pas de 20 s	24 h, par phase	En PC : rien ; En PS, DT ↑	En PC, DT -, Nb -, DM ↑ ; En PS, DT ↑, Nb -, DM ↑	Kiyono <i>et al.</i> (1981)
Rat Wistar	1 mois	Continu, 45 jours	Manuelle, par pas de 10 s	8 h en PC	DT ↑	DT (↑), DM (↑)	Mirmiran <i>et al.</i> (1982)
	1,5 mois	Intermittent, 45 jours		5 h 30 en PC	DT -	DT -	
Rat Brown Norway	4-5 mois	Continu, 4-5 semaines	Automatique, par pas de 20 s	24 h, par phase	En PC, DT ↑ ; En PS, DT -	En PC, DT ↑, Nb -, DM - ; En PS, rien	van Gool et Mirmiran (1986)

Tableau 5 : Liste de diverses études effectuées chez le rongeur mâle, évaluant l'impact de l'hébergement en EE sur l'architecture du cycle veille-sommeil. DM : durée moyenne, DT : durée totale, LE : Long-Evans, Nb : nombre d'épisodes, nr : non renseigné, PC : phase claire, PS : phase sombre ; ↑ : augmentation significative, (↑) : augmentation non significative, - : pas de modification.

3) Un moment optimal d'intervention pour un vieillissement cognitif réussi?

Chez le rongeur âgé, l'une des questions actuelles est de savoir s'il existe un moment optimal d'intervention environnementale pour favoriser un vieillissement cognitif réussi. Les bénéfices comportementaux et neurobiologiques liés à un enrichissement durant toute la vie, permettant de limiter voire de protéger les animaux des altérations liées à l'âge, ont été largement démontrés (Saito *et al.* 1994 ; Soffié *et al.* 1999 ; Kobayashi *et al.* 2002 ; Lores-Arnaiz *et al.* 2006 ; Leal-Galicia *et al.* 2008 ; Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). Par contre, l'impact d'un enrichissement en fin de vie est plus controversé. Ainsi, certains auteurs ont montré qu'un enrichissement tardif de courte durée (entre 2 semaines et 4,5 mois) permet une préservation, au moins partielle, des fonctions mnésiques (Kobayashi *et al.* 2002 ; Frick et Fernandez 2003 ; Bennett *et al.* 2006 ; Harburger *et al.* 2007 ; Huang *et al.* 2007 ; Kumar *et al.* 2012 ; Sampedro-Piquero *et al.* 2013 ; Speisman *et al.* 2013) et des mécanismes neurobiologiques sous-tendant ces fonctions (Diamond *et al.* 1985 ; Frick et Fernandez 2003 ; Huang *et al.* 2007 ; Kumar et Foster 2007 ; Kumar *et al.* 2012 ; Speisman *et al.* 2013) alors que d'autres auteurs ont mis en évidence qu'un tel enrichissement n'est pas suffisant (Winocur 1998 ; Segovia *et al.* 2006 ; Bouet *et al.* 2011). Kobayashi *et al.* (2002) sont les seuls auteurs à avoir apporté la preuve directe qu'un enrichissement en fin de vie est moins efficace que l'enrichissement durant toute la vie pour protéger les animaux du déclin de mémoire spatiale lié à l'âge. Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que l'enrichissement ait été introduit de manière trop tardive, lorsque les déficits fonctionnels liés à l'âge sont irréversibles, ou que la durée de cet enrichissement ait été trop courte pour réduire les altérations. Ils suggèrent ainsi l'existence d'une période critique pour les bénéfices de l'EE sur le vieillissement cognitif (Freret *et al.* 2012).

L'hébergement en environnement enrichi, permettant de modéliser un style de vie riche en stimulations physique, sociale et cognitive chez le Rongeur, a de nombreux effets bénéfiques sur les plans comportemental et neurobiologique, chez l'animal adulte comme chez l'animal âgé. Bien que l'évaluation de son influence soit compliquée en raison de la multitude de protocoles employés au sein des différents laboratoires, certains effets semblent reproductibles. Ainsi, chez le Rongeur âgé, l'enrichissement des conditions d'hébergement permet notamment la préservation (au moins partielle) des performances de mémoire spatiale et pourrait constituer un facteur de réserve ou de maintien de la fonction cérébrale. Son influence sur certains substrats neurobiologiques de la mémoire spatiale, que sont l'activité oscillatoire hippocampique, la neurotransmission cholinergique et le sommeil, est encore peu connue et mérite d'être explorée, de manière à comprendre mieux par quels mécanismes l'enrichissement des conditions d'hébergement protège les fonctions cognitives du déclin lié à l'âge.

Chez le Rongeur âgé, le maintien du fonctionnement cognitif dépend en partie de l'âge auquel les animaux sont exposés à l'enrichissement de leurs conditions de vie. A l'instar des questions qui restent en suspens chez l'Homme, le moment optimal d'intervention environnementale pour favoriser un vieillissement cognitif réussi reste à déterminer chez le Rongeur âgé.

OBJECTIFS DE MA THESE

Le premier objectif de mon travail de thèse a été d'étudier dans quelle mesure l'enrichissement des conditions d'hébergement jusqu'à- ou à partir d'un âge auquel les déficits cognitifs sont déjà présents contribue au maintien des performances observé chez des animaux âgés hébergés toute leur vie en EE. Dans une première étude, nous avons donc évalué les performances de navigation spatiale en piscine de Morris d'animaux âgés (24 mois) hébergés en EE jusqu'à - ou à partir de - 18 mois et les avons comparé aux performances d'animaux âgés hébergés toute leur vie adulte en ES ou EE (article 1). Par la suite, nous avons cherché à déterminer si l'enrichissement tardif permet de restaurer certaines capacités de mémoire chez des animaux dont les fonctions cognitives sont déjà altérées et / ou s'il protège ces fonctions d'un déclin subséquent. A cette fin, des animaux de 18 mois hébergés jusque-là en ES ont été caractérisés en piscine de Morris puis placés en EE ou ES entre 18 et 24 mois, âge auquel leurs capacités de mémoire spatiale ont été réévaluées (article 2).

Le second objectif de ma thèse a été d'étudier certains mécanismes neurobiologiques par lesquels l'enrichissement des conditions d'hébergement pourrait contribuer à la préservation de certaines fonctions cognitives chez l'animal âgé.

Compte tenu du lien qui existe entre la qualité du sommeil et les performances de mémoire, et compte tenu des altérations du cycle veille-sommeil qui apparaissent avec le vieillissement, nous avons cherché à déterminer si le maintien des performances de mémoire spatiale observé suite à l'hébergement en EE pouvait être associé à une préservation de l'architecture du cycle veille-sommeil chez ces animaux (étude 2). Un enregistrement nyctéméral de l'activité électrophysiologique a pour cela été effectué chez des animaux âgés hébergés jusqu'à 18 ou 24 mois en EE et des animaux hébergés jusqu'à 24 mois en ES, leurs performances de mémoire spatiale ayant été précédemment évaluées en piscine de Morris.

La troisième étude a visé à étudier l'impact de l'hébergement en EE durant toute la vie sur l'un des mécanismes sous-tendant le traitement de l'information spatiale, l'activité oscillatoire hippocampique. Les oscillations θ et gamma γ hippocampiques, ainsi que leur couplage, ayant été associés au traitement des informations spatiales et aux processus de mémorisation, nous avons, chez des animaux adultes et âgés hébergés toute leur vie en EE ou

ES, effectué des enregistrements de potentiels de champ dans le champ CA1 hippocampique durant une tâche sollicitant le traitement des informations spatiales de l'environnement proximal (tâche de détection du changement spatial).

Dans la dernière étude, nous nous sommes intéressés à différents systèmes de neurotransmission susceptibles de moduler les processus mnésiques. Nous avons donc évalué, par une approche en immunoradiographie, la densité en transporteurs vésiculaires de l'acétylcholine (VAcT), des acides aminés inhibiteurs (VIAAT) et du glutamate (VGLUT1-3) dans différentes structures cérébrales chez des animaux âgés hébergés toute leur vie en ES ou en EE et chez des animaux jeunes adultes hébergés en ES (étude 4).

**MATERIELS ET
METHODES GENERAUX**

Matériels et méthodes généraux

Ce chapitre consiste en la présentation des matériels et méthodes utilisés communément aux différentes études de ma thèse. Les détails concernant chaque étude seront exposés dans les chapitres correspondants.

I) SUJETS ET CONDITIONS D'HEBERGEMENT

Des rats femelles Long-Evans provenant du centre d'élevage Janvier Labs (Le Genest-St-Isles, France) sont utilisés. Ces animaux arrivent au laboratoire à l'âge de quatre à cinq semaines et sont placés par huit dans des cages transparentes (60 x 38 x 20 cm). Les animaux séjournent dans des salles à température et humidité contrôlées ($22 \pm 1^\circ\text{C}$ et $55 \pm 5\%$ respectivement), éclairées selon un cycle lumière-obscurité de 12 h : 12 h (allumage à 7 h avec fond sonore durant la phase lumineuse) et ont accès *ad libitum* à l'eau et la nourriture (RF 21, Muceloda, Italie). A l'âge de 6 mois, une nourriture plus riche en fibres et moins riche en protéines et lipides est fournie aux animaux (RF 18, Muceloda, Italie), comme conseillé par le fournisseur d'animaux, pour favoriser un maintien de leur santé au cours du vieillissement.

A l'âge de 2 mois, nos animaux sont placés en milieu d'hébergement différentiel, standard ou enrichi (*Fig 24*). En environnement standard (ES), ils sont placés par paires dans des cages transparentes (46 x 26 x 15 cm). En environnement enrichi (EE), 10 à 12 rates sont placées dans une grande cage grillagée composée de deux compartiments (112 x 40 x 40 cm chacun) communiquant entre eux par deux ouvertures et contenant différents objets tels que des tunnels, des chaînes ou des échelles qui sont changés cinq fois par semaine. Pour les études 1 et 2, les conditions d'hébergement sont modifiées lorsque les animaux ont 18 mois : certains animaux hébergés jusque-là en ES sont placés en EE (étude 1) et d'autres hébergés jusque-là en EE sont alors placés en ES (études 1 et 2). L'âge des animaux au début des tests dépend des études (voir chapitres suivants). Une semaine avant le début des expériences, les animaux sont placés individuellement dans des cages transparentes (46 x 26 x 15 cm) et sont manipulés quotidiennement pendant une minute pour les familiariser à l'expérimentateur.

Les expériences sont réalisées dans le respect des directives européennes relatives à l'expérimentation animale et ont fait l'objet d'un agrément ministériel (référence de l'agrément : AL/36/43/02/13).

Matériels et méthodes généraux



Figure 24. : Photographies illustrant les conditions d'hébergement des animaux.

a) Environnement standard. **b)** Environnement enrichi.

L'utilisation de rats femelles reste relativement rare dans la littérature et peut conduire à des résultats différents de ceux obtenus chez le rat mâle. Cependant, les données de la littérature concernant les différences de performances de mémoire spatiale entre les sexes sont controversées. Notamment, en piscine de Morris, alors que certaines études effectuées chez l'animal jeune adulte ont mis en évidence que les mâles présentent de meilleures performances de navigation spatiale que les femelles (p.e. Blokland *et al.* 2006), la plupart des études n'observe pas de différence entre les mâles et les femelles (p.e. Bucci *et al.* 1995 ; Faraji *et al.* 2010). De la même manière, dans la tâche de détection du changement spatial, des animaux jeunes adultes des deux sexes semblent présenter des résultats similaires Cost *et al.* (2012). Outre les effets chez l'animal jeune, il est possible que le sexe influence le déclin des capacités de mémoire spatiale au cours du vieillissement. En effet, Markowska (1999) a montré un déclin plus précoce des performances en piscine de Morris chez des rats femelles (à partir de 12 mois) que chez des rats mâles (à partir de 18 mois). Cependant, d'après cette étude, les animaux âgés (24 mois) des deux sexes présentent des performances similaires.

Matériels et méthodes généraux

Chez le Rat femelle jeune adulte, le cycle oestrien pourrait en particulier influencer les capacités de mémoire spatiale des animaux (piscine de Morris : Warren et Juraska 1997 ; détection du changement spatial d'objets : Sutcliffe *et al.* 2007). Cependant, nos animaux femelles ayant été élevés en absence d'animaux mâles, leurs cycles oestriens ne devraient pas être synchronisés (Schank 2001). Ainsi, si les variations hormonales participent à la variabilité des résultats, elles ne peuvent expliquer qu'une partie de la variabilité au sein de chaque groupe et en aucun cas entre les groupes. De plus, à partir de 17 mois d'âge, le cycle oestrien disparaît chez le Rat femelle, qui se trouve en dioestrus permanent (LeFevre et McClintock 1988).

II) DISPOSITIF ET PROTOCOLE GENERAL DU TEST DE NAVIGATION EN PISCINE DE MORRIS (ETUDES 1-3)

1) Dispositif

La piscine de Morris (*Fig 25*) est une enceinte circulaire (160 cm de diamètre et 60 cm de hauteur) en Plexiglas blanc (1), remplie à moitié d'eau ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) rendue opaque par l'ajout de lait en poudre. Une plate-forme de 11 cm de diamètre (2) peut être placée dans l'enceinte. Une caméra, placée au-dessus de la piscine (3), est reliée à un système informatique permettant d'enregistrer et analyser les déplacements de l'animal dans l'enceinte.

Deux dispositifs de mêmes dimensions ont été utilisés au cours de ma thèse, dans deux pièces d'expérimentation distinctes (salles 1 et 2) fournissant des indices visuels distaux différents. Deux systèmes d'analyse ont ainsi été utilisés (salle 1 : Noldus, Wageningen, The Netherlands ; salle 2 : SMART, SD Instrument, USA).

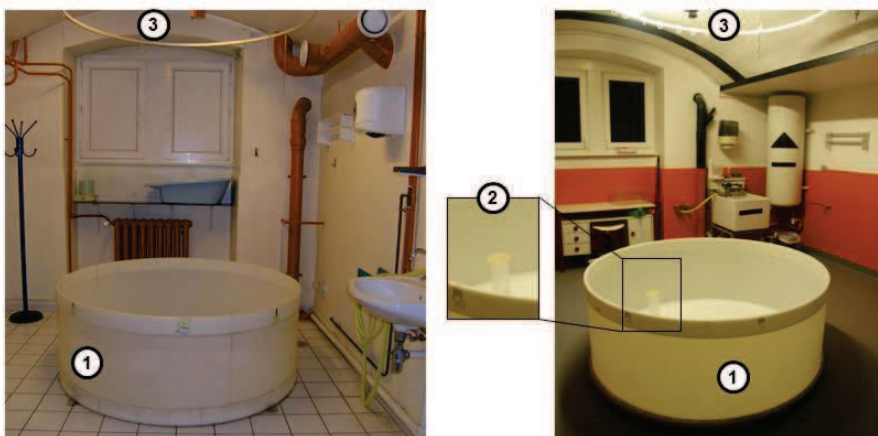


Figure 25. : Photographies des dispositifs de piscine de Morris dans les deux pièces d'expérimentation, la salle 1 à gauche et la salle 2 à droite (cf texte).

Matériels et méthodes généraux

2) Protocole

Dans les différentes études réalisées au cours de ma thèse, le test de navigation en piscine de Morris est toujours constitué d'une phase d'acquisition et d'un ou plusieurs test(s) de rétention effectués à différents délais suivant l'acquisition.

L'*acquisition* de la localisation de la plate-forme est évaluée sur plusieurs séances de quatre essais, à raison d'une séance par jour. La plate-forme est alors immergée 1 cm sous la surface de l'eau, de manière à ce qu'elle ne soit pas visible pour l'animal, selon une localisation qui reste constante tout au long de l'apprentissage. Pour chaque essai, l'animal est placé face contre la paroi d'un point de départ qui varie d'essai en essai. L'essai se termine lorsque l'animal atteint la plate-forme ou au bout de 60 s s'il ne la trouve pas. Dans ce cas, il y est guidé par l'expérimentateur. L'animal est ensuite laissé 10 s sur la plate-forme avant d'être retiré de la piscine et placé au point de départ suivant. Pour chaque essai, la distance parcourue pour atteindre la plate-forme est mesurée et corrigée selon Lindner (1997). Cette méthode vise à supprimer l'influence de la vitesse de nage sur la distance parcourue pour atteindre la plate-forme lors des essais durant lesquels les animaux ne trouvent pas la plate-forme avant la fin du temps limite. Pour ce faire, une distance de nage maximale est calculée (correspondant à la médiane de la distance parcourue sur tous les essais durant lesquels la plate-forme n'est pas localisée par les animaux) et assignée à ces essais ainsi qu'aux essais durant lesquels les rats retrouvent la plate-forme dans la limite du temps mais parcourent une distance plus importante que cette distance maximale calculée. Cette correction nous semble particulièrement importante pour les études portant sur les effets du vieillissement, car les animaux âgés présentent une vitesse de nage inférieure aux animaux jeunes adultes.

Les *tests de rétention* permettent dans nos études d'évaluer les performances de rappel à long-terme de la localisation de la plate-forme. Ils sont pour cela effectués au minimum 24 h après la dernière séance d'acquisition. Ils sont constitués d'un essai, dont la durée peut varier entre 30 et 60 s, durant lequel l'animal est placé dans l'enceinte ne contenant pas de plate-forme. Pour l'analyse des résultats, la piscine est découpée en quatre quadrants virtuels, l'ancienne localisation de la plate-forme étant située au centre de l'un de ces quadrants (appelé « quadrant cible »). L'analyse la plus couramment effectuée pour déterminer si l'animal effectue une recherche spatiale spécifique de la plate-forme consiste à comparer le temps passé dans le quadrant cible au hasard (25 % de la durée totale de l'essai). D'autres variables sont également utilisées en fonction des différentes études (voir chapitres suivants).

Matériels et méthodes généraux

En plus de ces deux étapes clés, le test de navigation en piscine de Morris peut également comporter une étape de *pré-entraînement*. Elle consiste en une séance de quatre essais effectuée avant l'acquisition, durant laquelle la plate-forme est placée juste au-dessus de la surface de l'eau et rendue visible par l'ajout d'un contour noir, à une localisation différente de celle de l'acquisition. Cette phase permet à l'animal de prendre connaissance de l'existence de la plate-forme et d'apprendre que celle-ci constitue sa seule échappatoire. Cette étape permet également à l'animal d'apprendre les aspects procéduraux de la tâche, à savoir nager jusqu'à la plate-forme, grimper dessus et y rester (Vorhees et Williams 2006).

Au cours de ma thèse, différents protocoles ont été utilisés en fonction des études, et sont récapitulés ci-dessous (*Tableau 6*).

Etude		Salle	Pré-entraînement	Nombre de séances d'acquisition	Délai avant le test de rétention	Durée du test de rétention	
1	<i>Article 1</i>	1	Non	5	24 h	60 s	
	<i>Article 2</i>	18 m	1	Non	5	24 h	30 s
		24 m	2	Oui	8	24 h et 10 j	30 s
2 (Article 3)		2	Oui	8	24 h	30 s	
3		2	Oui	8	24 h	30 s	
4		2	Oui	8	24 h	30 s	

Tableau 6. : Récapitulatif des protocoles de navigation en piscine de Morris pour les différentes études de ma thèse, j : jours, m : mois

III) ENREGISTREMENTS ELECTROPHYSIOLOGIQUES (ETUDES 2-3)

1) Chirurgie

Les rates sont opérées pour l'implantation d'une électrode dans le champ CA1 hippocampique. Chaque animal est anesthésié *via* une injection intra-péritonéale (0,2 ml / 100

Matériels et méthodes généraux

g pour les rates adultes ; 0,15 ml / 100 g pour les rates âgées) d'une solution de kétamine (3/4 ; Imalgene 5 %) et de xylazine (1/4 ; Rompun 2 %) puis placé dans un cadre stéréotaxique. Après l'injection intramusculaire d'un antibiotique (Extencilline : 0,1 ml / 100 g), l'animal est enveloppé dans une couverture pour éviter l'hypothermie. Le dessus de la tête est aseptisé au Sterlane puis une injection sous-cutanée d'un anesthésique local (Xylocaïne 2 % : 0,1 ml) est effectuée dans la zone qui sera incisée. L'application d'un gel ophtalmique (Lacrigel) protège de la déshydratation oculaire durant la chirurgie. Une incision longitudinale médiane de la peau est pratiquée et les os sont soigneusement mis à nu. Après perforation des os du crâne à l'aide d'une fraise dentaire et dégagement des méninges, une électrode est implantée dans l'HPC dorsal gauche (voir dans les chapitres suivants pour les détails de chaque étude). Deux vis en acier inoxydable sont fixées dans l'os du crâne, l'une à l'arrière du lambda (électrode de terre) et l'autre à l'avant du bregma (électrode de référence ; Gordon *et al.* 2005). Les différentes électrodes sont ensuite reliées à un connecteur et le tout est stabilisé par deux autres vis en acier inoxydable placées dans l'os du crâne, de la colle (Super Bond C&B) et du ciment (Paladur) dentaires. A la fin de l'opération, un anti-inflammatoire non stéroïdien est administré par voie sous-cutanée (Metacam, 0,1 ml / 100 g). Après une période post-opératoire de sept à dix jours, les animaux sont placés dans la salle d'enregistrement électrophysiologique.

2) Acquisition des données

A) Dispositif d'enregistrement

Deux dispositifs ont été utilisés en fonction des études.

Dispositif 1 (étude 2 – 3) : chaque animal est relié, *via* un connecteur tournant (Plastic one, USA) lui permettant de se déplacer librement, à une série d'amplificateurs (1 par voie ; BioAmp, ADInstruments). Les signaux obtenus sont amplifiés (1000 fois) et filtrés en ligne (0,5 Hz – 1 kHz) puis numérisés (1000 Hz).

Dispositif 2 (étude 3) : chaque animal est relié, *via* un connecteur tournant, à un système SnR de 16 canaux (Alpha-Omega). Les signaux sont amplifiés (200 fois), filtrés en ligne (0,1 Hz – 8 kHz), puis numérisés (22000 Hz). Pour les animaux enregistrés avec le dispositif 2, avant d'effectuer les analyses spectrales, les signaux sont traités pour réduire la fréquence d'échantillonnage à 2200 Hz et filtrés entre 0,1 et 500 Hz.

Matériels et méthodes généraux

B) Analyses

Les tracés obtenus en potentiel de champ représentent l'évolution au fil du temps de la différence de potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode placée dans la structure d'intérêt. Les tracés bruts sont importés sous MatLab (R2012a ; Mathworks). Les analyses sont effectuées sur des segments sans artefacts, ces derniers étant définis comme des fluctuations rapides de la trace présentant une variation d'amplitude supérieure au triple de l'écart-type par rapport à la moyenne. Les analyses spectrales sont réalisées avec la bibliothèque de scripts « Chronux » (Bokil *et al.* 2010) avec un produit temps-fréquence de 3 et 5 fenêtres de pondération. Une transformée de Fourier est effectuée sur une fenêtre glissante (fenêtre : 4 s ; pas : 1 s). A partir de ce spectre sont obtenues les puissances des différentes bandes de fréquences étudiées (voir chapitres suivants) ainsi que la fréquence correspondant au pic de puissance de l'oscillation θ .

IV) ANALYSES STATISTIQUES

Les données comportementales sont soumises à des analyses de la variance (ANOVAs) à mesures répétées, des ANOVAs factorielles ou des ANOVAs à un facteur. Ces analyses sont suivies d'un test post-hoc de Newman-Keuls (NK) quand nécessaire. Certaines comparaisons au hasard sont effectuées par le biais d'un test *t* de Student pour chacun des groupes. Des analyses de corrélation linéaire simple sont réalisées par un test de Pearson. Le seuil de significativité considéré est de 0,05 pour l'ensemble des analyses.

L'ensemble des résultats est présenté sous forme de moyenne + SEM.

ETUDE 1



Short communication

Exposure to an enriched environment up to middle age allows preservation of spatial memory capabilities in old age



Fanny Fuchs, Brigitte Cosquer, Lorène Penazzi, Chantal Mathis, Christian Kelche, Monique Majchrzak¹, Alexandra Barbelivien^{*,1}

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, UMR 7364, CNRS, Université de Strasbourg, Faculté de Psychologie, Neuropôle de Strasbourg, GDR 2905 du CNRS, 12 rue Goethe, 67000 Strasbourg, France

HIGHLIGHTS

- Environmental enrichment until middle age preserves spatial memory of aged rats.
- Enrichment until middle-age is as efficient as whole adult life enrichment to preserve spatial memory of aged rats.
- Enrichment from middle age only mitigates age-related spatial memory decline.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 September 2015

Received in revised form

16 November 2015

Accepted 17 November 2015

Keywords:

Aging

Cognitive reserve

Environmental enrichment

Rat

Water maze

ABSTRACT

In rats, some cognitive capabilities, like spatial learning and memory, are preserved from age-related decline by whole adult life enriched environment (EE) exposure. However, to which extent late EE contributes to such maintenance remains to be investigated. Here we assessed the impact of late housing condition (e.g., from the age of 18 months) on spatial learning and memory of aged rats (24 months) previously exposed or unexposed to EE from young adulthood. The results showed that late EE was not required for spatial memory maintenance in aged rats previously housed in EE. In contrast, late EE mitigates spatial memory deficit in aged rats previously unexposed to EE. These outcomes suggest that EE exposure up to middle age provides a “reserve”-like advantage which supports an enduring preservation of spatial capabilities in old age.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Alteration of cognitive functions, particularly when memory is concerned, is not a systematic hallmark of physiological aging in both humans and rodents [1,2]. Emphasizing the importance of life experience in the maintenance of cognitive abilities during aging, several studies have shown that whole life enriched environment (EE) exposure mitigates or even prevents age-related decline of cognitive functions displayed by rodents exposed to standard condition (SC) [3–7, but 8]. EE exposure starting much later in life also has beneficial effects on cognitive functions of aged rodents [4,9–12, but 13]. However, aged rats exposed to whole life EE outperform aged rats exposed to EE later in life [4]. The question remains to which extent late EE exposure contributes to improved

memory performances of whole life EE exposed subjects. To the best of our knowledge, this has never been investigated before. The aim of the current study was to assess, in a single experiment, the impact of a late EE exposure on spatial memory capabilities in aged rats previously housed in EE or SC. To this end, we used an experimental design in which rats were initially housed either in EE or SC from 2 to 18 months (“Initial” housing condition as first between-subject factor) and then either maintained in their previous housing condition or exposed to the other one from 18 to 24 months (“Late” housing condition as second between-subject factor). The age of 18 months was chosen to either maintain or change housing condition because spatial memory capabilities are declining at this age (e.g., Ref. [14]). Spatial memory of aged rats was assessed in a Morris water maze task, as our previous work showed that whole life EE exposure prevented place learning and memory from age-related decline in this task [6].

Five to six weeks old female Long-Evans rats purchased from Janvier Labs (Le Genest-St.-Isles, France) were housed in large transparent cages (60 × 38 × 20 cm) in groups of 8 for two weeks,

Abbreviations: SC, standard condition; EE, enriched environment; NK, Newman–Keuls.

* Corresponding author at: LNCA, UMR 7364 CNRS/Université de Strasbourg, 12 rue Goethe, 67000 Strasbourg, France. Fax: +33 368 851 958.

E-mail address: alexandra.barbelivien@unistra.fr (A. Barbelivien).

¹ Equivalent contribution.

then randomly assigned to their initial housing condition, SC or EE, as previously described [6]. In SC, pairs of rats were housed in transparent cages (46 × 26 × 15 cm). In EE, rats were housed in groups of 10–12 in wire-mesh cages (112 × 40 × 40 cm) with various objects (tunnels, toys, chains, etc.) changed five times a week. At the age of 18 months, the rats were assigned to their late housing condition: those housed in SC remained in SC (S/S) or were transferred in EE (S/E) and those housed in EE remained in EE (E/E) or were transferred to SC (E/S). Food and water were provided ad libitum. All rats were housed in the same animal facility with temperature (22 ± 1 °C) and humidity (55 ± 5%) controlled under a 12–12 h light–dark cycle (lights on at 8:00 a.m.). At the age of 24 months, rats were singly housed in transparent cages (42 × 26 × 15 cm) and transferred in another animal facility located near the experimental room. One week later, they were handled for 1 min/day over five consecutive days before the onset of behavioral testing. For the current study, all rats ($n = 14$ per group) were from the same cohort apart from seven rats of the S/S group which were from a cohort obtained 20 months later. For this group, data obtained were first compared then pooled, as no significant difference between the two cohorts was observed, whatever the variable analyzed. Experimental protocols and animal care were in compliance with the European Community Council Directive (2010/63/UE) and the current project was validated by the local ethical committee (CREMEAS, authorization no. AL/36/43/02/13).

The place learning task was identical to that previously reported in Harati et al. [6]. The rat had to learn to find a hidden platform (diameter 11 cm) located at a fixed position in the center of one quadrant of a pool (diameter 160 cm, height 60 cm) located in an experimental room with many extra-maze cues. A video-tracking system (Noldus, Wageningen, The Netherlands) was used to collect various aspects of the rat's behavior. During each of the five consecutive training days, it received four successive trials having different starting points in a randomized order. For each trial, the rat was given a maximum of 60 s to reach the submerged platform. After 10 s on the platform, the next trial began. When it failed to find the platform within 60 s, the rat was gently guided to it and left there for 10 s. Daily performances were assessed by computing the number of successful trials i.e., trials for which rat located the platform [15] and the distance swum to reach the platform corrected according to the method described by Lindner [16]. Twenty four hours after training, long term memory of the platform location was assessed during a single 60-s trial without platform (probe trial). During this trial, several variables reflecting platform search accuracy were collected: the time spent in the quadrant where the platform was located during training (time in the target quadrant), the average distance to a zone covering the area of the platform enlarged by 10-cm (average distance to the annulus), and the number of crossings of this zone (annulus crossings). Swimming speed and thigmotaxis (i.e., the time spent swimming in the 10 cm peripheral part of the pool) were also analyzed. A visible platform task (four consecutive trials with a new platform location) was conducted the next day to assess whether some subjects displayed major motivational and/or sensory-motor bias. One rat of the S/S group failed to find the visible platform, and was thus discarded from all statistical analyses.

Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) with "Initial" and "Late" housing condition as between-subject factors and, for training, "Day" as a within-subject factor. The ANOVAs were completed by post hoc comparisons using the Newman–Keuls (NK) multiple range test. For analysis of probe-trial performance, the time spent in the target quadrant was also compared to chance level (15 s) using a Student's *t*-test. The threshold for rejecting the null hypothesis was 0.05 throughout.

The impact of late EE on spatial learning abilities was assessed by measuring performance improvement during the five days

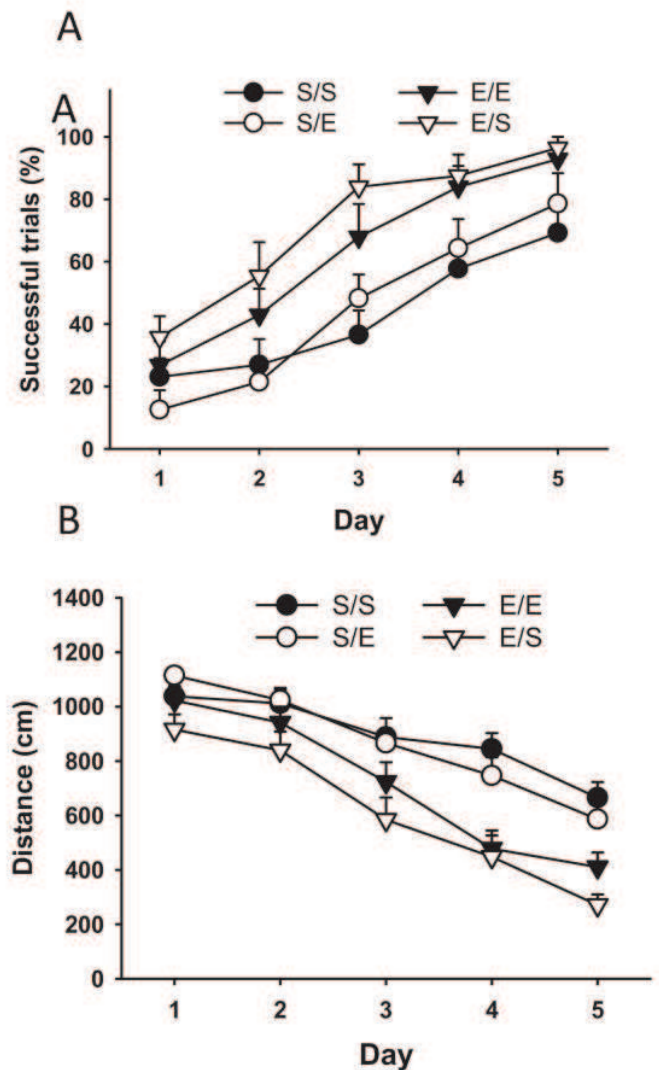


Fig. 1. Performances during the five training days (mean + S.E.M.). (A) Successful trials in percent of total trials. (B) Distance swum to reach the platform (mean of the four successive trials). For statistical description, see text. Group abbreviations are S/S for rats reared until 24 months in SC, S/E for rats reared from 18 to 24 months in EE, E/E for rats reared until 24 months in EE, E/S for rats reared until 18 months in EE.

of water maze training (Fig. 1). The overall number of successful trials (Fig. 1A) was higher in groups housed until 18 months in EE (E/E and E/S) than in those housed until 18 months in SC (S/E and S/S; "Initial", $F_{1/51} = 17.59$, $p < 0.0001$). In contrast, housing condition after this age failed to affect this performance ("Late", $F_{1/51} = 0.35$, $p = 0.55$), whatever the previous housing condition ("Initial" × "Late", $F_{1/21} = 1.07$, $p = 0.32$). Performance improvement throughout training was similar in all groups ("Day", $F_{4/204} = 73.59$, $p < 0.0001$ with day to day change, $p < 0.01$ at least; but no interaction of "Day" with the other factors: X "Initial", $F_{4/204} = 1.57$, $p = 0.18$; X "Late", $F_{4/204} = 1.01$, $p = 0.4$; X "Initial" × "Late", $F_{4/204} = 0.858$, $p = 0.49$). The analysis of the distance swum to reach the platform (Fig. 1B) confirmed that the rats housed until 18 months in EE (E/E and E/S) outperformed those (S/E and S/S) housed until 18 months in SC ("Initial", $F_{4/204} = 81.92$, $p < 0.0001$; "Day", $F_{4/204} = 81.92$, $p < 0.001$; "Initial" × "Day" interaction: $F_{4/204} = 3.92$, $p < 0.01$). These two populations differed significantly from the third to the last day of training (NK, $p < 0.01$ at least). Housing condition from 18 to 24 months had no effect on performances of rats previously housed either in SC or in EE ("Late", $F_{1/51} = 0.84$, $p = 0.36$; "Late" × "Initial", $F_{1/51} = 2.02$, $p = 0.16$; "Late" × "Day", $F_{4/204} = 0.90$, $p = 0.46$; "Late" × "Initial"

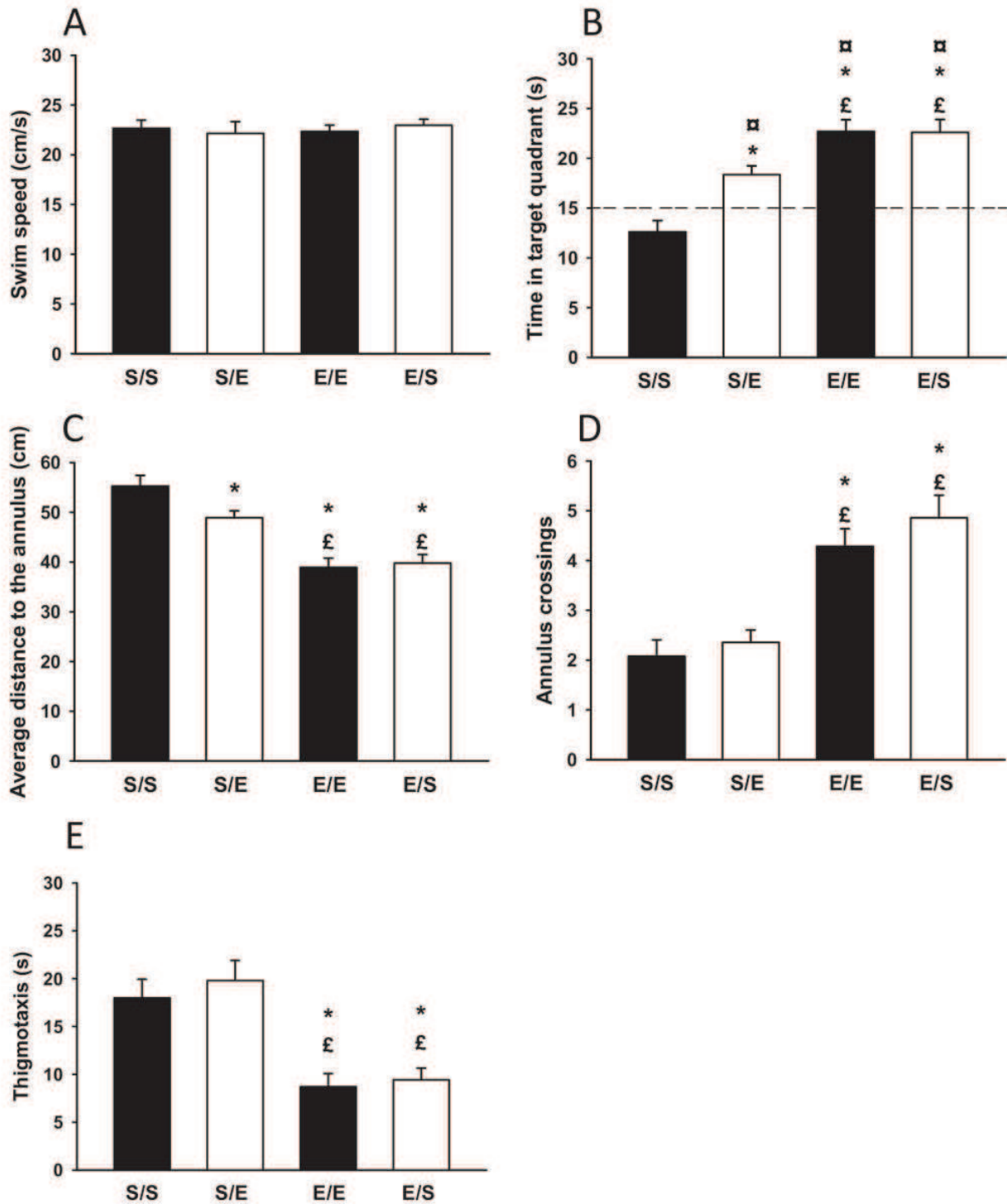


Fig. 2. Performance during the probe trial (mean + S.E.M.). (A) Swim speed. (B) Time spent in the target quadrant. The dashed line indicates chance level. (C) Average distance to the annulus. (D) Number of annulus crossings. (E) Thigmotaxis. Statistics: □, significantly different from chance level; *, significantly different from S/S; £, significantly different from S/E. Group abbreviations are S/S for rats reared until 24 months in SC, S/E for aged rats reared from 18 to 24 months in EE, E/E for rats reared until 24 months in EE, E/S for rats reared until 18 months in EE.

X "Day", $F_{4/204} = 0.51$, $p = 0.72$). These results suggest that late EE is not necessary to maintain spatial learning abilities when rats are housed until middle-age in EE. Moreover, late housing in EE is not sufficient to improve performance during the training stage in rats housed until middle age in SC. The impact of late EE was also evaluated on spatial memory through measures of platform search accuracy during the probe trial (Fig. 2). Importantly, swimming speed (Fig. 2A) was similar in all groups ("Initial", $F_{1/51} = 0.64$, $p = 0.76$; "Late", $F_{1/51} = 0.44$, $p = 0.51$; "Initial" X "Late", $F_{1/51} = 0.05$, $p = 0.94$) and therefore it could not influence search measures. Groups housed in EE until 18 months (E/E and E/S) spent more time

in the target quadrant than those housed in SC until this age (S/E and S/S; Fig. 2B) and the S/E group benefiting from late EE was also more efficient than the S/S one ("Initial", $F_{1/51} = 39.99$, $p < 0.0001$; "Late", $F_{1/51} = 6.67$, $p < 0.05$; "Initial" X "Late", $F_{1/51} = 6.22$, $p < 0.05$). Post hoc comparisons confirmed that the time spent in the target quadrant was higher in E/E and E/S groups than in S/E and S/S groups ($p < 0.05$, at least), but also higher in S/E than in S/S group ($p < 0.001$). Actually, the S/S group displayed a major deficit, as rats of this group failed to spend more time than chance in the target quadrant (i.e., 15 s; Student's t -test $p < 0.05$ at least for all the other groups). Thus, although late EE cannot improve performances of aged rats

housed until middle-age in SC during training, it does improve memory of the platform location in the probe test. However, this late-EE induced-improvement is modest when compared to that obtained with EE exposure until middle-age. Accuracy in the platform search behavior was more specifically assessed with measures of the average distance to the annulus and the number of annulus crossings. Analyses of the average distance to the annulus (Fig. 2C) yielded similar between group differences than quadrant time analysis ("Initial", $F_{1/51} = 51.08, p < 0.0001$; "Late", $F_{1/51} = 4.08, p < 0.05$; but no "Initial" X "Late" interaction, $F_{1/51} = 2.38, p = 0.12$). Post hoc comparisons showed that this distance was lower in E/E and E/S groups than in S/E and S/S groups ($p < 0.001$, at least), but also in S/E than in S/S group ($p < 0.05$). Differences between these two groups did not appear when analyzing annulus crossings (Fig. 2D). Indeed, the ANOVA indicated significant effect of "Initial" ($F_{1/51} = 43.77, p < 0.001$) but not of "Late" ($F_{1/51} = 0.16, p = 0.68$) or of their interaction ($F_{1/51} = 1.43, p = 0.23$). Post hoc comparisons confirmed that both E/E and E/S groups outperformed S/E and S/S ones on this variable ($p < 0.001$ at least), but that S/E performed as poorly as S/S. Thus, the platform search precision was strongly improved in aged rats housed from young adulthood in EE. However, late EE had a modest impact on these measures and improved only the average distance to the platform in aged rats housed until middle-age in SC. Finally, thigmotaxis (Fig. 2E) was analyzed to assess whether the maintenance of this behavior contributes to the low precision of platform search in groups housed until 18 months in SC. The analysis indicated that S/E and S/S groups displayed more thigmotactic swimming than those housed until 18 months in EE (E/E and E/S; "Initial", $F_{1/51} = 33.45, p < 0.0001$), and that housing condition from 18 to 24 months had no effect on this variable ("Late", $F_{1/51} = 0.11, p = 0.75$; "Late" X "Initial", $F_{1/51} = 0.55, p = 0.46$). Post hoc comparisons confirmed that thigmotaxis was lower in E/E and E/S groups than in S/E and S/S groups ($p < 0.005$ at least).

First of all, our results show that late housing in EE is not necessary for the maintenance of spatial learning and memory in rats housed from young adulthood to middle-age in EE. Indeed, 24-months aged rats housed from 2 to 18 months in EE performed as whole adult life enriched rats during both training and 24-h probe trial, whatever the variable analyzed. These results are the first to show that EE exposure until 18 months is as efficient as a whole life exposure to preserve spatial learning and memory from age-related decline, and provide strong experimental evidence in favor of enduring protective effects of EE housing from young adulthood to middle age. Thus, social, sensorimotor and cognitive stimulations until 18 months may promote neuroplasticity that protects against the age-related alterations responsible for spatial memory decline and/or may allow the maintenance of cognitive performances despite such alterations. The fact that EE exposure before cerebral lesions is able to reduce lesion-induced impairments more drastically than exposure initiated after the insult [17] attends to favor the former neuroprotective-like effect of EE exposure. Taking into account the theories explaining successful cognitive aging partly by life experience [18], the results of our study suggest that enriched life until advanced middle-age may allow the constitution of a large enough "reserve" that renders the brain able to cope with physiological aging.

We also show that, compared to whole-life EE-housed rats, those housed in EE from 18 months were less performant during both training and probe trial. However, this late EE housing allowed aged rats to recall correctly the location of the platform during the probe trial even if their search was less accurate, perhaps as a consequence of higher thigmotaxis. Even if rats housed from 18 months in EE did not outperformed whole-life SC-housed rats during training, their performances were better when probe trial performance were assessed by proximity and time spent in the target quadrant, two sensitive measures to detect group differences in

spatial memory [19]. It has been proposed that a shift from spatial to non-spatial strategies may appear with aging [2,20]. As training performances of both late EE- and whole life SC- housed groups improved at a similar rate, their contrasting performances during the probe trial suggest that only the late EE exposed group used a spatial strategy to find the platform during the training period. Alternatively, attenuation of an age-related failure in consolidation and/or recall processes by late EE exposure might also explain better performance in the probe test. Overall, these results show that late EE housing only mitigates cognitive deficits of aged rats. A similar result has been previously reported in a different task assessing problem-solving capabilities, the Hebb-Williams maze task [4]. Our study extends this limited beneficial effect of a late enrichment to a spatial memory task requiring flexible use of distal cues to locate a place in the environment. Nevertheless, as the duration of EE housing was of only 6 months duration in the late-enriched group, we cannot discard the hypothesis that late EE housing for a longer duration might totally rescue cognitive performance in aged rats (i.e., beneficial effect proportional to EE exposure length). However, as testing this hypothesis would mainly require to initiate EE housing at an earlier age, any demonstration of rescuing effect of EE in this case might also be the consequence of this age-related factor (i.e., earlier exposure).

To conclude, the present work highlights the enduring beneficial effects of EE housing between early adulthood and middle-age. This suggests that maintenance of spatial capabilities in aged subjects is most powerfully triggered by neuroplasticity taking place before an already advanced age. We also show that EE housing initiated later in life is able to mitigate spatial memory deficit of aged rats. Whether neuroplasticity induced by housing moderately aged rodents in a more stimulating environment rescues spatial learning and memory in already cognitively declining subjects or promotes the maintenance of those cognitive capabilities from subsequent decline remains to be investigated.

Acknowledgments

This work was supported by the University of Strasbourg and the CNRS. The authors would like to express their gratefulness to O. Bildstein, G. Edomwony and O. Egesi for their valuable and constant investment in the care provided to the rats and the outstanding management of the enriched environments.

References

- [1] R. Cabeza, N.D. Anderson, J.K. Locantore, A.R. McIntosh, Aging gracefully: compensatory brain activity in high-performing older adults, *Neuroimage* 17 (2002) 1394–1402.
- [2] M. Gallagher, R. Burwell, M. Burchinal, Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze, *Behav. Neurosci.* 107 (1993) 618–626.
- [3] M. Soffié, K. Hahn, E. Terao, F. Eclancher, Behavioural and glial changes in old rats following environmental enrichment, *Behav. Brain Res.* 101 (1999) 37–49.
- [4] S. Kobayashi, Y. Ohashi, S. Ando, Effects of enriched environments with different durations and starting times on learning capacity during aging in rats assessed by a refined procedure of the Hebb-Williams maze task, *J. Neurosci. Res.* 70 (2002) 340–346.
- [5] P. Leal-Galicia, M. Castañeda-Bueno, R. Quiroz-Baez, C. Arias, Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging, *Neurobiol. Learn. Mem.* 90 (2008) 511–518.
- [6] H. Harati, M. Majchrzak, B. Cosquer, R. Galani, C. Kelche, J.-C. Cassel, A. Barbelivien, Attention and memory in aged rats: impact of lifelong environmental enrichment, *Neurobiol. Aging* 32 (2011) 718–736.
- [7] H. Harati, A. Barbelivien, K. Herbeaux, M.-A. Muller, M. Engeln, C. Kelche, J.-C. Cassel, M. Majchrzak, Lifelong environmental enrichment in rats: impact on emotional behavior, spatial memory vividness, and cholinergic neurons over the lifespan, *Age (Dordr.)* 35 (2013) 1027–1043.
- [8] M. Van Waas, M. Soffié, Differential environmental modulations on locomotor activity, exploration and spatial behaviour in young and old rats, *Physiol. Behav.* 59 (1996) 265–271.

- [9] L.L. Harburger, T.J. Lambert, K.M. Frick, Age-dependent effects of environmental enrichment on spatial reference memory in male mice, *Behav. Brain Res.* 185 (2007) 43–48.
- [10] F.L. Huang, K.P. Huang, C. Boucheron, Long-term enrichment enhances the cognitive behavior of the aging neurogranin null mice without affecting their hippocampal LTP, *Learn. Mem.* 14 (2007) 512–519.
- [11] T. Freret, J.M. Billard, P. Schumann-Bard, P. Dutar, F. Dauphin, M. Boulouard, V. Bouet, Rescue of cognitive aging by long-lasting environmental enrichment exposure initiated before median lifespan, *Neurobiol. Aging* 33 (5) (2012), 1005.e1–1005.e10.
- [12] P. Sampedro-Piquero, P. De Bartolo, L. Petrosini, C. Zancada-Menendez, J.L. Arias, A. Begega, Astrocytic plasticity as a possible mediator of the cognitive improvements after environmental enrichment in aged rats, *Neurobiol. Learn. Mem.* 114 (2014) 16–25.
- [13] V. Bouet, T. Freret, P. Dutar, J.M. Billard, M. Boulouard, Continuous enriched environment improves learning and memory in adult NMRI mice through theta burst-related-LTP independent mechanisms but is not efficient in advanced aged animals, *Mech. Ageing Dev.* 132 (2011) 240–248.
- [14] J.M. Wyss, B.D. Chambless, I. Kadish, T. van Groen, Age-related decline in water maze learning and memory in rats: strain differences, *Neurobiol. Aging* 21 (2000) 671–681.
- [15] S. Ruediger, D. Spirig, F. Donato, P. Caroni, Goal-oriented searching mediated by ventral hippocampus early in trial-and-error learning, *Nat. Neurosci.* 15 (2012) 1563–1571.
- [16] M.D. Lindner, Reliability, distribution, and validity of age-related cognitive deficits in the Morris water maze, *Neurobiol. Learn. Mem.* 68 (1997) 203–220.
- [17] D. Cutuli, S. Rossi, L. Burello, D. Laricchiuta, V. De Chiara, F. Foti, P. De Bartolo, A. Musella, F. Gelfo, D. Centonze, L. Petrosini, Before or after does it matter? Different protocols of environmental enrichment differently influence motor, synaptic and structural deficits of cerebellar origin, *Neurobiol. Dis.* 42 (2011) 9–20.
- [18] A.M. Tucker, Y. Stern, Cognitive reserve in aging, *Curr. Alzheimer Res.* 8 (2011) 354–360.
- [19] H.R. Maei, K. Zaslavsky, C.M. Teixeira, P.W. Frankland, What is the most sensitive measure of water maze probe test performance? *Front. Integr. Neurosci.* 3 (4) (2009).
- [20] B. Shukitt-Hale, J.J. McEwen, A. Szprengiel, J.A. Joseph, Effect of age on the radial arm water maze—a test of spatial learning and memory, *Neurobiol. Aging* 25 (2004) 223–229.

ARTICLE 2

Late enrichment maintains accurate recent and remote spatial memory in aged rats that were unimpaired when middle-aged but fails to rescue it in already cognitively declining individuals

Fanny Fuchs, Karine Herbeaux, Noémie Aufrere, Christian Kelche, Chantal Mathis, Alexandra Barbelivien*, Monique Majchrzak*¹

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, UMR 7364 CNRS/Université de Strasbourg, Faculté de Psychologie, Neuropôle de Strasbourg, GDR 2905 du CNRS, 12 rue Goethe, 67000 Strasbourg, France

*, equivalent co-last authors

¹ Corresponding author: LNCA UMR 7364 CNRS/Université de Strasbourg, 12 rue Goethe, 67000 Strasbourg, France

Tel: 33 368 851 933; Fax : 33 368 851 958; Email: majchrza@unistra.fr

Running title: Late enrichment and spatial memory of aged rats

Article en préparation pour une soumission dans le journal Learning and Memory.

Abstract

Exposure of rodents to a stimulating environment has beneficial effects on some cognitive functions that are impaired during physiological aging, and especially spatial reference memory. The present study investigated whether environmental enrichment rescues these functions in already declining subjects and/or protects them from subsequent decline. Sub-groups of 17 month-old rats with unimpaired versus impaired performance in a spatial reference memory task (Morris water maze) were housed until the age of 24 months in standard or enriched environment. They were then trained in a second reference memory task, conducted in a different room than the first, and recent (1 day) and remote (10 days) memory were assessed. In unimpaired sub-groups, spatial memory declined from 17 to 24 months in rats housed in standard conditions; an enriched environment during this period allowed maintenance of accurate recent and remote spatial memory. At 24 months, rats impaired at the age of 17 months housed in enriched environment learned the task and displayed substantial recent memory, but their performance remained lower than that of unimpaired rats, showing that enrichment failed to rescue spatial memory in already cognitively declining rats.

Keywords: Aging, Enriched environment, Reference memory, Water maze

Introduction

Enriched environment housing provides rodents with enhanced sensory, motor and cognitive stimulation and more sustained social interaction as compared to standard laboratory housing conditions. Exposure to an enriched environment during adulthood modifies many aspects of rodent behavior and improves learning and memory in a variety of tasks, especially those assessing spatial memory (e.g. Schrijver *et al.* 2002 ; Leggio *et al.* 2005 ; Birch *et al.* 2013 ; Hullinger *et al.* 2015). Evaluation of the effects of environmental enrichment on spatial memory is especially relevant in the context of physiological aging, as enrichment was shown to stimulate neuroplasticity in brain areas playing a major role in this cognitive domain (e.g. Faherty *et al.* 2003 ; Leggio *et al.* 2005 ; Birch *et al.* 2013 ; Hullinger *et al.* 2015), which is particularly sensitive to aging (Gallagher *et al.* 2006). Several studies using cross-sectional experimental designs showed that spatial memory progressively declines during adulthood. Thus, performances of middle-aged subjects are impaired compared to those of younger adults, but less severely than those of elderly subjects (e.g. Wyss *et al.* 2000 ; Bizon *et al.* 2009 ; Harati *et al.* 2013). Conversely, impaired spatial memory is not a systematic hallmark of physiological aging and many experiments have highlighted the heterogeneity of individual performance at a given chronological age (e.g. Gage *et al.* 1984 ; Gallagher *et al.* 1993 ; Hullinger et Burger 2015 ; McQuail *et al.* 2015). Interestingly, several studies showed that a sustained exposure of middle-aged rodents to an enriched environment mitigated spatial memory deficit in old age (e.g. Kobayashi *et al.* 2002 ; Harburger *et al.* 2007 ; Freret *et al.* 2012 ; Kumar *et al.* 2012 ; but see Bouet *et al.* 2011). However, whether housing middle-aged rodents in a more stimulating environment rescues spatial memory capabilities in already cognitively declining subjects or protects against further decline remains to be explored.

The current study assessed the impact of enriched environment housing on spatial learning and memory in aged rats in which these capabilities were either conserved or already impaired at middle age. For this longitudinal study, middle-aged (17 months) rats were trained in a first reference memory task in a Morris water maze (i.e., finding an escape platform located in a fixed position in a pool), a place-learning task widely used to distinguish individuals with or without impaired learning and memory during aging (e.g. Gallagher *et al.* 2006 ; Cassel *et al.* 2007). Similar number of rats thereby classified as either unimpaired or impaired were subsequently housed for 6 months in enriched environment (EE) or standard conditions (SC). At the age of 24 months, the reference memory capabilities of these now

aged rats were again assessed, in a new environment. As a control for the effects of primary training, 18 month-old naïve rats of the same cohort and 2 month-old rats were randomly housed for 6 months in either SC or EE and then tested (at the age of 24 and 8 months respectively) on the same reference memory task (cross-sectional study).

Results

Classification of middle-aged rats before differentiated housing

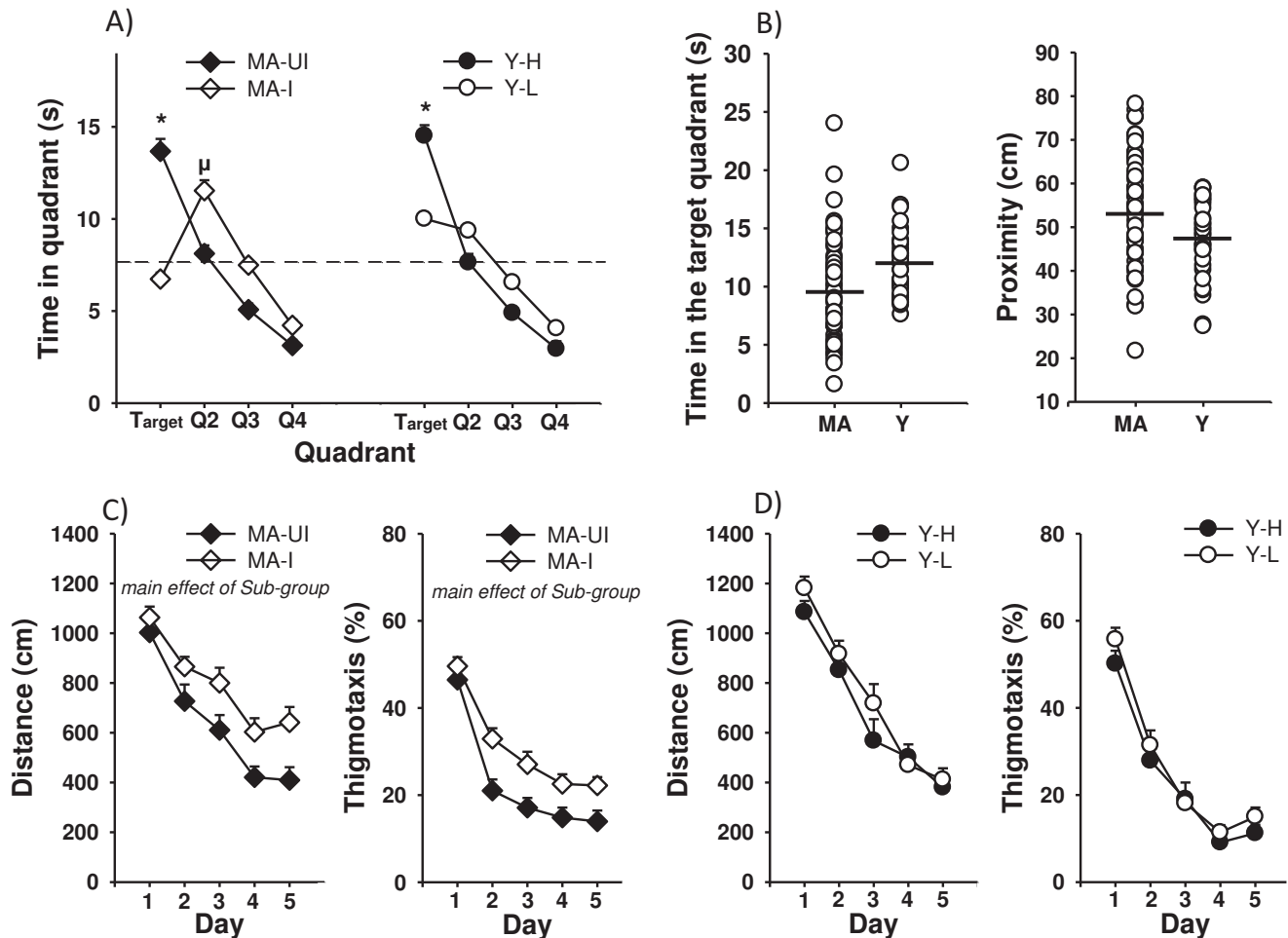


Fig.1. Classification of middle-aged rats before differentiated housing. A) Time spent in the four quadrants during the probe trial in middle-aged (MA, left part) and young adult (Y, right part) rats: MA rats were characterized according to their search profile (see text) as unimpaired (UI) or impaired (I) and Y rats as highly specific (H) or less specific (L). The dashed line indicates chance level. B) Individual differences in the probe trial in MA and Y rats: time spent in the target quadrant (left part) and proximity (right part). The horizontal line represents the mean of the group. C) Performance during the training period in the two sub-groups of MA rats: distance swum to the platform (left part) and percentage thigmotaxis (right part). D) Performance during the training period in the two sub-groups of Y rats: distance swum to the platform (left part) and percentage thigmotaxis (right part). Data are mean + SEM. Statistics: *, difference between time spent in the target quadrant and time spent in the other 3 quadrants; μ , difference between time spent in this quadrant and time spent in all the others including the target quadrant. For detailed statistical description see text.

A group of middle-aged rats (17 months old, $n=56$) was trained on a place-learning task using a procedure sensitive to age-related spatial learning deficit in SC-housed rats (e.g. Harati *et al.* 2011). During 5 training days, a submerged platform was located at an unchanged position in a water maze; the following day, the platform was removed and time spent in each quadrant of the pool was monitored for 30 s (probe trial). Data are illustrated in Figure 1.

To distinguish sub-groups of middle-aged rats displaying contrasting spatial memory capabilities, we used a measure of platform search accuracy during this probe trial rather than measures of performance during training, as non-spatial strategies might lead to performance improvement during training (e.g. Cassel *et al.* 2007 ; Rutz *et al.* 2009). Platform search profile during the probe trial was established as follows: time spent in the quadrant in which the platform had been located during training (target) and, from longest to shortest, times spent in the other quadrants (Q2 to Q4). These profiles, representing accuracy of platform search, were used to divide the population into two sub-groups (Fig. 1A) on cluster analysis (K-mean clustering). In one sub-group, rats spent more time in the target than in any of the other quadrants ($F(3,66) = 73.54$, $P < 0.0001$; $P < 0.001$ for each comparison). The high specificity of this search profile suggested conserved long-term spatial memory, and this sub-group was named "middle-aged unimpaired" (MA-UI, $n=23$). In the other sub-group, rats spent more time in another quadrant than in all others, including the target ($F(3,96) = 45.35$, $P < 0.0001$; $P < 0.0001$ for each comparison), indicating impaired spatial capability; this sub-group was named 'middle-aged impaired' (MA-I, $n=33$). In order to assess whether such an impaired search profile might emerge during aging, data previously obtained in young adult rats (4-5 months, $n=34$; data collected over a 6-year period from 3 cohorts of rats of the same strain, sex and breeder, housed in SC and trained in the water maze with the same material and procedure as those of the current study) were subjected to the same analysis. In this young-adult population (Fig 1A), the search profile of one sub-group was highly specific (Y-H, $n=15$), as rats spent more time in the target than in each of the other quadrants ($F(3,42) = 95.70$, $P < 0.0001$; $P < 0.001$ for each comparison), like the MA-UI sub-group. In the other sub-group, search was less specific (Y-L, $n=19$). Indeed, rats of this sub-group spent an equivalent time in the target and one of the other quadrants, but more time in the target than in the other two quadrants ($F(3,54) = 68.18$, $P < 0.0001$; $P < 0.001$ for each comparison), suggesting less accurate memory of platform location without, however, showing the search bias observed in the MA-I sub-group: i.e., specific search in a wrong quadrant. Examination of the scatter of variables reflecting platform search accuracy (Fig. 1B, time spent in the target

quadrant, and proximity: i.e., mean distance from the platform location) further confirmed that some middle-aged rats were profoundly impaired.

We then analyzed whether the sub-groups of rats identified by K-mean clustering had also displayed differences in performance during the five days of training. In the middle-aged population, MA-UI outperformed MA-I. ANOVA indicated a main effect of Sub-group for distance swum to reach the platform, thigmotaxis (Figure 1C, $F_{(1,54)} = 14.36$, $P < 0.001$ and $F_{(1,54)} = 11.04$, $P < 0.01$ respectively) and number of successful trials (data not shown; $F_{(1,54)} = 9.88$, $P < 0.01$), but performance improvement during training was similar in the two sub-groups for these three variables (no Sub-group x training Day interaction, but a main effect of Day: $F_{(4,216)} = 33.04$, $F_{(4,216)} = 84.76$, $F_{(4, 216)} = 33.24$, respectively; $P < 0.0001$ at least). Interestingly, in the young-adult population, no differences were observed between the Y-H and Y-L sub-groups, whatever the variable analyzed. As illustrated in Figure 1D, Y-H and Y-L displayed similar overall performance and improvement throughout training (main effect of Day: $F_{(4,128)} = 56.20$, $P < 0.0001$ for distance swum to reach the platform and $F_{(4,128)} = 141.68$, $P < 0.0001$; no significant effects of Sub-group or Sub-group x Day interaction).

Six-months' EE housing in young adult and middle-aged rats induces beneficial effects on place learning

Young adult (8 months) and aged rats (24 months) previously housed for 6 months in either SC or EE were first trained with a visible platform (1 session; data not shown), then with a hidden platform for 8 consecutive days (Figure 2). As illustrated in Figure 2A, the overall distance swum to reach the platform was shorter in EE than SC groups (Housing, $F_{(1,38)} = 18.48$, $P < 0.001$) and in young adult than aged groups (Age, $F_{(1,38)} = 26.95$, $P < 0.0001$). The improving effect of enrichment seemed greater in aged groups, but statistical analysis failed to support this impression (no significant Housing x Age interaction). Performances improved at similar rates in all groups (Day, $F_{(7,266)} = 30.49$, $P < 0.0001$; no significant interaction between Day and the other factors). Similarly, statistical analysis of successful trials (Fig. 2B) and thigmotaxis (Fig. 2C) indicated significant effects of Day ($F_{(7,266)} = 27.73$, $P < 0.0001$ and $F_{(7,266)} = 15.85$, $P < 0.0001$ respectively), Housing ($F_{(1,38)} = 5.55$, $P < 0.05$ and $F_{(1,38)} = 13.52$, $P < 0.001$ respectively) and Age ($F_{(1,38)} = 15.95$, $P < 0.001$ and $F_{(1,38)} = 41.98$, $P < 0.0001$ respectively), but no significant interaction between Housing and Age. However, a significant interaction between Age and Day for each of these two variables ($F_{(7,266)} = 3.85$, $P < 0.001$ and $F_{(7,266)} = 2.65$, $P < 0.05$ respectively) indicated that young adult and aged rats improved at different rates; post-hoc comparisons showed that successful trials increased only from the

first to the second day of training in young adult groups ($P < 0.05$), but until the third day in aged groups ($P < 0.05$), indicating that optimal performance levels were more rapidly reached in young adults. There was also no significant decrease in thigmotaxis after the third day in young adult groups ($P < 0.05$ from day 1 to day 3), whereas thigmotaxis continued to decrease from day 3 to day 7 in aged groups ($P < 0.05$), remaining significantly higher than in young adult groups until the last training day ($P < 0.05$).

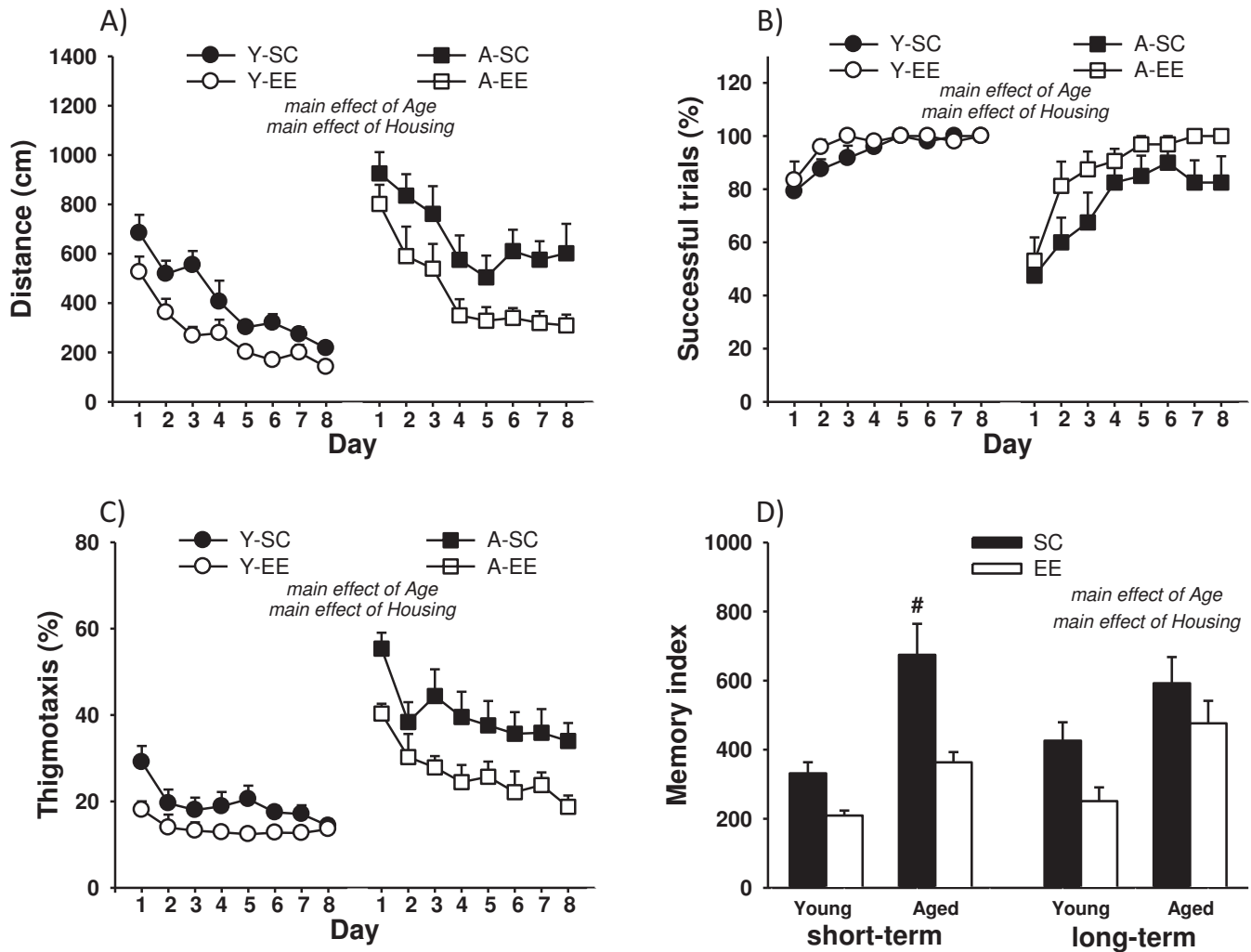


Fig.2. Effect of 6 months' environmental enrichment on training performance in young adult and aged rats. A) Distance swum to reach the platform. B) Successful trials as percentage of total trials. C) Percentage thigmotaxis time. D) Short-term (left part) and long-term (right part) memory indices. Data are mean + SEM. Statistic: #, significantly different from all other groups. For detailed statistical description see text. Group abbreviations: Y-SC for young adult rats housed in standard condition, Y-EE for young adult rats housed in enriched environment, A-SC for aged rats housed in standard condition and A-EE for aged rats housed in enriched environment.

The last analysis conducted on the data collected during training assessed the impact of enrichment and aging on long-term and short-term memory components of daily performance improvement. A short-term memory index (mean of the last 2 daily trials) and a long-term memory index (mean of the first daily trial) were computed for the distance swum to reach the platform from the second to the last training day (adapted from George et al., 2006); the highest are these indices, the poorest are the performances. As illustrated in Figure 2D, enrichment had a major impact on age-related impairment of short-term memory assessed by this index: the SC aged group was greatly impaired as compared to its young adult counterpart, but this age-related deficit was reversed by enrichment (Housing, $F_{(1,38)} = 25.56$, $P < 0.0001$; Age, $F_{(1,38)} = 19.40$, $P < 0.0001$; Housing x Age, $F_{(1,38)} = 3.69$, $P = 0.06$; post-hoc $P < 0.001$ for each comparison). Fig. 2D seems to suggest that the impact of enrichment on long-term memory index was more limited in aged group, but also less affected by aging; however, analysis revealed significant effects of Housing ($F_{(1,38)} = 6.13$, $P < 0.05$) and Age ($F_{(1,38)} = 11.10$, $P < 0.01$), but no interaction between the two.

Two 30-sec probe trials were conducted to assess recent (1 day after the last training day) then remote memory of platform location (10 days after 4 additional trials conducted immediately after the first probe test). Results are illustrated in Figure 3. In the recent memory test, platform search accuracy measurements indicated age-related impairment. Thus, aged rats were impaired for time spent in the target quadrant (Fig. 3A; Age, $F_{(1,38)} = 12.59$, $P < 0.01$), proximity (Fig 3B; Age, $F_{(1,38)} = 19.73$, $P < 0.0001$), and target area crossings (Fig. 3C; Age, $F_{(1,38)} = 38.17$, $P < 0.0001$). Enrichment had no impact on these variables in aged rats, but seemed to increase target area crossings in young adults. Statistical analysis confirmed these observations, with a significant interaction between Housing and Age ($F_{(1,38)} = 4.77$, $P < 0.05$). Post-hoc comparison showed that EE young adults outperformed all other groups on this variable ($P = 0.05$ at least). Analysis of platform search profile (Fig. 3A) indicated that the SC and EE groups behaved similarly in each age group, but that search was less specific in aged than young adult rats, the latter spending more time in the target than in any other quadrant ($P < 0.001$ for each comparison in SC and EE groups) whereas aged rats spent significantly more time in the target and another quadrant than in the other two ($P < 0.05$ at least for each comparison in SC and EE groups). Comparison of time spent in the target quadrant at chance level (i.e., 7.5 s) showed that aged rats, whatever their late housing condition, spent significantly more time in the target quadrant ($P < 0.05$), confirming that they displayed recent memory for platform location.

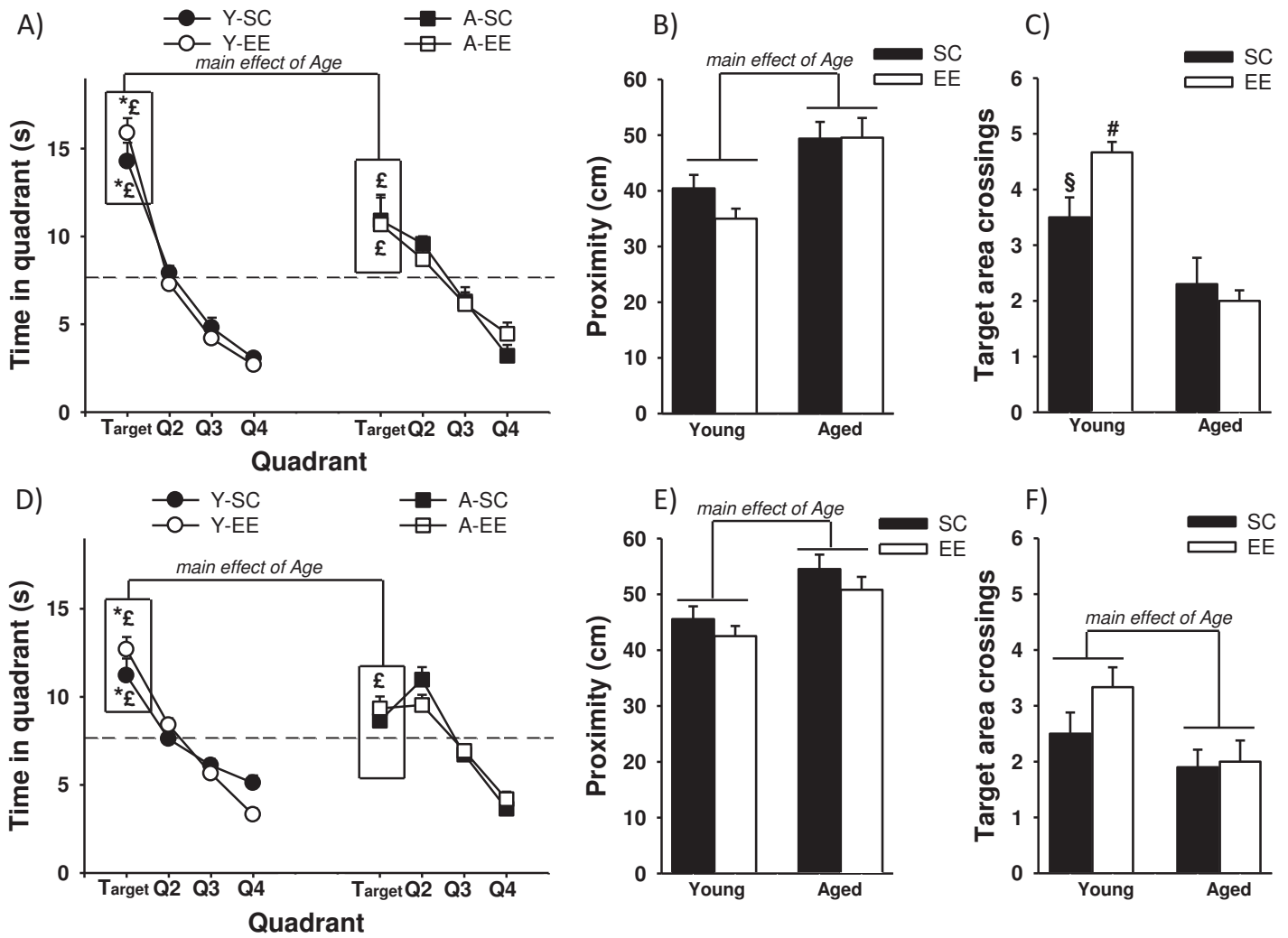


Fig.3. Effect of 6 months' environmental enrichment in young adult and aged rats on probe trial performance assessed 1 day (A, B, C) and 10 days (D, E, F) after the end of training. A) and D) Time spent in the four quadrants. The dashed line indicates chance level. B) and E) Proximity (average distance to the platform). C) and F) Number of target area crossings. Data are mean + SEM. Statistics: *, difference between time spent in the target quadrant and time spent in the other 3 quadrants; £, significantly above chance level; #, significantly different from all the other groups; §, significantly different from the A-EE group. For detailed statistical description, see text. Group abbreviations: Y-SC for adult rats housed in standard condition, Y-EE for adult rats housed in enriched environment, A-SC for aged rats housed in standard condition and A-EE for aged rats housed in enriched environment.

In the remote memory test, age was the only factor supporting between-group differences in platform search accuracy. Thus, young adult rats outperformed aged ones for time spent in the target quadrant (Fig. 3D; Age, $F_{(1,38)} = 11.91$, $P < 0.01$), proximity (Fig 3E; Age, $F_{(1,38)} = 14.24$, $P < 0.001$) and target area crossings (Fig. 3F; Age, $F_{(1,38)} = 6.98$, $P < 0.05$). Analysis of search profiles (Fig 3D) indicated that, like in the recent memory test, young adult rats spent significantly more time in the target than in any other quadrant ($P < 0.001$ for each

comparison in SC and EE groups), indicating that platform search remained very specific even with this longer training-to-test interval. The aged rats still spent more time in a more extended zone of the pool including the target quadrant and another one ($P < 0.05$ at least as compared to the two other quadrants in SC and EE groups), suggesting remote memory for platform location, even if less specific than in young adult rats. However, at this longer training-to-test interval, only SC aged rats failed to spend significantly more time than chance level in the target quadrant ($P < 0.05$ at least for the other groups), showing that their remote memory of platform location was impaired.

Late enrichment has beneficial effects on platform search accuracy, but only in rats unimpaired when middle-aged

The previous analyses showed that late enrichment is able to improve spatial learning in aged rats and to conserve remote memory of platform location, even if less specifically than in young adults. We next addressed the main question of the study: whether housing middle-aged rats in an enriched environment rescues spatial learning and memory in already cognitively declining subjects or protects them against subsequent decline. We therefore analyzed the impact of late enrichment on place-learning in aged rats according to performance in middle age.

The platform search profile obtained at the age of 17 months in rats surviving until the end of the experiment ($n=41$) is illustrated in Figure 4, according to sub-group and future housing condition. In both subsequent housing conditions, MA-UI rats spent more time in the target than in each of the other quadrants ($P < 0.05$ at least) and MA-I rats spent more time in a non-target quadrant than in the others ($P < 0.001$).

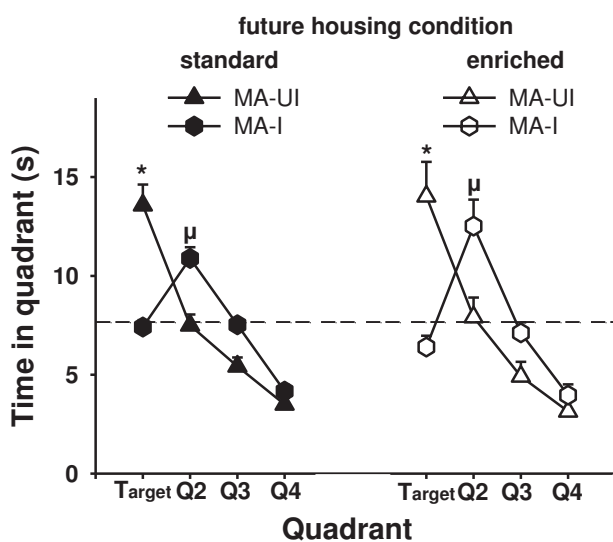


Fig.4. Search profile during the probe trial performed at middle-age in rats that survived until 24 months. Time spent in the four quadrants are mean + SEM. The dashed line indicates chance level. Statistics: *, difference between time spent time in the target quadrant and time spent in the other 3 quadrants; μ , difference between time spent in this quadrant and time spent in all the others including the target quadrant. For detailed statistical description see text.

Data for training obtained for these four groups (hereafter referred to as "unimpaired" (UI) and "impaired" (I) in the second place-learning task, performed when they were 24 months old, are illustrated in Figure 5.

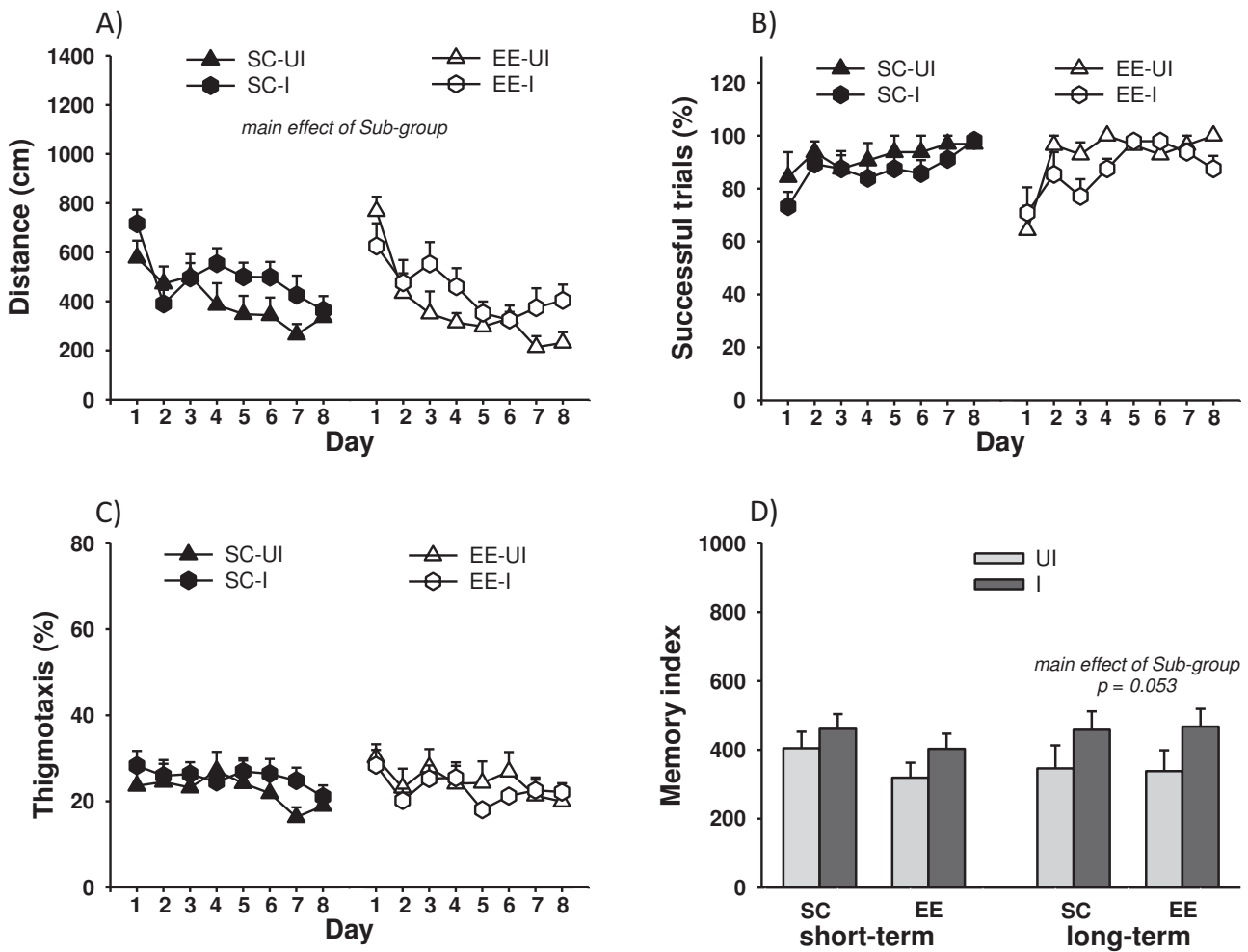


Fig.5. Impact of late housing condition on training performance in aged rats according to their performance at middle-age. A) Distance swum to reach the platform. B) Successful trials as percentage of total trials. C) Percentage thigmotaxis time. D) Short-term (left part) and long-term (right part) memory indices. Data are mean + SEM. Statistic: For detailed statistical description see text. Group abbreviations: SC for aged rats housed in standard condition and EE for aged rats housed in enriched environment; UI and I indicate their probe performance at 17 months of age.

Analysis of the distance swum to reach the platform (Fig. 5A) indicated that overall distance was shorter in the aged UI sub-group than in the I sub-group ($F_{(1,37)} = 4.30, P < 0.05$). No difference according to sub-group was observed for thigmotaxis (Fig. 5C), although analyzing successful trials (Fig. 5B) showed sub-group difference that was nearly significant ($F_{(1,37)} = 3.22, P = 0.081$). Overall performance improved during training (Day; $F_{(7,259)} = 11.89, P < 0.0001$; $F_{(7,259)} = 3.40, P < 0.01$; $F_{(7,259)} = 7.21, P < 0.0001$ for each variable, respectively) at

similar rates in all four groups (no significant interactions between Sub-group and Housing condition). Analysis of memory indices (Fig. 5D) found no difference between sub-groups for short-term memory, whereas UI rats tended to show better long-term memory ($F_{(1,37)} = 3.97$, $P = 0.053$). Importantly, these analyses showed that Housing had no significant effect on performance during training. These results indicate that, in contrast to its beneficial impact in naïve rats, enrichment provided no further benefit in rats that had been trained in a first reference memory task when middle-aged. Figures 2 and 4 clearly show that it was mainly SC aged rats that benefited from pre-training; complementary analyses (Supplemental data) indicated that pre-training significantly reduced the distance swum to reach the platform, increased the number of successful trials, reduced thigmotaxis and improved short-term memory index only in SC rats (Supplemental Figure).

Data for the probe trials are illustrated in Figure 6. For recent memory, the UI sub-group outperformed the I sub-group for time spent in the target quadrant (Fig. 6A; $F_{(1,37)} = 8.18$, $P < 0.01$) and proximity (Fig. 6B; $F_{(1,37)} = 8.05$, $P < 0.01$), target area crossings (Fig. 6C) remaining very low in both sub-groups. Moreover, post-hoc comparison conducted on the nearly significant interaction between Sub-group and Housing condition for time spent in the target quadrant ($F_{(1,37)} = 3.2$, $P = 0.07$) showed that UI rats outperformed I rats only in the EE group ($P < 0.05$). Only EE-UI group displayed a specific platform search profile, as at the age of 17 months: time spent in the target quadrant was significantly greater than time spent in any other quadrant ($P < 0.001$ for each comparison), suggesting that recent memory for platform location was conserved. By contrast, SC-UI, SC-I and EE-I rats showed lower accuracy in platform search, spending more time in both the target and another quadrant than in the two others ($P < 0.05$ at least). However, as EE-UI rats, rats in these groups spent significantly longer than chance in the target quadrant ($P < 0.05$ at least). In the remote memory test, sub-group differences were no longer observed (Fig. 6D, E and F). Search profile analysis indicated degraded memory of platform location. In the SC-UI, SC-I and EE-I groups, time spent in the target quadrant only differed from that spent in one other quadrant ($P < 0.01$ at least). However, platform search was more specific in the EE-UI group and, although time spent in the target quadrant failed to differ significantly from time spent in one other quadrant ($P = 0.08$), it differed from time spent in the two others ($P < 0.01$ at least). Only the EE-UI group spent significantly longer than chance in the target quadrant on the remote probe test ($P < 0.05$), further confirming the beneficial effects of late enrichment on spatial memory in this group.

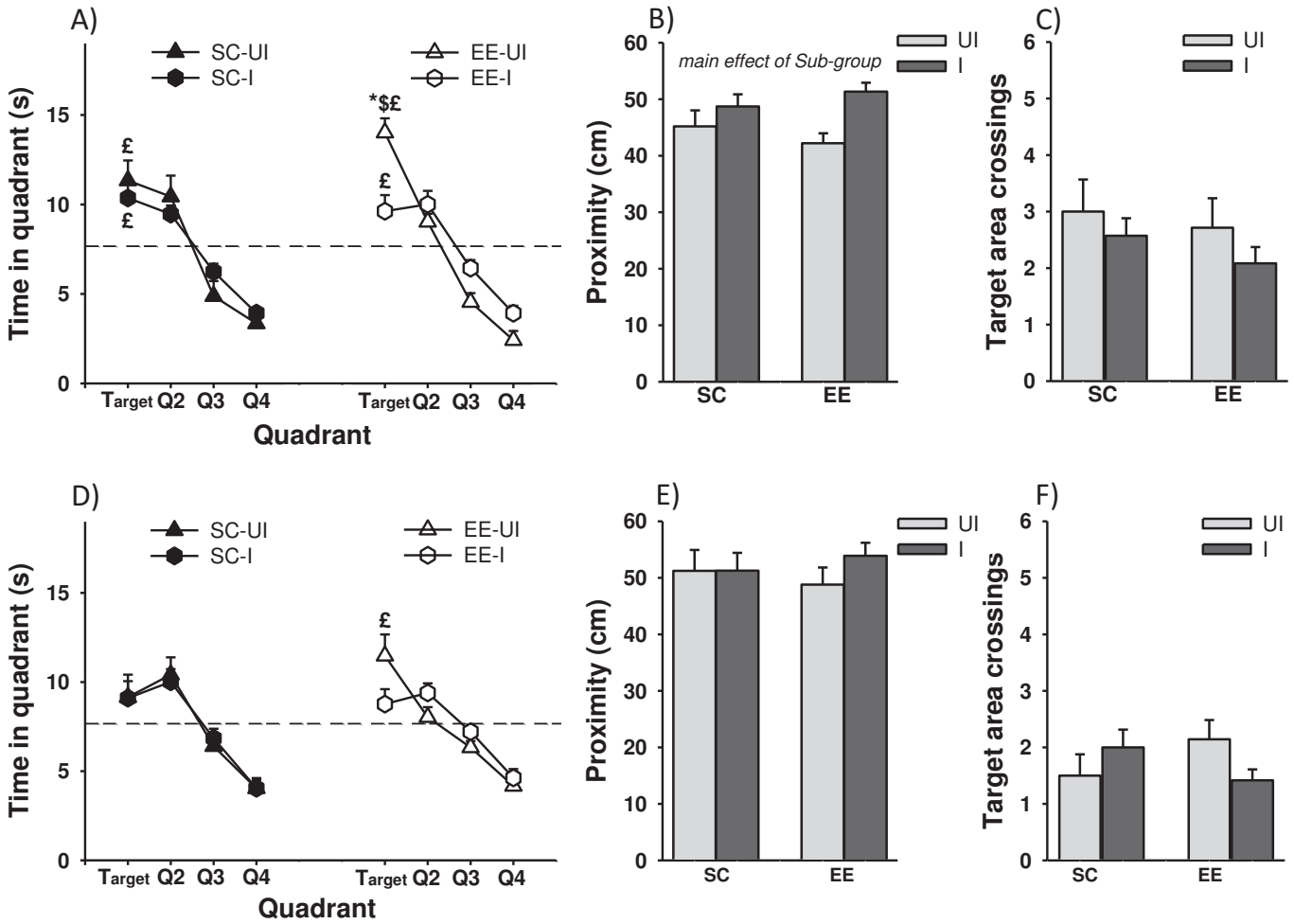


Fig.6. Impact of late housing condition on probe trial performance assessed 1 day (A, B, C) and 10 days (D, E, F) after the end of training in aged rats according to their performance at middle-age. A) and D) Time spent in the four quadrants. The dashed line indicates chance level. B) and E) Proximity (average distance to platform). C) and F) Number of target area crossings. Data are mean + SEM. Statistics: *, difference between time spent in the target quadrant and time spent in the other 3 quadrants; £, significantly above chance level; \$, significantly different from EE-I. For detailed statistical description, see text. Group abbreviations: SC for aged rats housed in standard condition and EE for aged rats housed in enriched environment; UI and I indicate their probe performance at 17 months of age.

Discussion

In this study, a reference memory task was used to assess the impact of late enriched environmental housing (from the age of 18 months) on spatial learning and memory in aged (24 months) rats. The cross-sectional study showed that late enrichment facilitated learning and remote memory in a group of naïve aged rats, but that aged animals remained impaired as compared to younger adults (8 months) on all measures of platform-search accuracy. The longitudinal study indicated that late enriched environmental housing maintained accurate spatial memory in aged rats that were unimpaired in the same cognitive domain when middle-aged (17 months), but failed to rescue spatial memory in already cognitively declining rats.

Some middle-aged rats display accurate spatial memory whereas others are severely impaired

Cross-sectional studies have shown that spatial reference memory in rats declines between the ages of 3-6 months and 12-18 months, depending on the strain and chronological ages under investigation (Aitken et Meaney 1989 ; Markowska 1999 ; Wyss *et al.* 2000 ; Bizon et Gallagher 2003 ; Bizon *et al.* 2009 ; McQuail *et al.* 2015). Some of these studies also reported further decline following these ages (e.g. Bizon *et al.* 2009 ; McQuail *et al.* 2015). In Long Evans female rats, previous cross-sectional studies by our team also showed impaired performance at 15 months as compared to 6 month-old subjects (Harati *et al.* 2013), and further degradation of spatial reference memory between the age of 13-15 months and 25-27 months (Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). However, several studies highlighted the fact that the age-related decline in spatial memory reported in studies comparing age-groups concerns only some of the subjects (e.g. Gallagher *et al.* 1993 ; Hullinger et Burger 2015 ; McQuail *et al.* 2015). Coherently with these reports, using a criterion able to differentiate rats according to platform-search accuracy on a probe trial, the present results showed that some rats displayed accurate spatial memory at 17 months, while others were severely impaired, searching for the platform in another quadrant than the target one. Taking into account their lower performance improvement during training, this bias seen in the probe trial might indicate that they were using spatial cues from outside the maze (test-room features) to guide their behavior at the end of the training period but that these cues were not relevant enough to allow accurate platform search. This hypothesis suggests that these rats might need more trials to use extra-maze cues to efficiently locate the platform. The fact that this sub-group no longer displayed this bias when tested with a longer training period when they were aged is in

agreement with this hypothesis; although this sub-group also performed worse than sub-group of unimpaired rats during training at the age of 24 months, they displayed recent memory for platform location and a search profile that was correct even if low in accuracy.

Spatial memory is altered in aged rats housed in standard conditions

The results of our cross-sectional study confirmed that aged rats show impairment in training. They swam longer distances to reach the platform and were less efficient (fewer successful trials) than young adults. Aged rats were also impaired on probe trials, whatever the variable used to assess platform-search accuracy. However, they displayed recent memory for platform location, even if they searched for it in a broader zone of the pool than young adults. These results confirm that, although impaired compared to young adults, aged rats are able to learn a reference memory task in the Morris water maze if they have had extended training (Gallagher *et al.* 1993 ; Clayton *et al.* 2002). The present results also showed that the impaired performance of aged rats during the training phase was due to a pronounced short-term memory deficit (higher short-term memory index), but also to a long-term memory deficit (higher long-term memory index), as previously reported using within- and between-days performance improvement as measures of short- and long-term memory, respectively (Aitken *et al.* 1989 ; Shukitt-Hale *et al.* 1998). However, age-related deficits in short-term memory (Lindner *et al.* 1992 ; McQuail *et al.* 2015) or long-term memory (Foster *et al.* 2007) have also been reported. Variations in study design (massed versus distributed training trials, and presence or absence of an interpolated probe during the training phase) might explain these discrepancies. The present data also demonstrated that, while aged rats exhibited recent memory, they did not display remote memory for platform location, a result that might suggest that their less specific memory trace was also more sensitive to degradation. Only a few studies have evaluated the impact of aging on the persistence of memory traces, and to our knowledge none used a spatial reference memory task. Some reported that aging impaired remote contextual fear memory (memory that also depends on hippocampus integrity) but left recent contextual fear memory intact (Oler *et al.* 1998 ; Houston *et al.* 1999).

In the present longitudinal study, in agreement with previous studies in which even short training period during middle age improved the performance of aged rats in a spatial task (Hansalik *et al.* 2006 ; van Groen *et al.* 2002), pre-training at the age of 17 months facilitated spatial learning at the age of 24 months, especially in rats housed in standard conditions. This beneficial effect was not related, in the present experiment, to memory for spatial cues as, in

contrast to the aforementioned studies, aged rats were tested in a different room at 24 months. As also discussed by others (e.g. Hansalik *et al.* 2006 ; van Groen *et al.* 2002), this beneficial effect of pre-training in the present study might be due to a carry-over effect for two main aspects of the task: firstly, a procedural aspect (i.e., remembering that an escape platform has to be found); and secondly, memory of a previously learned strategy for solving the task, and especially a strategy enabling the platform to be located using extra-maze spatial cues. The fact that pre-trained rats exhibited less thigmotaxis and less frequent failure to find the platform (high rate of successful trials) as early as the first day of training, but also showed a lower short term index, clearly supports such a carry-over effect. Importantly, the present results showed that pre-training had a beneficial effect on neither the accuracy nor the persistence of spatial memory in aged rats. The platform search profiles of pre-trained and naïve aged rats were similar during both recent and remote memory tests, and neither group displayed remote memory for platform location. Therefore, even when pre-trained in a task that clearly allows a carry-over effect, aged rats displayed spatial memory deficit. Importantly, during the recent memory probe trial, aged rats with accurate spatial memory at middle-age behaved similarly to aged rats showing impairment at middle-age, searching for the platform in an extended part of the pool, whereas they had focused specifically on the target quadrant when middle-aged. These results indicate that, although the combined effect of pre-training and extended training before recent memory assessment allowed impaired aged rats to display recent memory for platform location, spatial memory capabilities nevertheless declined with age in the sub-group of rats unimpaired at middle-age.

Enrichment favors spatial learning and allows remote memory, but only in aged rats unimpaired when middle-aged

The cross-sectional study showed that 6 months of enriched environment housing facilitated spatial learning, whether initiated in young adults or middle-aged rats. EE groups swam shorter distances to reach the platform than SC groups and were more efficient in solving the task (more successful trials). Although enrichment failed to protect learning against age-related deficit, it alleviated the deficit in short-term memory exhibited by SC aged rats. Thus, late enriched environment exposure mitigates age-related deficit, in agreement with previous studies (e.g. Kobayashi *et al.* 2002 ; Harburger *et al.* 2007 ; Freret *et al.* 2012 ; Kumar *et al.* 2012 ; but see Bouet *et al.* 2011). The present results also showed that, although EE young adults outperformed SC young adults on a measure of platform-search accuracy (annulus crossing), enrichment had no beneficial effects on the recent memory probe trial in aged

subjects. In particular, both SC and EE aged rats displayed a less accurate platform-search than young adults. However, in the remote memory test, although impaired compared to young adults, only EE aged rats had any significant memory of platform location. Only a few studies have assessed whether enrichment has an impact on remote memory. Enrichment was shown to enhance long-term memory for object recognition (i.e., 48h after exposure) in both young (Bruehl-Jungerman *et al.* 2005 ; Leger *et al.* 2014) and aged rats (Leal-Galicia *et al.* 2008), and our team has previously shown that long-life environmental enrichment protects young and middle-aged rats against spontaneous forgetting (Harati *et al.* 2013). The results of the present study extend these findings by showing that late enrichment also enables aged rats to form memory traces that are less sensitive to degradation.

The results of the longitudinal study shed new light by demonstrating that late enrichment only benefits aged rats displaying accurate spatial memory at middle-age. The sub-group of unimpaired rats housed in enriched environment was the only one to display accurate recent spatial memory, but also the only one with remote memory for platform location. These results suggest that late enrichment may protect against subsequent decline, but is not able to restore already impaired capacity. This might explain why some authors failed to find beneficial effects of EE exposure when initiated too late (Bouet *et al.* 2011), as the proportion of impaired subjects increases with the age (e.g. McQuail *et al.* 2015).

One of the last issues raised by the current study concerns the similarity of the effects of pre-training and enrichment on performance improvement during the training stage. The performances of pre-trained SC aged rats were indistinguishable from those of naïve EE rats, and the impact of pre-training was very slight in EE aged rats. The first result suggests that enrichment favors the same processes as are involved in the carry-over effects found in pre-trained SC rats: i.e., it accelerates learning of the procedural aspect of the task but also promotes the use of a spatial strategy. The second result may reflect a ceiling effect on the performance of aged animals in training.

Conclusions

The main result of this study is that late enrichment allows maintenance of accurate recent spatial memory and enables the formation of a memory trace that is less sensitive to degradation, in a sub-group of rats displaying unimpaired spatial memory when middle-aged. However, enrichment failed to rescue these capabilities in a sub-group of rats showing already declining spatial memory, although it facilitated spatial learning as efficiently as pre-training.

Taken together, these results highlight the beneficial effects of exposure to a stimulating environment for the maintenance of some cognitive functions throughout the late part of life, and also its genuine ability to facilitate learning throughout life.

Materials and methods

Subjects and housing conditions

One hundred female Long-Evans rats purchased at the age of 4-5 weeks from Janvier Labs (Le Genest-St-Isle, France) were housed in large transparent cages (60 x 38 x 20 cm) in groups of 8. At the age of 2 months, they were rehoused in pairs in smaller cages (46 x 26 x 15 cm; standard condition (SC)). From 18 to 24 months, rats were assigned to either SC or enriched environment (EE). In EE, rats were housed in groups of 10-12 in wire-mesh cages (112 x 40 x 40 cm) with various objects changed 5 times a week as previously described (e.g. Harati *et al.* 2011). A cohort of 24 rats (4-5 weeks old) purchased later was housed at the age of 2 months in either SC or EE, at the same time as the 18 month-old rats and for the same duration (6 months). All rats were housed in the same animal facility, with controlled temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) and humidity ($55 \pm 5\%$) under a 12 h–12 h light–dark cycle (lights on at 7:00 a.m.), with ad libitum access to food and water. Commercially available food pellets for adult rats (Muceloda, Italy: RF 21) were changed (RF 18) when rats were 6 months old, as recommended by the breeder. Experimental protocols and animal care were in compliance with European Community Council Directive 2010/63/UE and the current project was approved by the local ethics committee (CREMEAS, authorization n° AL/36/43/02/13). Rats were observed daily to detect health problems. During aging of the cohorts, some rats died from natural causes or were euthanized (often for tumor onset, but occasionally for other health problems such as hindlimb paralysis). Percentage survivors was 86% at the age of 17 months. At the end of behavioral testing, percentage survivors was 56% in the 24 month-old cohort and 100% in 8 month-olds. To avoid isolated housing in SC aging rats, the survivor was housed with another congener from our sentinel group.

Apparatus

The mazes were circular pools (diameter 160 cm, height 60 cm) filled with water to half the height and virtually divided into four equal quadrants. The water ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) was opacified with powdered milk. A circular platform, 11 cm in diameter, could be placed in the pools,

either 1 cm underneath (hidden platform) or above (visible platform) the water surface. The pools were located in two experimental rooms (rooms 1 and 2), both with many extra-maze cues (e.g., chair, desk, pictures hanging on the wall, *etc.*), and were each equipped with a video-tracking system (Noldus, Wageningen, Netherlands in room 1; SMART, SD Instruments, USA in room 2) to collect various aspects of the rat's behavior.

Procedures

Classification of middle-aged rats before differential housing

At the age of 17 months, rats (n=56) were singly housed in transparent cages (46 x 26 x 15 cm) and transferred to another animal facility. They were weighed, and handled 1 min per day for 5 consecutive days. These middle-aged (MA) rats were then trained in the water maze (room 1) using a procedure sensitive to age-related spatial deficit in SC-housed rats (e.g. Harati *et al.* 2011). Briefly, rats were trained for 5 consecutive days (4 trials per day) to find the hidden platform located at a fixed position in one quadrant of the pool. Twenty four hours after training, long-term recent memory of the platform location was assessed on a single 30-s trial without platform (probe trial). Rats were classified according to their search profile during this probe (i.e., time spent in the target quadrant and from longest to shortest time spent in the other 3 quadrants). A non-hierarchical cluster-analysis method (K-mean clustering) based on the double principle of maximizing inter-subgroup and minimizing intra-subgroup variability, was used to subdivide the population into 2 clusters (called "sub-groups" hereafter). Three days after the probe trial, each rat was implanted with a subcutaneous microchip (biolog-id, France) in order to be later identified. At the age of 18 months, half of the rats of each sub-group were housed in SC and the other half in EE, in a dedicated room, until they were 24 months old.

Water maze for 24- and 8-months old rats

After 6 months' differential housing, pre-trained aged (remaining n=41; EE I, n=12; EE UI, n=7; SC I, n=14; SC UI, n=8), naïve aged (remaining n=18; EE, n=8; SC, n=10), and young adult rats (n=24; EE n=12; SC, n=12) were housed singly in transparent cages (46 x 26 x 15 cm) and transferred in another animal facility. They were weighed, handled (1 min per day for 5 consecutive days), then trained in the water maze. The task differed from that described for MA rats only on the following: 1) the task was performed in another room (room 2); 2) a visible platform test (4 consecutive trials with a visible platform located in one quadrant of the pool) was conducted the day before training with the hidden platform; 3) rats were trained for

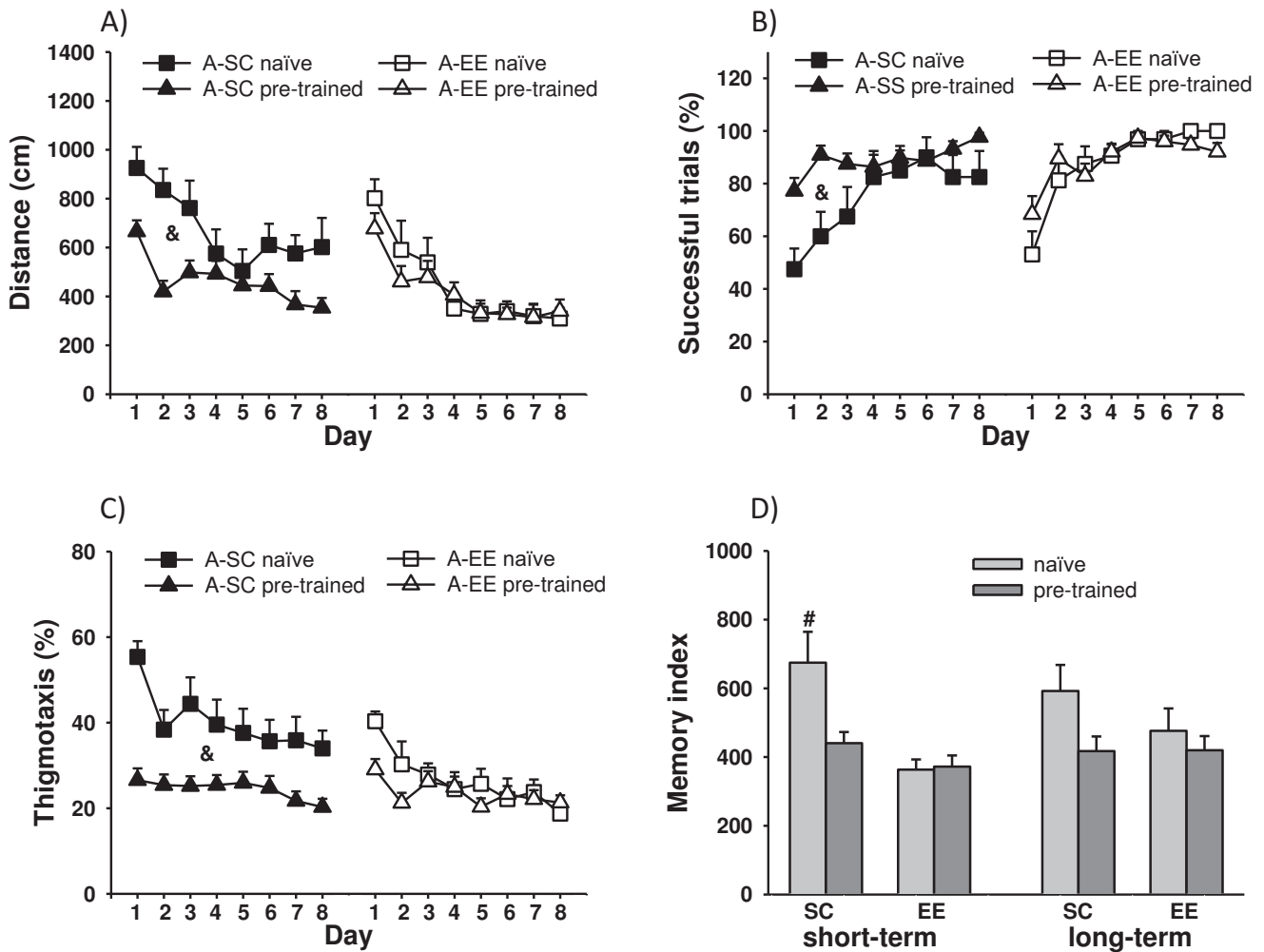
8 consecutive days (with the hidden platform located in another quadrant of the pool); and 4) both recent and remote memory for platform location were assessed. For recent memory, 24 hours after the last training day, rats were given a 30-s probe trial. It was followed immediately by 4 additional training trials with the platform replaced at the same location as in training. For remote memory, a second 30-s probe trial was conducted 10 days later. Given the large number of animals to be tested, training of experimentally naïve young adult and aged rats began after completion of training for pre-trained aged rats (naïve rats were housed singly 1 week after pre-trained rats, to maintain a constant time between the end of differential housing and the testing period).

Data collection and analyses

For training, performance (mean of the daily trials with the hidden platform) was assessed by computing the distance swum to reach the platform, corrected according to the method described by Lindner (1997), percentage thigmotaxis (percentage time spent in the 10 cm peripheral annulus) and the number of successful trials (i.e. trials in which rat located the platform; Ruediger *et al.* 2012). For the water maze in room 2, a short-term (mean of the last 2 daily trials) and a long-term memory index (mean of the first daily trials) was computed for distance swum to reach the platform from the second to the last training day (adapted from George *et al.* 2006). For probe trials, several variables reflecting platform-search accuracy were collected: time spent in each quadrant of the pool, mean distance to the platform, and target area (platform enlarged by a 10-cm annulus) crossings. Swimming speeds during training and probe tests were also analyzed. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) with either Sub-group, or Age and Housing condition, or Sub-group and Housing condition as between-subject factors. For training, performance improvement was assessed using Day as within-subject factor. For probe trials, the platform-search profile of each group was analyzed using Quadrant as within-subject factor. The ANOVAs were completed by post-hoc comparison using the Tukey test (for unequal samples for between group comparisons). The threshold for rejecting the null hypothesis was 0.05 throughout.

Acknowledgements

This work was supported by the University of Strasbourg and the CNRS. The authors would like to express their gratefulness to O. Bildstein, G. Edomwony and O. Egesi for their valuable and constant investment in the care provided to the rats.



Supplemental Fig. Effect of pre-training at middle-age on training performance of aged rats housed since middle-age in standard (A-SC) or enriched (A-EE) environment. A) Distance swum to reach platform. B) Successful trials as percentage of total trials. C) Percentage thigmotaxis time. D) Short-term (left part) and long-term (right part) memory indices. Data are mean + SEM. Statistics: &, overall pre-training effect in SC aged rats; #, significantly different from all other groups. For detailed statistical description see text.

Supplemental data

Pre-training at middle age has beneficial effects on place learning in aged rats housed in standard conditions

Data obtained during the 8 days' training with the hidden platform are shown in Supplemental Figure. Pre-training had a profound impact on performance, especially in SC aged rats. Analysis of distance swum to reach the platform (Suppl. Fig. A) showed significant effects of Pre-training ($F_{(1,55)} = 9.13$, $P < 0.01$), Housing ($F_{(1,55)} = 11.20$, $P < 0.01$) and their interaction

($F_{(1,55)} = 5.16, P < 0.05$). Post-hoc comparisons on this interaction indicated that pre-training significantly improved overall performance only in the SC group ($P < 0.05$). In contrast to pre-trained SC rats, naïve SC rats were outperformed by EE groups, whether pre-trained or not ($P < 0.01$ in each case). Post-hoc comparisons on the significant Pre-training x Day interaction ($F_{(7,385)} = 2.13, P < 0.05$) showed that pre-trained rats improved performance from first to second training day ($P < 0.0001$), whereas a significant reduction in distance swum to reach the platform occurred only on the fourth day of training in naïve rats ($P < 0.0001$). Pre-training also had beneficial effects on the number of successful trials (Suppl. Fig. B), and post-hoc comparisons on the significant interaction between Pre-training and Day ($F_{(7,385)} = 3.17, P < 0.01$) also suggested more rapid learning in pre-trained than naïve rats: pre-trained rats were more successful on the second day of training ($P < 0.001$) whereas naïve rats were more successful only on the third day ($P < 0.001$). However, SC rats also benefited more from pre-training than EE rats on this variable. Thus, post-hoc comparisons on the significant interaction of Pre-training with Housing ($F_{(1,55)} = 4.08, P < 0.05$) indicated that the overall rate of successful trials was significantly lower in the naïve SC group than in the pre-trained SC group ($P < 0.05$) and that the pre-trained SC group failed to differ from EE groups, whether pre-trained or naïve. Pre-training also induced a profound impact on thigmotaxis (Suppl. Fig. C). Overall thigmotaxis rates were higher in naïve SC rats than in the other groups, and were thus lowered by pre-training only in SC rats (Pre-training X Housing, $F_{(1,55)} = 6.19, P < 0.05$; $P < 0.05$ at least for each comparison). Post-hoc comparisons on the significant interaction between Pre-training and Day ($F_{(7,385)} = 13.87, P < 0.001$) indicated that, whereas thigmotaxis decreased throughout training in naïve rats, especially from the first to the second training days ($P < 0.0001$), in pre-trained rats it remained low from the first to the last day of training. Analysis of memory indices (Suppl. Fig. D) indicated that pre-training had beneficial effects on the short-term memory index of naïve SC rats. ANOVA indicated significant effects of Pre-training ($F_{(1,55)} = 5.29, P < 0.05$), Housing ($F_{(1,55)} = 15.15, P < 0.001$) and their interaction ($F_{(1,55)} = 6.18, P < 0.05$), and post-hoc comparisons showed that the group of naïve SC rats differed from all the other groups ($P < 0.05$ at least). The index of long-term memory (Suppl. Fig. D) also seemed to benefit from pre-training, especially in the SC group. However, analysis indicated a significant effect only for Pre-training ($F_{(1,55)} = 4.18, P < 0.05$).

ETUDE 2

Modifications of the circadian sleep-wake architecture cannot explain spatial memory improvement in aged rats housed in enriched environment

Fanny Fuchs, Karine Herbeaux, Christian Kelche, Chantal Mathis, Monique Majchrzak, Alexandra Barbelivien* and Romain Goutagny*.

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, UMR 7364 CNRS/Université de Strasbourg, Strasbourg, France

* These authors contributed equally to this work.

Address correspondence to Romain Goutagny, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, UMR 7364 CNRS/Université de Strasbourg, 12 rue Goethe, 67000 Strasbourg, France.

Email : goutagny@unistra.fr

Tel : (33) 03 68 85 19 28

Article en préparation pour une soumission dans le journal Sleep.

Abstract

Study Objectives: In aged rats, housing in enriched environment until 18 or 24 months improves spatial memory. Given the critical role of sleep in memory processes, we asked whether modifications of the sleep-wake circadian rhythm in aged enriched animals could contribute to their memory improvement.

Design: To this end, spontaneous circadian locomotor activity was assessed in aged female rats (24 months old) housed either in standard environment all their life or in enriched environment until 18 or 24 months, and their spatial memory performances were evaluated in the Morris water maze. Then, nycthemeral EEG recordings were conducted to assess sleep-wake pattern and the quality of sleep was evaluated with delta relative power during slow-wave-sleep.

Results: Environmental enrichment until 18 or 24 months improved spatial memory performances of aged rats but had no influence on spontaneous locomotor activity. However, the amplitude of the locomotor circadian rhythm predicted spatial long-term memory in aged rats, whatever their housing condition. Furthermore, lifelong enrichment, but not enrichment until 18 months, induced a decrease of slow-wave-sleep episodes' number and an increase of long wake episodes during the light phase, with no modification of the sleep-wake architecture during the dark phase and no modification of delta relative power during slow-wave-sleep.

Conclusions: Our results suggest that it is unlikely that environmental enrichment improves spatial memory through its influence on the circadian sleep-wake architecture.

Keywords: Morris water maze, locomotor activity, spectral analyses, wake, slow wave sleep, paradoxical sleep, aging, environmental enrichment.

Introduction

Learning and memory impairments are among the most commonly recognized psychological features of human normal aging (Small 2001 ; Salthouse 2003). Another characteristic feature of aging consists in sleep disturbances (Ohayon *et al.* 2004 ; Huang *et al.* 2002). Interestingly, a critical amount of studies has investigated the role of sleep in memory (for reviews, see Rasch et Born 2013 ; Scullin et Bliwise 2015). Furthermore, the importance of a preserved sleep-wake architecture during aging for memory maintenance has been pointed out by studies that have shown correlations between modifications in the sleep-wake pattern and individual cognitive decline in old humans, suggesting that *“a part of what is called “age-related” cognitive decline could independently be associated with rest-activity rhythm”* (Oosterman *et al.* 2009). However, some lifestyle factors such as regular social, physical and cognitive activities seem to limit cognitive decline (Small *et al.* 2012) and promote sleep quality in elderly (Naylor *et al.* 2000 ; Shirota *et al.* 2002 ; Luik *et al.* 2013). In aged rodents, it has been widely demonstrated that short exposure to enriched environment attenuates deleterious effects of aging on spatial learning and memory (e.g. Frick et Fernandez 2003 ; Bennett *et al.* 2006 ; Freret *et al.* 2012 ; Speisman *et al.* 2013). The impact of such enrichment on age-related impairments seems to depend partly on the exposure duration, as lifelong housing in enriched conditions is more beneficial than shorter periods and can completely prevent some of the age-related cognitive declines (Kobayashi *et al.* 2002 ; Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). Furthermore, beneficial effects of environmental enrichment on spatial memory decline are maintained over time, as enrichment provided until 18 months, an age at which spatial decline can already be declared (Wyss *et al.* 2000), is sufficient to prevent age-related deficits observed at 24 months old (see study 1 in the thesis). In aged rats, spontaneous locomotor activity is usually used to assess rest-activity pattern across light and dark phases. While aging seems to reduce the amplitude of light-dark cycle of locomotor activity (Casadesus *et al.* 2001 ; but see Zhang et Sannajust 2000), environmental enrichment appears not to have any effect on it (Harati *et al.* 2011). However, although this measure gives an interesting indication of rest-activity organization, it cannot point out fine modifications of the sleep-wake cycle. For example, absence of locomotor activity can reflect slow wave sleep or paradoxical sleep but can also reflect quiet wake. For this reason it is more accurate to investigate the impact of environmental enrichment also directly on the sleep-wake cycle *via* electrophysiological measures. To our knowledge, only one study has evaluated the sleep pattern of aged rats housed during a short period in enriched environment (van Gool et

Mirmiran 1986) and the impact of lifelong environmental enrichment on sleep structure during aging is still lacking.

The aim of the current study was to determine if modifications of the amplitude of light-dark cycle of locomotor activity and / or modifications of sleep-wake architecture could be associated with the improvement of performances in spatial task observed in aged enriched animals. For this purpose, the nycthemeral locomotor activity and the cognitive status of aged animals housed all their life in standard condition or housed in enriched condition until 18 or 24 months were assessed. Then, the impact of differential housing conditions on sleep pattern during a 24 h recording was evaluated and delta relative power was measured during slow-wave sleep to assess the quality of sleep.

Materials and methods

Subjects and housing conditions

Female Long-Evans rats (Janvier Labs, Le Genest-St-Isle, France) arrived at the age of 4-5 weeks in the laboratory and were housed in groups of 8 in transparent Makrolon cages (60 x 38 x 20 cm), in a temperature (22 ± 1 °C) and humidity (55 ± 5 %)-controlled room under a 12-12 h light-dark cycle (lights on at 7:00 a.m.). Food and water were available *ad libitum*. At 2 months of age, rats were randomly assigned to differential housing conditions. Standard rats were housed in pairs in transparent Makrolon cages (46 x 26 x 15 cm). Enriched rats were housed in groups of 10 to 12 in two contiguous wire-mesh cages (112 x 40 x 40 cm) connected by two openings and various objects (tunnels, ladders, etc.) were placed in the cages and changed five times a week, 4 to 5 hours after lighting. At the end of this differential housing, aged rats (24 months) housed either in standard conditions (SC, n = 6) or in enriched conditions until 18 or 24 months (EC18, n = 5 / EC24, n = 6) were placed in individual transparent Makrolon cages (46 x 26 x 15 cm) and were handled during one minute per day for one week before the onset of experiments.

Experimental protocols and animal care were in compliance with the regulations specified by the European Committee Council Directive and authorized by our local ethical committee (Authorization n° AL/36/43/02/13).

Locomotor activity

Spontaneous locomotor activity was measured in rats' home cage. Cages were transferred to a new room and placed in a shelf where each cage was traversed by two infrared light beams targeted on two photocells, 4.5 cm above the floor level and 28 cm apart. After three hours of habituation, analysis of locomotor activity was assessed during light and dark phases. The number of cage crossings (successive interruptions of the two light beams in 1-h bits) was recorded by a microcomputer and summed over each phase. The ratio of the number of crossings during the dark phase by the one during the light phase gave an index of locomotor circadian rhythm.

Morris water maze task

The day after, place acquisition was tested with a 10-days protocol in Morris water maze. The maze consisted of a circular pool (diameter 160 cm, height 60 cm) filled with water to half the height. The water (20 ± 1 °C) was made opaque with powdered milk. The pool was located in an experimental room with many extra-maze cues (e.g. chair, computer, pictures on the wall, *etc.*). A circular platform, 11 cm in diameter, was placed in the pool. A video camera mounted to the ceiling was connected to a video-tracking system (SMART, SD Instrument, USA) to record animal travel in the pool. For each trial, the rat was placed in the pool, facing the wall, at a semi-randomly designed starting point. When the rat had climbed onto the platform, it was left on it for 10 s, then removed, and passed to the next trial. When the rat failed to find the platform within 60 s, it was gently guided to it by the experimenter and was left there for 10 s.

The first day, rats were given four consecutive trials of 60 s with a visible platform (protruded one cm above the water surface). The next day, the platform was moved to a new location and submerged one cm underneath the surface. This location was kept constant during eight consecutive sessions, at a rate of one session per day, each of them consisting of four trials. The distance swum to reach the platform, corrected according to the method described by Lindner (1997), was measured to reflect the spatial learning performance. The swim speed was measured as an index of sensorimotor capabilities and motivation. An index of long-term memory (mean distance of the first trial for sessions 2 to 8) and an index of short-term memory (mean distance of the third and fourth trials for sessions 2 to 8) were adapted from George *et al.* (2006). Twenty-four hours after the last day of the acquisition period, the platform was removed and all rats were given a probe trial for 30 s. The time spent in the

target “circle zone”, *i.e.* a virtual circle zone centered on the former location of the platform which surface is equal to 25 % of the maze’s surface, was used to measure the ability to retrieve the spatial location of the platform.

Electrophysiological recordings

Surgery

After behavioral testing, rats were anesthetized *via* an i.p. injection (0.15 ml / 100 g) of a ketamine (3/4; Imalgene 5%) -xylazine (1/4; Rompun 2%) solution and secured in a stereotaxic frame (Kopf, USA). Their scalp was then shaved and aseptically cleaned (Sterlanc) before local anesthetic injection of Xylocaïne (0.1 ml) and ophthalmic ointment application to the eyes (Lacrigel). After exposure of the skull bone, two Teflon-coated tungsten electrodes (diameter: 76.2 μm ; impedance: $\sim 1 \text{ M}\Omega$ at 1 kHz) were implanted into the dorsal left hippocampus (AP -4, ML -2.2, DV -2.1 from bregma). Two stainless screws were inserted in posterior and anterior portions of the skull as ground and reference, respectively. All electrodes and wires were fixed to the skull using Super-Bond (Sun Medical Co., Shiga, Japan). They were soldered to a 6-pin circular connector (Plastic one, USA) that was secured to the skull using acrylic cement. At the end of surgery, an analgesic was administered *via* a s.c. injection (Metacam, 0.1 ml/100 g).

Sleep-wake recording

After surgery, animals were allowed to recover for seven to ten days before being placed in the recording room and habituated to the recording cable. Animals were connected *via* a rotating commutator (Plastic one, USA) to individual animal biomaps (AD instruments, UK). Deep EEG was recorded on the fourth day for 24 h to collect data regarding spontaneous sleep-wake cycle. Signals were amplified ($\times 1000$), filtered (0.5 Hz – 1 kHz) and then digitized at 1000 Hz.

Sleep stages were manually scored in 10-s epochs and a hypnogram was created based upon the following characteristics: wakefulness (W), was characterized by a low-amplitude theta activity; slow wave sleep (SWS) was clearly distinguished by high-amplitude low-frequency (delta) oscillations; paradoxical sleep (PS) was defined by a regular and pronounced theta rhythm. To confirm this visual scoring, we used a described algorithm for behavioral state classification based on the analysis of local field potentials (Gervasoni *et al.* 2004). Briefly, two spectral amplitude ratios were calculated by integrating the spectral amplitude over

selected frequency bands (ratio 1: $(0.5 - 20) / (0.5 - 45)$ Hz; ratio 2: $(0.5 - 4) / (0.5 - 12)$ Hz). These two ratios were used to construct a 2-D state map in which each point represent one sec of ongoing activity and in which the different clusters represent the different behavioral states (Supplemental Fig 1).

Analyses were done for light and dark phases into 2- h bins across the 24 h recording. For each state, the percent time spent in this state, the total and mean durations and the number of episodes were analyzed. To specify the distribution of W episodes, and because long episodes were rare but contributed substantially to the time spent in W, time-weighted frequency histograms were computed (Trachsel *et al.* 1991). To do this, all episodes were separated into eight bins of logarithmically increasing duration (< 30, 40-60, 70-150, 160-300, 310-600, 610-1200, 1210-2400, and > 2400 sec). The amount of W in each bin was normalized by the total amount of W in each animal during the light and dark phases and then averaged in each group. Epochs containing movement artifacts were included in the state architecture analysis but excluded from subsequent spectral analyses.

These recordings were performed in a time-frame ranging from 1.5 and 3 months after the rats were removed from their respective housing conditions, with an equal number of animals of each group recorded at a time.

Spectral analyses

Before processing, the data were cleaned by removing artifacts (exceeding 3 standard deviations from the mean) together with a 1-s window around selected artifacts. EEG power spectra were calculated using the Chronux signal processing toolbox (Bokil *et al.* 2010) with a time-frequency product of three and five tapers. For SWS episodes, fast Fourier transform was performed on a moving-window (window 4 s; overlap 1 s) and relative power of delta (1-4 Hz) frequency band was analyzed.

Sacrifice and histology

Three to five days after the last recordings, rats were killed and brains were removed. Left hemisphere was fixed in 0.1 M phosphate-buffered 4 % paraformaldehyde (8 h; pH = 7.4; 4 °C) and transferred into a 0.1 M phosphate-buffered 20 % sucrose solution (24 h; 4 °C). It was then quickly frozen in isopentane (-40 °C) and maintained at -80 °C. Brains were cut into 25- μ m-thick coronal sections in which violet cresyl staining enabled to confirm the location of the electrode tips.

Statistical analyses

Most data were subjected to analysis of variance (ANOVA) with “group” as between-subject factor. When necessary, two-ways ANOVA were performed with “session”, “phase”, “hours” or “episode’s duration” as within-subject factors. The ANOVAs were completed by post-hoc comparisons using Newman-Keuls (NK) multiple range test. For analysis of probe-trial performance, the time spent in the target circle zone was compared with chance level (7.5 s) using a Student’s *t* test. Simple linear correlation analyses were performed between some behavioral and circadian activity variables using Pearson correlation test. The threshold for rejecting the null hypothesis was 0.05 throughout.

Results

Morris water maze

Aged animals were tested in the Morris water maze task to assess the effect of different durations of environmental enrichment on performances in a spatial memory task (Figure 1). During the acquisition, the average distance to reach the platform decreased over time, especially during the first sessions, for the three groups of animals. However, the distance swum by SC rats was significantly higher than the distance swum by the two other groups (Fig 1A). The ANOVA showed significant effects of “session” ($F_{(7,98)} = 15.92$; $P \leq 0.0001$) and “group” ($F_{(2,14)} = 11.10$; $P \leq 0.001$) without revealing any “group” x “session” interaction ($F_{(14,98)} = 1.39$; $P = 0.18$). Post-hoc analysis of “session” factor showed a significant difference between the first three sessions and all of the others (NK, $P \leq 0.05$ at least, except between sessions 2 and 3 that are not different from each other) and the analysis of “group” factor indicated a significant difference between SC rats and the two other groups (NK, $P \leq 0.005$ at least). On the contrary, swim speed did not differ between groups (ANOVA: $F_{(2,14)} = 1.17$; $P = 0.34$, data not shown). Long-term memory index was superior (reflecting poorer performances) for SC rats than for EC24 rats, and EC18 rats had medium performances compared to EC24 and SC rats (Fig 1B). Indeed, the ANOVA indicated a significant “group” effect ($F_{(2,14)} = 4.18$; $P \leq 0.05$). Post-hoc analysis confirmed a difference between SC and EC24 rats (NK, $P \leq 0.05$), but did not demonstrate any difference between EC18 rats and the two other groups. This absence of significant improvement of long-term memory index in EC18 compared to SC rats can be explained by learning curves: whereas in EC24 rats, the

distance traveled to reach the platform during the first trial decreased already at session 2, the one of EC18 rats decreased only at session 3 (data not shown). Short-term memory index was higher for SC rats than for ECS4 and EC18 rats (Fig 1B). The ANOVA revealed a “group” effect ($F_{(2,14)} = 5.12$; $P \leq 0.05$) and post-hoc analysis indicated a difference between SC rats and the two groups of enriched animals (NK, $P \leq 0.05$ in both cases), which presented similar results. At the probe trial, the time spent in the target circle zone was significantly above chance (7.5 s) for the two groups of enriched animals but not for SC animals (Fig 1C; SC: $t_{(5)} = 1.52$, $P = 0.19$; EC18: $t_{(4)} = 3.20$; $P \leq 0.05$; EC24: $t_{(5)} = 6.02$, $P \leq 0.005$). These results confirmed that environmental enrichment until 24 months improves spatial learning and memory in aged rats (Kobayashi *et al.* 2002 ; Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). They also confirmed data obtained recently in our laboratory, in that enriched environment exposure until 18 months is sufficient to allow the same improvement as whole-life enrichment in the Morris water maze task (see study 1 in the thesis).

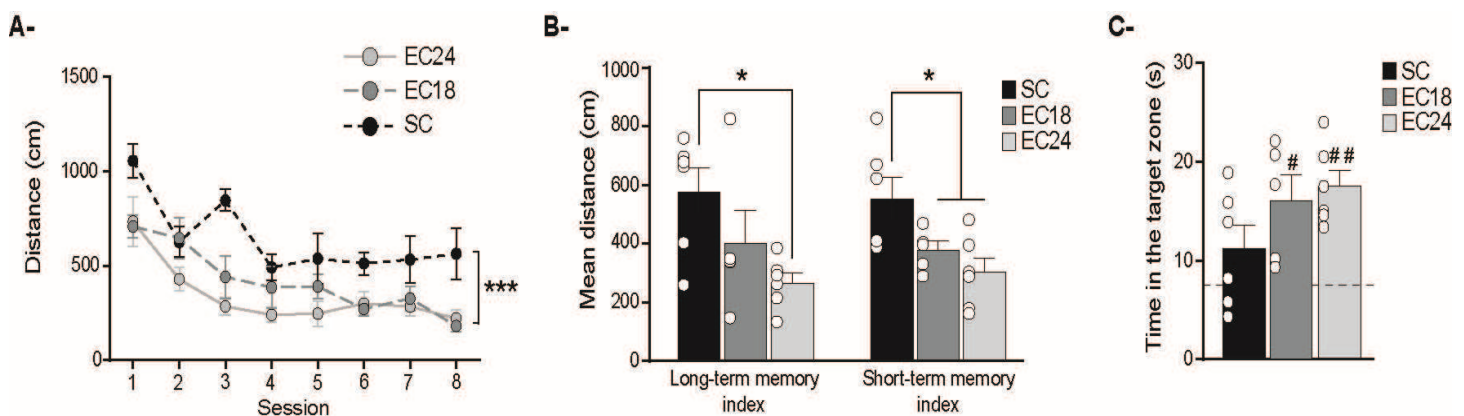


Figure 1: Morris water maze performances. (A) Distance swum to reach the platform across the 8 sessions of acquisition S1-8 (mean of the 4 trials per session). (B) Long-term memory index (left panel; mean distance for the first trial of sessions 2 to 8) and short-term memory index (right panel; mean distance for the third and fourth trials of sessions 2 to 8). (C) Time spent in the target circle zone where the escape platform was located over acquisition trials. The dashed line indicates chance level. Data are expressed as mean + S.E.M (black circles represent individual values). Statistics: # significantly different from the chance level; * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.005$.

Given the role of sleep - and more extensively of sleep-wake pattern - in memory processes, we investigated whether the improvement of spatial memory by environmental enrichment in aged rats was associated with some modifications of the sleep-wake organization. For this purpose, we first determined the impact of environmental enrichment on circadian locomotor activity across light and dark phases and then on the sleep-wake pattern *per se*.

Circadian locomotor activity

Spontaneous locomotor activity of aged rats in their home cage was higher during the dark phase than the light phase in all groups of animals, but was not affected by environmental enrichment (Figure 2). Indeed, the ANOVA did not reveal any “group” effect ($F_{(2,14)} = 1.09$; $P = 0.36$) but showed a “phase” effect ($F_{(1,14)} = 10.82$; $P \leq 0.005$), with no “group” x “phase” interaction ($F_{(2,14)} = 0.38$; $P = 0.69$). Accordingly, the index of locomotor circadian rhythm was similar for the three groups (ANOVA : $F_{(2,14)} = 0.39$; $P = 0.68$). These results confirmed that environmental enrichment until 18 or 24 months does not affect home cage locomotor activity in aged rats, as previously demonstrated, at least for lifelong enrichment, in our laboratory (Harati *et al.* 2011). Given that the amplitude of circadian activity has been demonstrated to predict memory performances in aged animals (George *et al.* 2006), we performed regression analyses between memory indices and locomotor circadian rhythm index.

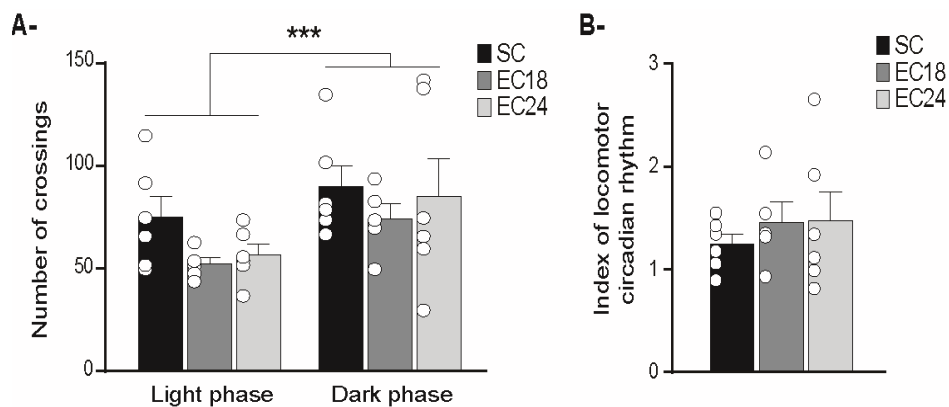


Figure 2: Spontaneous locomotor activity. (A) Total activity scores during light (left panel) and dark (right panel) phases: number of successive crossings of the two light beams. (B) Index of circadian rhythm of locomotor activity (number of crossings during the dark phase / number crossings during the light phase). Data are expressed as mean + S.E.M (black circles represent individual values). Statistics: *** $P \leq 0.005$.

Regression analyses (locomotor circadian activity)

A negative correlation was found between long-term memory index and locomotor circadian rhythm index (Figure 3A; $r = -0.49$; $P \leq 0.05$), reflecting that better performances were associated with a higher amplitude of circadian activity. In contrast, the correlation between short-term memory index and locomotor circadian rhythm index was nonsignificant (Figure 3B; $r = -0.15$; $P = 0.57$). During the probe test, we found a positive correlation between the time spent in the target zone and locomotor circadian rhythm index (Figure 3C; $r = 0.54$; $P \leq 0.05$). These results are consistent with previous ones obtained in aged rats (George *et al.* 2006) indicating that higher amplitude of locomotor circadian rhythm is associated with better spatial long-term memory. However, given that the three groups of animals present similar amplitude of circadian activity, the improvement of spatial memory by environmental enrichment does not seem to depend on this association.

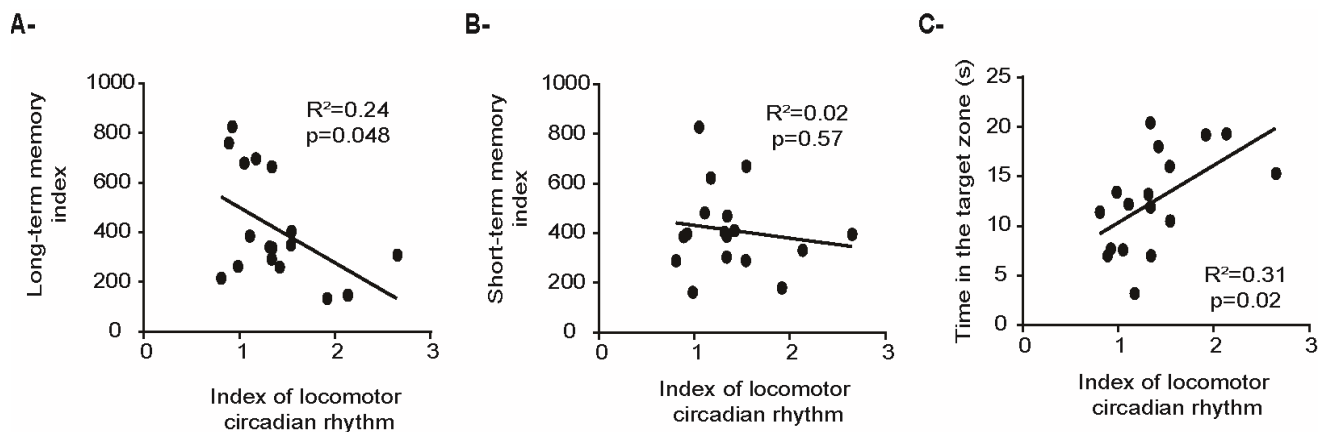


Figure 3: Correlations between locomotor circadian rhythm and spatial memory. (A) Correlation between circadian rhythm index and long-term (left panel) and short-term (right panel) memory indices during acquisition. (B) Correlation between circadian rhythm index and the time spent in the target circle zone during the probe test.

Sleep-wake pattern

Twenty-four-hours deep EEG recordings were performed to assess more precisely the influence of environmental enrichment on the architecture of sleep: percent time, episodes' number and mean duration are presented for the full 24-h period and for the light and dark phases in Figure 4, and total duration of the different states across the 24-h recordings are presented in Supplemental Figure 2.

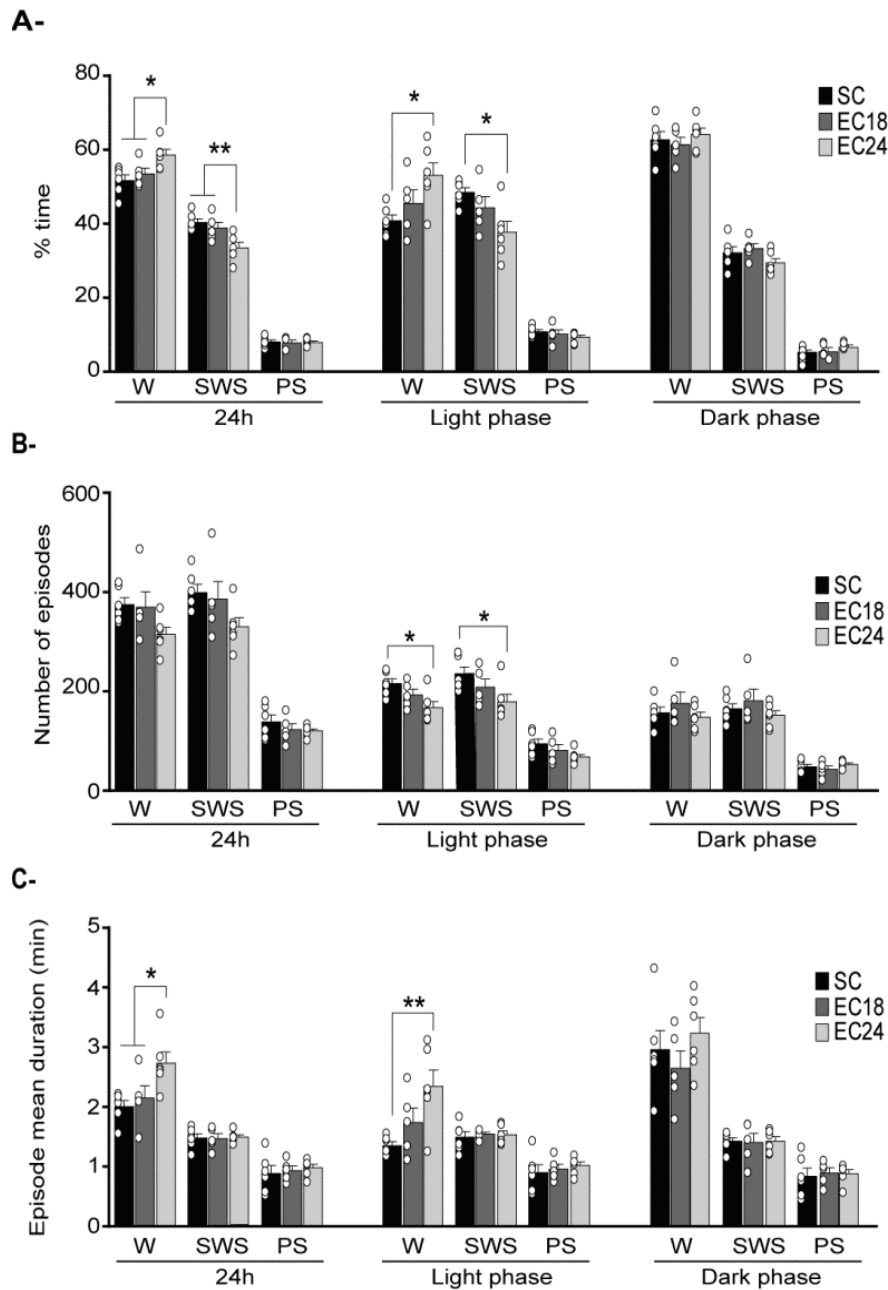


Figure 4: Architecture of the sleep-wake cycle. (A) Percent time spent in - , (B) episodes' number of - (C) and episodes' mean duration of - Wake (W), Slow wave sleep (SWS) and Paradoxical sleep (PS) during 24 h (left panel), light (middle panel) and dark (right panel) phases (mean + S.E.M.; black circles represent individual values). Statistics: * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.005$.

Lifelong environmental enrichment, contrary to enrichment until 18 months, affected sleep-wake organization. More precisely, EC24 animals spent more time awake and less time in SWS than SC and EC18 rats. For the 24-h analysis, ANOVA revealed a “group” effect for W ($F_{(2,14)} = 5.78$; $P \leq 0.01$) and SWS ($F_{(2,14)} = 7.54$; $P \leq 0.01$) but not PS ($F_{(2,14)} = 0.04$; $P = 0.96$). For W and SWS, post-hoc analyses showed that EC24 rats were different from SC and

EC18 rats (NK, $P \leq 0.05$ at least). These differences were due specifically to modifications during the light phase, whereas no differences between groups appeared during the dark phase. During light phase, ANOVA revealed a “group” effect for W ($F_{(2,14)} = 4.66$; $P \leq 0.05$) and SWS ($F_{(2,14)} = 4.96$; $P \leq 0.05$) percent times. Post-hoc analyses revealed a difference between EC24 and SC rats for both states (NK, $P \leq 0.05$ in each case) and a trend between EC24 and EC18 (NK, $P = 0.09$ for W and $P = 0.08$ for SWS). Interestingly, the decrease of SWS in EC24 rats was due to a decrease in the number of SWS episodes (Fig 4B, ANOVA: $F_{(2,14)} = 3.94$; $P \leq 0.05$; NK, $P \leq 0.05$ between EC24 and SC rats, no significant differences between EC24 and EC18 rats) with no change of SWS episodes’ mean duration (Fig 4C, $F_{(2,14)} = 0.08$; $P = 0.93$), whereas the increase of W in EC24 was due to an increase of W episodes’ mean duration (ANOVA: $F_{(2,14)} = 6.14$; $P \leq 0.01$; NK, $P \leq 0.05$ between EC24 and SC rats and $P = 0.056$ between EC24 and EC18) in spite of a decrease of their number episodes (ANOVA: $F_{(2,14)} = 5.03$; $P \leq 0.05$; NK, $P \leq 0.05$ between EC24 and SC rats). Together, our data indicate that, when evaluated at 25-27 months old, sleep-wake organization was not influenced by environmental enrichment provided until 18 months old. Further, environmental enrichment until 24 months old affected specifically SWS and W during the light phase, with no effect on PS. EC24 rats presented less episodes of SWS and longer episodes of W than the two other groups.

Given that long episodes of W, even rare, contributed substantially to the time spent in W, we examined the wakefulness fragmentation in greater details by computing time-weighted frequency histograms (Figure 5). We analyzed W episodes as a function of their duration and normalized the results by the total amount of W during light and dark phases. During the light phase (Fig 5A), EC24 rats were the only ones that had often W episodes longer than 2400 s (40 min). Two-ways ANOVA analysis revealed a significant effect of “duration” ($F_{(7,98)} = 12.02$; $P \leq 0.001$) and a significant “group” x “duration” interaction ($F_{(14,98)} = 3.28$; $P \leq 0.001$). Post-hoc analysis of the interaction confirmed that EC24 rats were different from the two other groups for episodes > 40 min (NK, $P \leq 0.001$ for both comparisons). Moreover, these analysis showed that SC and EC18 rats had a maximum of W occurring in episodes lasting between 1210 and 2400 s (20 - 40 min), this interval differing significantly from all the others (NK, $P \leq 0.01$ at least, except for EC18 between 610-1200 and 1210-2400 intervals) whereas for EC24 rats, W episodes longer than 2400 s were not different from the ones between 1200 and 2400 but were different from the shorter ones (NK, $P \leq 0.001$ in each case). Interestingly, results were different during dark phase (Fig 5B) where there was no more

difference between groups. Indeed, ANOVA revealed a “duration” effect ($F_{(7,98)} = 33.5$; $P \leq 0.001$), but no “group” effect ($F_{(2,14)} = 1.3$; $P = 0.31$) nor “group” x “duration” interaction ($F_{(14,98)} = 1.6$; $P = 0.10$). For the three groups, post-hoc analysis indicated a difference between episodes longer than 1200 s (20 min) and the shorter ones (NK, $P \leq 0.001$ in each case). During the light phase, animals housed all their adult life in environmental enrichment presented longer episodes of wakefulness compared to animals housed all their life in standard condition or until 18 months in enriched condition. In EC24 rats, the sleep-wake pattern was then transformed so that long episodes of W interrupted “bursts” of sleep cycles (illustrated on hypnogram examples in Fig 5C).

Modifications of sleep functions could rely on alterations of the sleep-wake pattern, but could also rely on quality of sleep, that’s why spectral analyses were performed on SWS periods.

Spectral analyses

Spectral analyses of SWS periods were performed for light and dark phases to examine a potential effect of environmental enrichment on delta relative power. There were no significant differences between groups, neither during light, nor during dark phases.

Regression analyses (sleep-wake pattern)

To determine if modifications of the sleep-wake architecture could be associated with the improvement of performances in spatial memory observed in aged enriched animals, regression analyses were performed between memory indices and sleep-wake pattern variables.

Neither correlation was significant. According to these results, the influence of housing in enriched environment on spatial learning and memory performances cannot be explain by its impact on the sleep-wake organization.

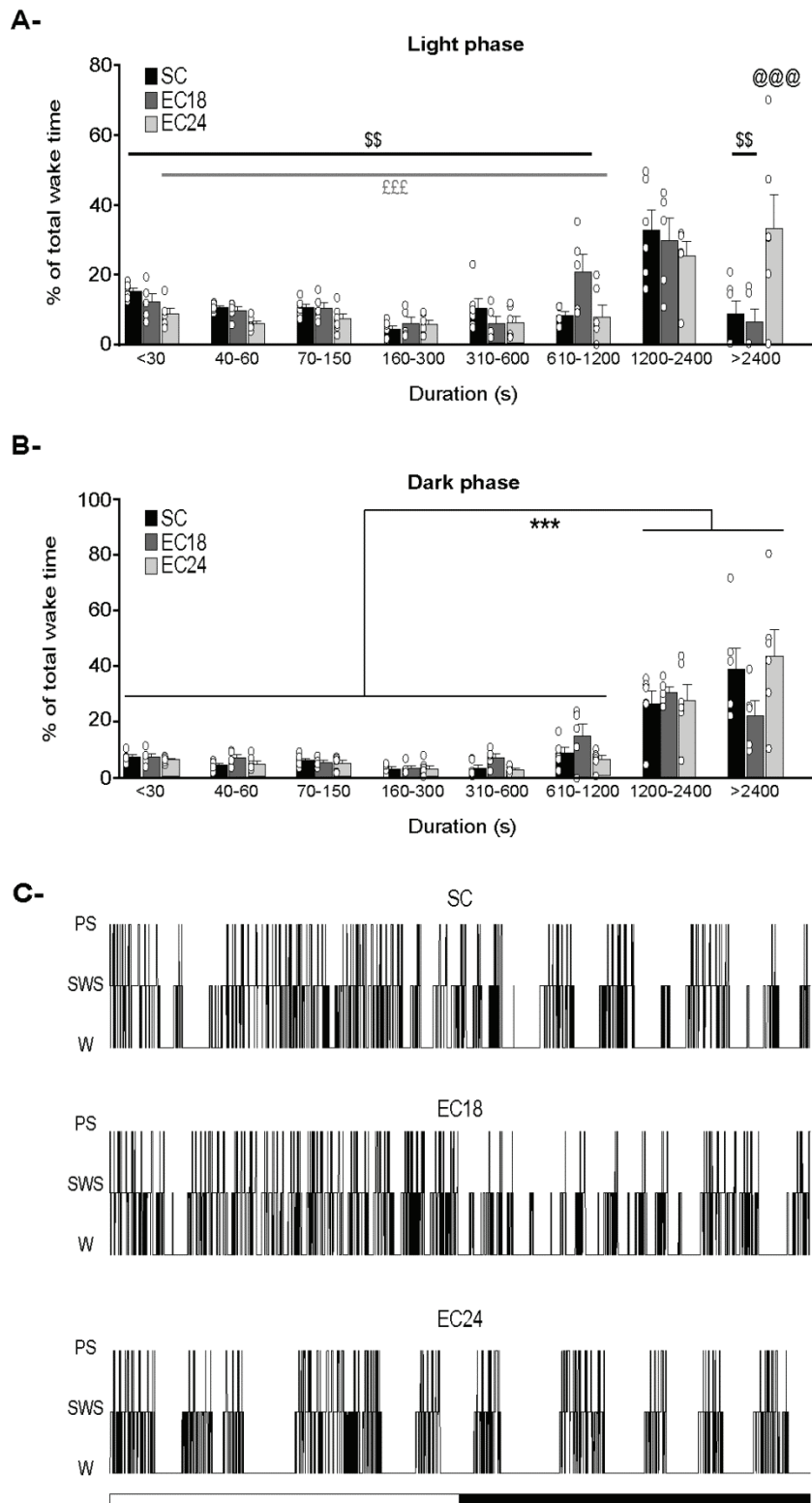


Figure 5: Percentage of W total duration in function of W episodes' duration, during light (A) and dark (B) phases (mean + S.E.M.; black circles represent individual values). For example, during light phase, 33 % of total W time is due to W episodes lasting more than 2400 s for EC24 rats. (C) Examples of 24 h-hypnogram obtained for one animal per group. Statistics: @ significantly different from SC and EC18 for the same duration; \$ for SC group, significantly different from duration between 1200 – 2400 s; £ for EC24 group, significantly different from durations up to 1200 s; ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.005$.

Discussion

The major findings of this study were that 1) aged animals housed in environmental enrichment until 18 or 24 months old performed better in the Morris water maze task than aged animals housed all their life in standard condition; 2) environmental enrichment, whatever the exposition period, did not affect spontaneous locomotor activity in aged rats; 3) the maintenance of a broad amplitude of locomotor activity circadian rhythm was associated to spatial memory preservation in aged rats, whatever their housing condition; 4) lifelong environmental enrichment, but not enrichment until 18 months, induced a decrease of SWS episodes' number and an increase of W episodes longer than 40 min during the light phase, with no modification of the sleep-wake architecture during the dark phase; 5) delta relative power was not affected by housing condition.

Spatial learning and memory and their link with locomotor circadian rhythm

All aged groups were able to learn the platform position in the Morris water maze task. Indeed, the three groups presented a decrease of the distance swum to reach the platform during the acquisition sessions. However, as previously described, aged animals housed in enriched environment, either until 18 or 24 months old, showed better performances during acquisition than aged animals housed all life-long in standard condition (Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013 ; study 1 in the thesis). During the probe trial, rats housed in standard environment were unable to recall the platform position, as they did not spend a time over the chance level in the target circle zone, contrary to the two groups of enriched animals. This measure (similar to the one used in Frick *et al.* 1995 ; Moser et Moser 1998) is more precise than the usually used “time spent in the target quadrant” in that it depends specifically on the distance of the animal to the former platform location. Our results thus confirmed that lifelong environmental enrichment improves spatial learning and memory performances in aged rats and that the effect of housing in enriched environment until 18 months are sufficiently maintained to improve performances when animals are tested at 24 months old.

The amplitude of locomotor circadian rhythm usually declines with aging, especially because of a dramatic reduction of nocturnal activity in aged subjects (e.g. Harati *et al.* 2011). Our results, in accordance with previous ones (Harati *et al.* 2011), suggested that environmental enrichment does not protect aged rats from the decrease of this amplitude. However, a correlation between amplitude of locomotor circadian activity and spatial long-term memory

performances was observed in our aged animals, as seen in George *et al.* (2006). Thus, these results suggested that improvement of spatial memory capabilities by housing in enriched environment cannot be explained by its influence on circadian organization of locomotor activity.

Modifications of the sleep-wake pattern by lifelong environmental enrichment

According to our results, environmental enrichment, when provided all life long, induced a decrease of the time spent in SWS and an increase of the time spent in W during the light phase (that is normally the quieter period of the day). The fact that enriched animals were exposed during all their life to the change of objects in their home cage during light phase could explain the increase of W. Indeed, several studies (Febinger *et al.* 2014 ; Tang *et al.* 2005) showed that cage changing or object adding in the home cage disrupts the sleep of mice for approximately 2 to 3 hours but thereafter is not associated with significant effects on sleep. However, if this manipulation had a persistent effect that would entirely explain the increased activity of EC24 animals during the light phase, one would predict a burst of wakefulness during approximately 2 to 3 hours after 11 a.m., the time in which objects were usually replaced. Because the increase of W was not specifically induced during this period (W amount seemed even more important before 11 a.m. than after that time, as illustrated in Supplemental Fig 2), we supposed that lifelong environmental enrichment had a more general effect on the sleep-wake organization. Several studies have investigated the influence of housing conditions on sleep-wake pattern in juvenile rodents (Gutwein et Fishbein 1980a, b ; Mirmiran *et al.* 1982), in which sleep pattern is still evolving, and in young (Kiyono *et al.* 1981) and adult rodents (van Gool et Mirmiran 1986). According to the latter, environmental enrichment induced an increase in SWS and PS and a decrease in W. The discrepancies between these results and ours could likely be due to the difference of age of animals, the influence of a stimulation-rich housing in young adult animals being surely different than in aged ones. Surprisingly, the effect of environmental enrichment on sleep pattern during aging has been poorly studied. At our knowledge, only one study has investigated this question, by assessing sleep pattern in aged male Brown Norway rats, before and after 4 to 5 weeks of environmental enrichment (van Gool et Mirmiran 1986). In this study, environmental enrichment induced a decrease of the total amount of W and an increase of SWS and PS in aged rats. Although these results are contradictory to ours, several protocol divergences could easily explain these discrepancies: they could be due at least partly to the rat strain (Benloucif *et al.* 1995) or gender (Elliott et Grunberg 2005), or to the criteria used for identification of

sleep-wake stages (van Gool et Mirmiran (1986) used a systematic quantification of behavioral states), but the most striking differences between the two studies were the enrichment duration and the time between the end of the differential housing and the sleep-wake evaluation.

During the light phase, the increase of W amount was mainly due to an increase of W episodes' duration. More precisely, lifelong environmental enrichment induced an increase of the number of W episodes longer than 40 min, revealing a less fragmented wakefulness. This induced a modification of gross sleep-wake organization, with long episodes of W interrupting "bursts" of sleep cycles. Furthermore, the increase of W duration is not associated with an increase of locomotor activity during the light phase, suggesting that animals housed all their life in enriched conditions spent more time in quiet wake. During quiet wake (Carr *et al.* 2012), as during SWS (Wilson et McNaughton 1994), hippocampus exhibits sharp waves-ripples activity that is crucial for memory trace replay. The actual idea is that, during SWS, sharp waves-ripples underlie memory consolidation, whereas, during wake, this activity may support memory recall for active planning (Roumis et Frank 2015). According to this hypothesis, aged rats housed in enriched environment during all their adult life should have impaired memory functions, that does not correspond to our results. However, at our knowledge, wake-associated sharp waves-ripples have always been explored during or just following memory tasks but never during "basal" light phase, when it could also support consolidation mechanisms. Yet, rats housed all their adult life in enriched conditions presented the same number of sharp waves-ripples during the light phase when considering SWS and W periods than the two other groups (Supplemental Fig 3). These results suggest that these animals have similar possibilities of memory consolidation, at least those linked to sharp waves-ripples, in spite of a different organization of the sleep-wake pattern. Moreover, housing in a stimulation-rich environment, that is closer to rats' natural environment, may promote memory consolidation during W, *i.e.* when animals are more alert, that could constitute a behavioral benefice regarding to potential dangers.

Absence of modifications of the sleep-wake pattern in aged rats housed until 18 months in enriched conditions

Contrary to the rats housed all lifelong in enriched condition, the ones housed until 18 months in enriched environment did not show any modification of their sleep-wake pattern compared to the standard ones. Two interpretations of these results can be proposed: first, some of the

modifications of the sleep-wake pattern appear after 18 months of age (Zepelin *et al.* 1972). If environmental enrichment only counteracts age-related alterations of sleep architecture, housing in enriched environment between 2 and 18 months old could have no effect on sleep-wake pattern. However, this hypothesis is unlikely because several studies have shown an impact of environmental enrichment on the sleep-wake cycle in young and adult rodents (Kiyono *et al.* 1981 ; van Gool et Mirmiran 1986). Second, such enrichment could be insufficient to induce modifications of the sleep-wake organization that persist until 25-27 months.

Methodological considerations

1) Even if sleep stages scoring was based on EEG recordings with no help from electromyographic recordings, Gervasoni's method (Gervasoni *et al.* 2004) allowed us to ensure our computing. 2) Given technical constraints, we were not able to perform simultaneous nycthemeral recordings for more than 3 animals at a time and we needed several days' intervals between two successive recordings. Thus, rats were recorded in a relatively long time-frame, ranging from 1.5 and 3 months after they were took out from their respective housing conditions. However, as an equal number of animals of each group was recorded at a time, this factor could only have increased intragroup variability but cannot explain differences observed between groups.

Conclusions

Our principal finding is that lifelong environmental enrichment, but not enrichment until 18 months, affects sleep-wake pattern in aged animals (25-27 months old) by inducing a decrease of SWS episodes' number and an increase of W episodes' duration during the light phase. Given that aged rats housed until 18 months in enriched environment presented the same improvement of spatial learning and memory as aged rats housed all their life in enriched condition, but that their sleep-wake pattern was not different from the one of standard animals, and given that we found no correlations between behavioral performances and circadian sleep-wake organization variables, it seems unlikely that environmental enrichment improves spatial memory capabilities in aged rats through its influence on the sleep-wake architecture.

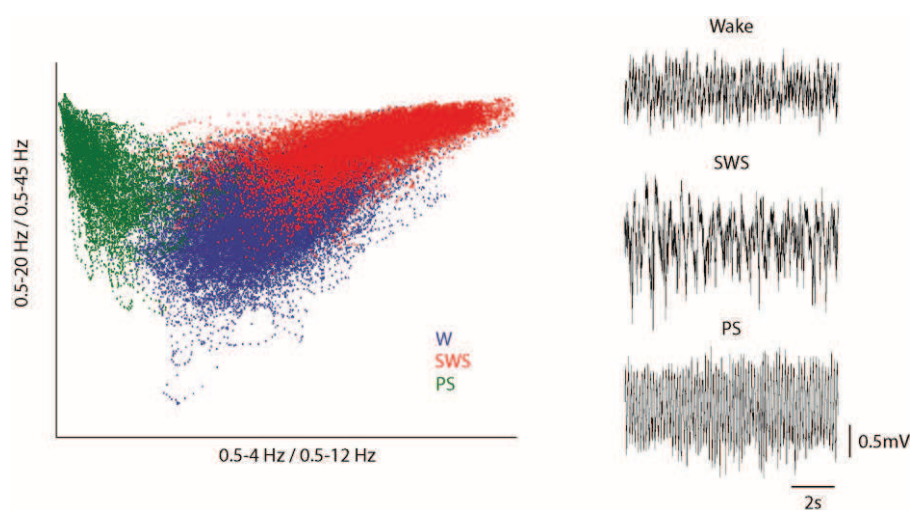
Disclosure statements

We have no actual or potential conflicts of interest that might have influenced our work. None of our respective institutions has contracts relating to this research through which it may stand to gain financially, whether now or in the future, and we have no other agreement of authors or related institutions that could be seen as involving a financial interest in this work.

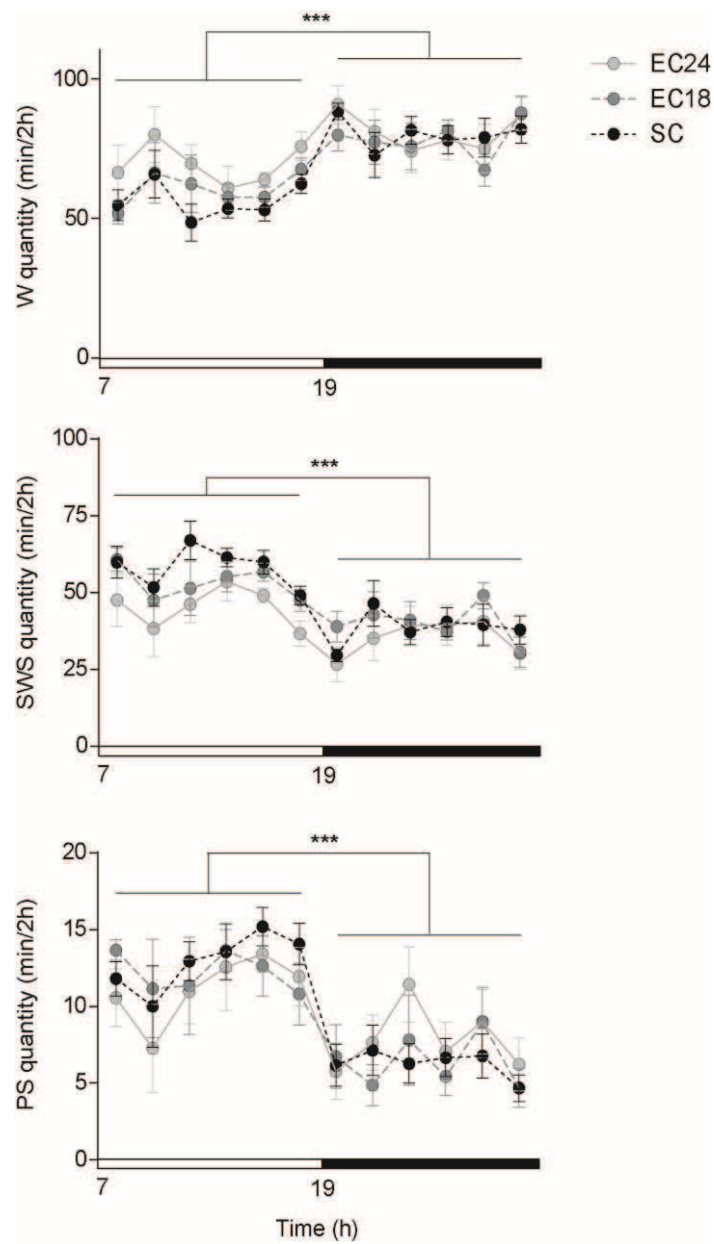
Acknowledgments

The authors would like to express their gratefulness to O. Bildstein, G. Edomwony and O. Egesi for their valuable and constant investment in the care provided to the rats and to L. Penazzi and P. Charbogne for their participation in the outstanding management of the enriched environments. This work was supported by the NARSAD Young investigator award [grant number 17852], a Career integration grant from Marie Curie program [grant number PCIG10-GA-2011-303573] and by the University of Strasbourg and the CNRS.

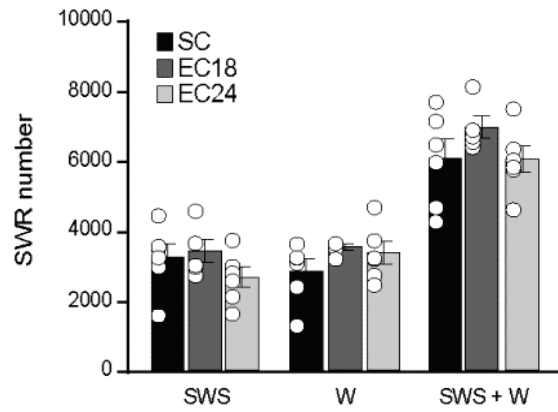
Supplemental Figure 1: scoring of behavioral states with Gervasoni's method (example for one animal). Left panel: 2-D state map with points corresponding to PS periods in green, W in blue and SWS in red. Right panel: examples of raw traces during W, SWS and PS episodes.



Supplemental Figure 2: Total duration of the different behavioral states across the 24 h recording. Total duration of W (A), SWS (B) and PS (C). Data are expressed as mean + S.E.M in 2-h bins. *** $P \leq 0.005$.



Supplemental Figure 3: number of sharp waves-ripples during light phase. Number of sharp waves-ripples during SWS (A), W (B) and cumulative number of sharp waves-ripples during SWS and W (C). Mean + S.E.M. (black circles represent individual values). The analyses were performed using the FMA Toolbox developed by M. Zugaro.



ETUDE 3

Introduction

Les processus mnésiques reposent en partie sur la synchronisation entre différentes populations neuronales (Womelsdorf *et al.* 2007) par le biais d'une activité oscillatoire au sein de ces populations. Dans le champ CA1 hippocampique, deux principales oscillations synchronisent l'activité neuronale : les oscillations θ et γ (voir Introduction, partie III-2C). Ces oscillations sont notamment impliquées dans le codage spatial par les cellules de lieu hippocampiques (O'Keefe et Recce 1993 ; Jensen et Lisman 2005) ainsi que dans les mécanismes de plasticité synaptique à long terme (Staubli et Lynch 1987 ; Axmacher *et al.* 2006) nécessaires à la consolidation mnésique. Les oscillations θ , γ et leur couplage ont ainsi été associés au traitement des informations spatiales et aux processus de mémorisation (McNaughton *et al.* 2006 ; Colgin et Moser 2010 ; Tort *et al.* 2009). Plus précisément, l'oscillation γ_R favoriserait le transfert d'informations entre le CE et CA1, pour promouvoir l'encodage de nouvelles informations, alors que l'oscillation γ_L favoriserait le transfert d'informations entre CA3 et CA1, pour promouvoir le rappel des informations (Hasselmo *et al.* 2002 ; Colgin *et al.* 2009). Or, une étude récente a mis en évidence une altération des oscillations θ , γ_L et γ_R , ainsi que de leur couplage chez le Rat âgé (Jacobson *et al.* 2013). Cette altération pourrait être à l'origine de certains déficits mnésiques observés chez les sujets âgés.

La tâche de détection du changement spatial est idéale pour évaluer l'impact de l'âge sur le fonctionnement oscillatoire hippocampique pendant le traitement d'informations spatiales. Elle permet notamment d'étudier la modulation des activités θ , γ et de leur couplage lorsque l'animal est placé dans un environnement nouveau, dans un environnement familier, ou lorsqu'il est confronté au changement de la configuration d'objets à laquelle il a été familiarisé. Les données de la littérature ayant souvent mis en évidence un déficit de détection du changement spatial chez des rats âgés (p.e. Shukitt-Hale *et al.* 2001 ; Maasberg *et al.* 2012 ; mais voir Bergado *et al.* 2011), il nous a paru intéressant de déterminer si ces déficits sont associés à des modifications de l'activité oscillatoire hippocampique. Nous avons enregistré celle-ci au niveau du champ CA1, dont l'implication critique dans la détection du changement spatial serait liée à son rôle de comparateur entre les informations actuelles en provenance du CEM et les prédictions en provenance de CA3 (Kumaran et Maguire 2007).

Bien que l'influence positive de l'hébergement en environnement enrichi ait été démontrée à de nombreuses reprises chez l'animal âgé, à la fois aux niveaux comportemental et

neurobiologique (voir Introduction, partie IV-2), les données concernant son impact sur la capacité de détection du changement spatial et sur les mécanismes oscillatoires sous-jacents ont été très peu (détection du changement spatial : Van Waas et Soffié 1996) voire pas étudiés (activité oscillatoire) chez l'animal âgé.

Les buts de cette étude sont donc 1) de déterminer l'impact du vieillissement sur la capacité de détection du changement spatial et sur l'un des mécanismes sous-tendant le traitement des informations spatiales, à savoir l'activité oscillatoire hippocampique, 2) d'évaluer si l'hébergement en EE durant toute la vie permet de limiter voire de prévenir les potentiels déficits observés chez les animaux âgés, et 3) de déterminer si cette influence pourrait être associée à des modifications de l'activité oscillatoire hippocampique. Pour ce faire, le statut cognitif de rats femelles âgés (24 mois) et jeunes adultes (4-5 mois) hébergés toute leur vie post-sevrage en ES ou EE a d'abord été déterminé dans la tâche de navigation en piscine de Morris. Puis, la tâche de détection du changement spatial a permis l'évaluation comportementale des animaux et l'étude de l'activité oscillatoire au sein du champ CA1 hippocampique.

Matériels et méthodes

Des rats femelles âgés (Ag - 24 mois) et jeunes adultes (J - 4/5 mois) ont été hébergés à partir de 2 mois en ES ou en EE. Une première cohorte d'animaux J hébergés en ES et Ag hébergés en ES ou EE a été testée en 2012. Ces premiers résultats ont ensuite été complétés au cours d'expériences réalisées en 2014 sur deux cohortes d'animaux, la première étant composée d'animaux J-ES, Ag-ES et Ag-EE, et la seconde étant composée d'animaux J-ES et J-EE. Les trois expériences ayant toutes comporté un groupe d'animaux J-ES, les résultats ont pu être mis en commun après vérification de l'absence de différences significatives entre les résultats obtenus dans ces trois cohortes. Les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus chez 8 animaux de chaque groupe ayant tous été soumis au protocole d'enregistrement électrophysiologique.

Protocole en piscine de Morris

Les performances de navigation des animaux sont évaluées en piscine de Morris (voir Matériels et Méthodes Généraux, partie II-1B). Suite au pré-entraînement (une séance avec la plate-forme visible placée dans le quadrant SO), la plate-forme est déplacée au centre du quadrant NO pour les 8 séances d'acquisition (plate-forme invisible). Un test de rétention de 30 s est effectué 24 h après la dernière séance d'acquisition de manière à évaluer les performances de mémoire à long-terme récente des animaux. Le temps passé dans le quadrant cible, ainsi que le nombre de croisements de l'annulus (zone circulaire représentant la surface de la plate-forme élargie de 10 cm) et la distance moyenne à la plate-forme sont mesurés.

Chirurgie

Suite au test de navigation en piscine de Morris, une opération permettant l'implantation d'une électrode dans le champ CA1 hippocampique dorsal gauche est effectuée. La première série de données (obtenue sur la cohorte d'animaux testés en 2012) a été acquise grâce à l'implantation d'une électrode double de tungstène (fabrication maison) ciblant la *stratum radiatum* de CA1 (coordonnées : 4 mm postérieur au bregma ; 2,2 mm latéral à la suture médio-sagittale ; Paxinos et Watson 1998). Pour limiter la variabilité de placement de l'électrode entre les animaux jeunes et âgés due aux variations d'épaisseur des os du crâne, les coordonnées dorso-ventrales sont déterminées à partir de la dure-mère (2,1 mm sous la dure-mère). Il nous a paru important de vérifier que les signaux enregistrés étaient réellement liés à l'activité électrophysiologique au sein de la couche *radiatum*, et qu'ils n'étaient pas dus à une conduction volumique à partir d'autres couches de CA1 ou d'autres régions hippocampiques. Pour cela, les cohortes d'animaux testées en 2014 ont été soumises à l'implantation d'une électrode de silicone constituée de 16 canaux d'enregistrement (espacement entre 2 canaux : 50 µm ; Neuronexus) permettant d'enregistrer l'activité oscillatoire dans la profondeur du champ CA1 hippocampique et d'effectuer des analyses de densité de source de courant (CSD).

Tâche de détection du changement spatial

Dispositif

Le champ ouvert (*Fig 26*) consiste en une enceinte carrée (54 x 54 x 40 cm) en Plexiglas noir dont une paroi est différenciée par un indice visuel. L'enceinte repose sur une plaque transparente en Plexiglas sous laquelle est placée une feuille quadrillée (carreaux de 10,8 cm

de côté) permettant de quantifier les déplacements de l'animal. Trois objets peuvent être placés dans l'enceinte : ces objets sont de forme et de couleur différentes et sont lestés pour que l'animal ne puisse pas les déplacer. Une caméra vidéo, placée au-dessus de l'enceinte, est reliée au système d'acquisition des données électrophysiologiques, afin de permettre le codage du comportement de l'animal dans l'enceinte et de synchroniser ces données aux données électrophysiologiques.



Figure 26. : Photographies du champ ouvert. Enceinte vide (gauche), ajout de trois objets selon une configuration définie (centre) et changement de configuration de 2 des objets (droite).

Protocole

Le protocole, décrit par *Save et al.* (1992), a été adapté pour permettre les enregistrements électrophysiologiques.

Familiarisation à l'enceinte vide : Pendant trois jours consécutifs (Familiarisation 1 à 3), chaque animal est placé durant 15 min dans l'enceinte vide. L'activité locomotrice est évaluée par comptage du nombre de carreaux traversés par minute.

Test : Au quatrième jour, l'animal est placé dans le champ ouvert durant sept séances successives de 6 min, avec un intervalle inter-séance de 3 min durant lequel il est replacé dans sa cage (*Fig 27*). Les 3 premières séances (S 1-3) permettent la familiarisation à l'enceinte vide. Les trois séances suivantes (S 4-6) permettent d'évaluer la familiarisation aux objets. Pour cela, trois objets sont placés dans l'enceinte selon une configuration définie et stable. Enfin, la séance 7 permet d'étudier les capacités de détection du changement spatial des animaux. L'un des objets garde la même position que précédemment (objet non déplacé, ou ND), alors qu'un autre objet est placé à une position précédemment inoccupée (objet déplacé « nouvelle position », ou D-NP) et l'ancienne position de cet objet est alors occupée par le troisième objet (objet déplacé « remplaçant », ou D-R). Pour éviter le biais que pourrait induire une préférence des animaux pour l'un des objets (pyramide, tour ou mortier), le

« devenir » de chaque objet lors du changement spatial (ND, D-R ou D-NP) est randomisé sur l'ensemble des animaux des différents groupes. Par exemple, l'objet en forme de pyramide joue le rôle d'objet ND pour un tiers des animaux de chaque groupe, le rôle d'objet D-R pour un autre tiers et le rôle d'objet D-NP pour le dernier tiers. L'activité locomotrice de l'animal dans l'enceinte ainsi que le temps passé à explorer chaque objet (*i.e.* le temps durant lequel le museau de l'animal se trouve à moins de 2 cm de l'objet) sont mesurés au cours de chaque minute des séances de familiarisation et de test (grâce au logiciel Aïon, développé par Elouan Poupard Cosquer). De plus, la position de la tête de l'animal est codée (5 points / s) au court des différentes séances de familiarisation et de test, de manière à permettre le calcul de la vitesse de locomotion des animaux.

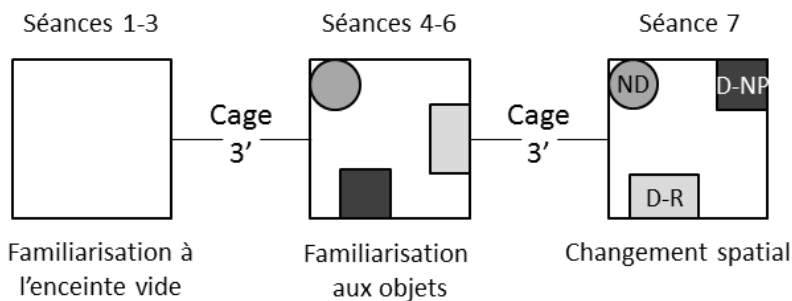


Figure 27. : Illustration du déroulement des séances lors de la phase « test » de la tâche de détection du changement spatial (cf texte). D-NP : déplacé « nouvelle position », D-R : déplacé « remplaçant », ND : non déplacé.

Acquisition des données électrophysiologiques

Les enregistrements de l'activité oscillatoire hippocampique sont effectués après 7 à 10 jours de récupération des animaux, et après 3 jours de familiarisation des animaux à la pièce et au dispositif d'enregistrement. Pour la première cohorte d'animaux, les enregistrements sont effectués par le biais du dispositif d'enregistrement 1 et pour les deux cohortes suivantes, les enregistrements sont effectués par le biais du dispositif 2 (voir Matériels et Méthodes généraux, partie III-2A). Les analyses sont effectuées lors d'épisodes de SP durant la journée précédant le test (moyenne de trois épisodes d'au moins une minute), puis durant la tâche de détection du changement spatial. Durant cette tâche, le rapport des puissances des oscillations θ / δ est calculé de manière à définir des « périodes θ », durant lesquelles l'oscillation θ est majoritaire (rapport supérieur à 5 : Bott *et al.* 2015). Etant donné que le pourcentage de temps passé en période θ peut varier en fonction des groupes et au cours de la tâche, les analyses spectrales sont effectuées spécifiquement durant ces périodes θ de manière à assurer des comparaisons adéquates.

La puissance du spectre de fréquence total est obtenue par une transformée de Fourier (voir Matériels et Méthodes généraux, partie III-2B) et exprimée en décibels (dB) relatifs à 1 μ V. Etant donné que cette puissance totale est plus faible chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes adultes, quelle que soit la condition d'hébergement, l'état de vigilance et la situation comportementale des animaux (différentes séances de la tâche), les puissances des oscillations θ , γ_L et γ_R sont exprimées en puissance absolue (dB) mais également en puissance relative par rapport à la puissance totale. En plus de ces puissances et de la fréquence de l'oscillation θ (voir Matériels et Méthodes généraux, partie III-2B), la force du couplage entre les oscillations θ et γ est également évaluée. Le couplage θ - γ est caractérisé par l'index de modulation (IM) qui représente la modulation de l'amplitude des oscillations rapides par la phase des oscillations lentes. Cet index est obtenu à l'issue de différentes analyses décrites par Tort *et al.* (2010) (Fig 28).

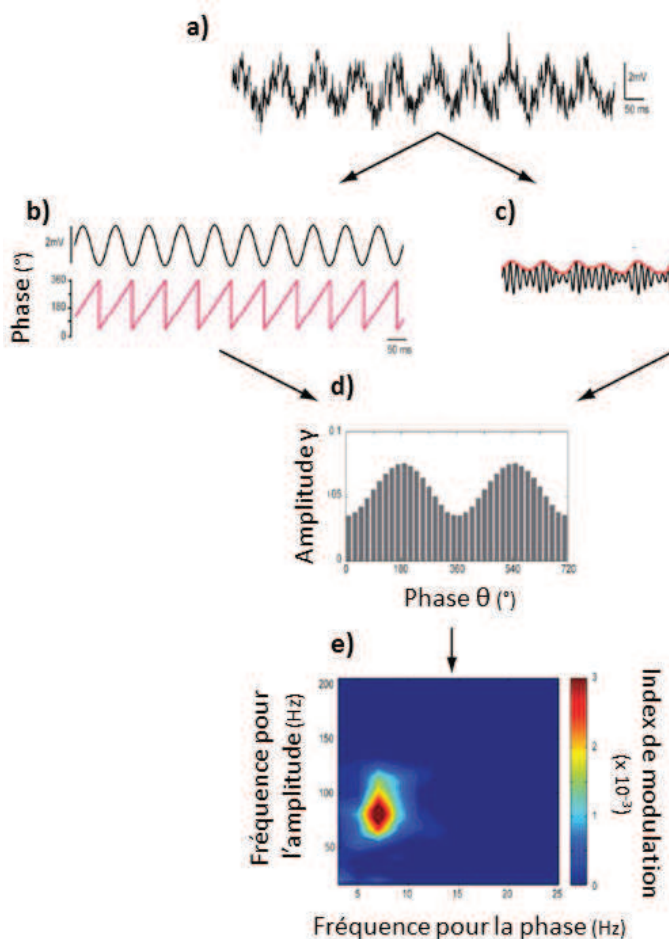


Figure 28. (adaptée de Tort *et al.* 2010): Représentation des différentes étapes d'analyse pour l'obtention de l'index de modulation (IM).

a) Tracé brut obtenu par le logiciel d'acquisition. **b)** Oscillation θ filtrée (en haut) et phase de l'oscillation θ (en bas). **c)** Oscillation γ filtrée et enveloppe de son amplitude (en rouge). **d)** Distribution de l'amplitude moyenne de l'oscillation γ en fonction de la phase de l'oscillation θ par intervalle de 20° . **e)** Exemple de comodulogramme représentant l'IM.

La phase des oscillations lentes est déterminée en effectuant une transformée de Hilbert sur les traces filtrées par bandes de 2 Hz entre 2 et 25 Hz (Fig 28a et b). L'amplitude des oscillations rapides est représentée par l'enveloppe des traces filtrées par bandes de 10 Hz entre 5 et 200 Hz (Fig 28c). L'amplitude moyenne des oscillations rapides est ensuite

déterminée en fonction de la phase des oscillations lentes (exprimée par intervalles de 20° entre 0 et 360° ; *Fig 28d*). L'IM (compris entre 0 et 1) représente ainsi la divergence de cette distribution phase-amplitude par rapport à une distribution uniforme (correspondant à une amplitude de l'oscillation γ identique pour toutes les phases d'un cycle θ). Les résultats sont représentés sous forme d'un comodulogramme en deux dimensions où la valeur d'IM est codée par une échelle de couleur (*Fig 28e*). Cette figure permet ainsi de caractériser sans *a priori* le couplage phase-amplitude pour la totalité du spectre de fréquence. Dans notre étude, pour obtenir des valeurs chiffrées d'IM, cet index est mesuré entre la phase des oscillations θ (valeur du pic de fréquence plus ou moins 2,5 Hz) et l'amplitude des oscillations γ_L et γ_R .

Pour vérifier que le signal enregistré est local, des analyses de CSD ont été effectuées pour les animaux des cohortes 2 et 3 lors du changement spatial (S6 et S7). Pour cela, la trace de l'oscillation γ est dérivée de la CSD plutôt que du potentiel de champ, comme décrit précédemment par Lasztoczi et Klausberger (2014). Pour chaque point (t), la CSD est calculée selon la formule suivante : $CSD(n, t) = \frac{LFP(n-1,t) - 2 \times LFP(n,t) + LFP(n+1,t)}{\Delta d^2}$, où LFP(n, t) est le signal de potentiels de champ enregistré à l'électrode n, LFP(n + 1, t) et LFP(n - 1, t) sont les signaux de potentiels de champ des électrodes supérieure et inférieure, respectivement, et Δd est l'espace (en mm) entre les électrodes.

L'influence du vieillissement et de l'enrichissement des conditions d'hébergement sur chacune des variables est d'abord évaluée lors du SP ainsi que lors de la veille active dans un environnement familier (Familiarisation 3), de façon similaire à Jacobson *et al.* (2013). Ensuite, la modulation de l'activité oscillatoire au cours de la tâche est évaluée en pourcentage de modification des différentes variables entre deux séances, de manière à abolir les différences initiales liées au groupe : effet « familiarisation à l'enceinte » = 100 - [(Familiarisation 1 / Familiarisation 3) x 100] ; effet « familiarisation aux objets » = 100 - [(Séance 4 / Séance 6) x 100] ; effet « changement spatial » = 100 - [(Séance 6 / Séance 7) x 100]. Les variables étudiées sont les suivantes : fréquence au pic de l'oscillation θ , puissances absolues des oscillations θ , γ_L et γ_R et force du couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R . Lors de l'ajout des objets à la séance 4 et lors du changement spatial à la séance 7, en plus de l'analyse effectuée globalement durant la première minute, ces variables sont également analysées durant la séance entière en fonction de la position de l'animal dans l'enceinte, et plus particulièrement en fonction de sa position par rapport aux objets. Ainsi, chaque variable est mesurée lorsque l'animal se trouve à proximité des objets (dans un espace

correspondant environ à 5 cm autour de chaque objet) et comparée à celle mesurée lorsqu'il est dans le reste de l'enceinte.

Analyses statistiques

Données comportementales : Des analyses de variance (ANOVAs) à mesures répétées (facteurs catégoriels : « âge » et « condition d'hébergement » ; mesures répétées : « séance », « minute » ou « objet ») et des ANOVAs factorielles (« âge » et « condition d'hébergement ») sont effectuées. Les ANOVAs sont suivies d'un test post-hoc de Newman-Keuls (NK) quand nécessaire. Le temps passé dans le quadrant cible est comparé au hasard (7,5 s) pour chacun des groupes, *via* un test *t* de Student.

Données électrophysiologiques : Des ANOVAs factorielles (« âge » et « condition d'hébergement ») sont effectuées sur les données enregistrées lors du SP et de la tâche de détection du changement spatial. L'analyse des pourcentages de modulation de l'activité oscillatoire au cours de la tâche est ensuite effectuée par le biais de tests de comparaison de moyennes à un standard (0 %). Ces analyses sont effectuées pour l'ensemble des groupes ou par groupes distincts en fonction des résultats significatifs mis en évidence par les ANOVAs factorielles. Des corrélations linéaires simples sont réalisées par le biais d'un test de Pearson pour étudier l'influence de la vitesse de locomotion des animaux au sein de l'enceinte sur les puissances des oscillations et la fréquence de l'oscillation θ lors de la Familiarisation 3. Des ANOVAs à mesures répétées (facteurs catégoriels : « âge » et « condition d'hébergement » ; mesures répétées : « position ») sont effectuées pour comparer les mesures électrophysiologiques lorsque les animaux sont à proximité des objets ou dans le reste de l'enceinte lors de la séance 4.

Le seuil de significativité considéré est de 0,05 pour l'ensemble des analyses.

Mise à mort et localisation des électrodes

Trois à cinq jours après les derniers enregistrements, les animaux sont mis à mort par décapitation et les cerveaux sont prélevés rapidement. L'hémisphère gauche sert à la localisation de l'électrode. Il est fixé durant 8 h dans du paraformaldéhyde à 4 % dilué dans un tampon phosphate (0,1 M ; pH = 7,4 ; 4°C) puis transféré dans une solution de cryoprotection (saccharose à 20 % dans un tampon phosphate 0,1 M ; 4°C). Au bout de 24 h, il est congelé dans l'isopentane pendant 1 minute à -40°C puis maintenu à -80°C. Des coupes de 20 μ m d'épaisseur de l'HPC sont réalisées au cryostat. La position de l'électrode double de

tungstène, implantée chez les animaux de la cohorte 1, est étudiée après coloration des coupes au violet de crésyl (*Fig 29a*). Pour les animaux des cohortes 2 et 3, avant l'implantation de l'électrode de silicone dans l'HPC, cette dernière a été marquée par l'application du marquage fluorescent DiI permettant de vérifier sa localisation grâce à un microscope à fluorescence sur des coupes co-marquées au DAPI ne nécessitant pas de traitement supplémentaire (*Fig 29b*). La sélection d'un canal se situant dans la *stratum radiatum* est effectuée en mesurant la distance (d) entre l'extrémité de l'électrode et la position d'intérêt et en la rapportant à l'espacement entre chaque canal (50 μ m).

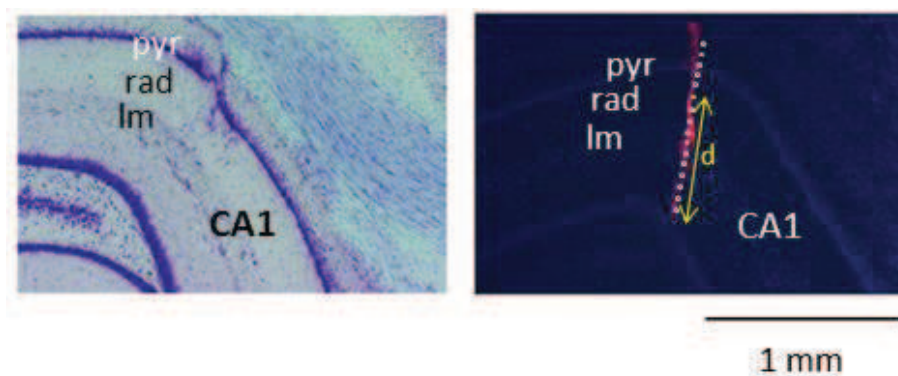


Figure 29. : Photographies représentant deux exemples d'implantation d'électrode dans le champ CA1 hippocampique. Electrode double de tungstène implantée dans la *stratum radiatum* (à gauche) et électrode de silicone constituée de 16 canaux, implantée dans la profondeur du champ CA1 (à droite).

Résultats

A) Caractérisation des animaux en piscine de Morris

Lors de la phase d'acquisition (*Fig 30a*), les animaux de tous les groupes présentent une diminution de la distance parcourue pour atteindre la plate-forme (effet « séance » : $F_{(7,196)} = 24,76$; $p \leq 0,005$), particulièrement lors des premières séances (différence entre les 3 premières séances et toutes les autres : NK : $p \leq 0,005$ au moins, sauf les séances 2 et 3 qui ne diffèrent pas). Cependant, les animaux Ag-ES parcourent une distance supérieure aux animaux des autres groupes tout au long de l'acquisition (interaction « âge » x « condition d'hébergement » : $F_{(1,28)} = 12,35$; $p \leq 0,005$; NK : $p \leq 0,005$ entre les Ag-ES et tous les autres). Lors du test de rétention (*Fig 30b*), les animaux Ag-ES présentent de moins bonnes performances que les animaux jeunes adultes et que les animaux Ag-EE. Ce déficit concerne toutes les variables mesurées. La spécificité de la recherche est reflétée par le temps passé dans le quadrant cible. Les animaux de tous les groupes passent un temps significativement

supérieur à la chance dans le quadrant où était précédemment placée la plate-forme (7,5 s ; J-ES : $t = 4,02, p \leq 0,005$; J-EE : $t = 3,84, p \leq 0,01$; Ag-EE : $t = 5,04, p \leq 0,005$), à l'exception de ceux du groupe Ag-ES ($t = 1,46, p = 0,19$). La précision de recherche est reflétée par le nombre de croisements de l'annulus et la distance moyenne à la plate-forme. Ici encore, les animaux Ag-ES sont déficitaires par rapport aux autres groupes (interaction « âge » x « condition d'hébergement » : nombre de croisements de l'annulus : $F_{(1,28)} = 8,02 ; p \leq 0,01$; NK : $p \leq 0,05$ au moins, entre les Ag-ES et les autres groupes ; distance moyenne à la plate-forme : $F_{(1,28)} = 5,98 ; p \leq 0,05$; NK : $p \leq 0,01$ au moins).

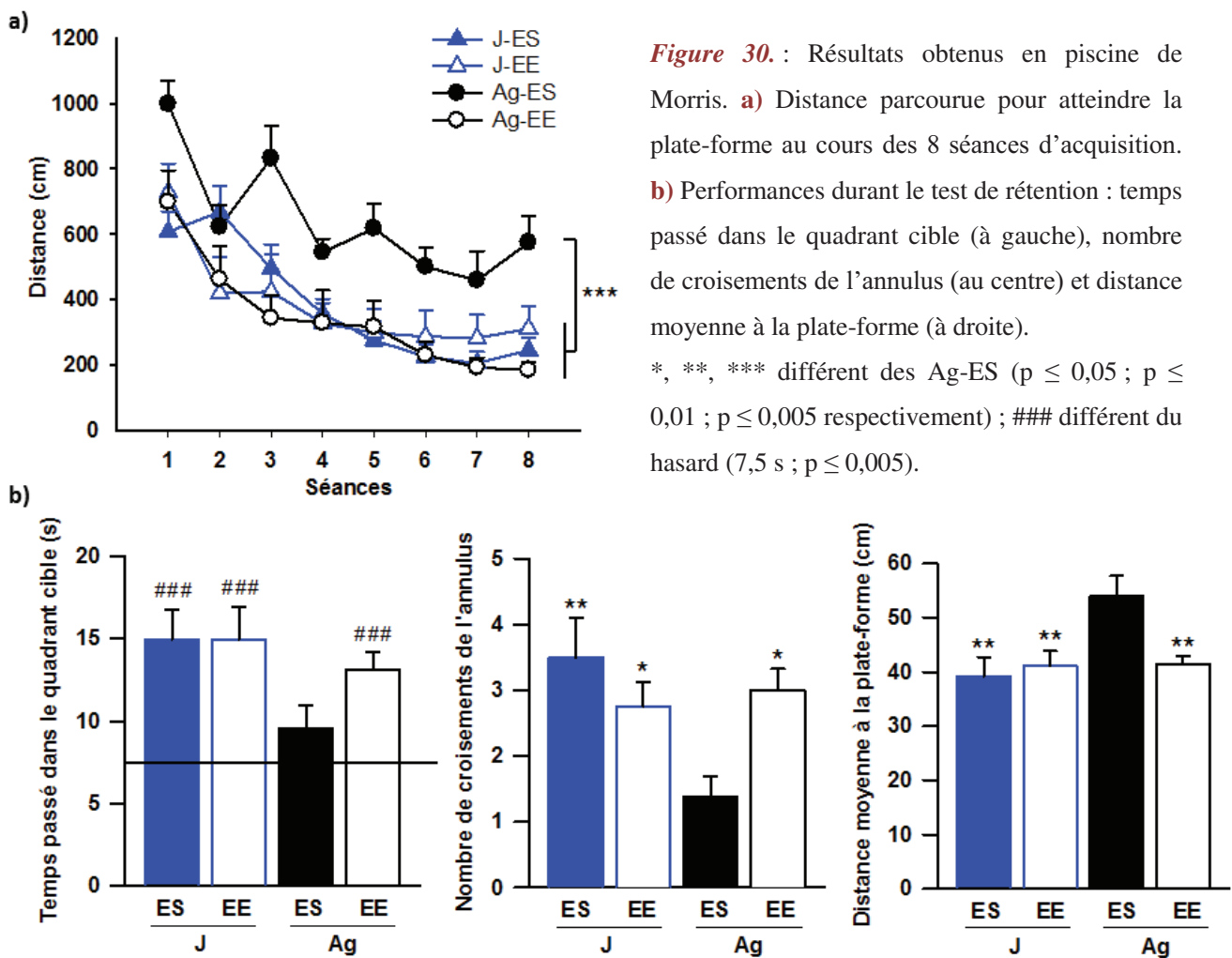


Figure 30. : Résultats obtenus en piscine de Morris. **a)** Distance parcourue pour atteindre la plate-forme au cours des 8 séances d'acquisition. **b)** Performances durant le test de rétention : temps passé dans le quadrant cible (à gauche), nombre de croisements de l'annulus (au centre) et distance moyenne à la plate-forme (à droite). *, **, *** différent des Ag-ES ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,005$ respectivement) ; ### différent du hasard (7,5 s ; $p \leq 0,005$).

Ces données confirment les résultats obtenus précédemment au laboratoire (Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013), à savoir que l'enrichissement durant toute la vie adulte prévient les déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale observés chez les animaux âgés hébergés en ES.

B) Performances des animaux dans la tâche de détection du changement spatial

a) Familiarisation à une enceinte vide

Les animaux des quatre groupes présentent une diminution de la locomotion au cours des 15 minutes de chaque séance de familiarisation et une réactivation de la locomotion lorsqu'ils sont replacés dans l'enceinte lors des séances 2 et 3 (Fig 31). Toutefois, les animaux jeunes adultes traversent un nombre de carreaux plus important que les animaux âgés sur l'ensemble des séances (effet « âge » : $F_{(1,28)} = 32,29$; $p \leq 0,005$). De plus, la diminution de la locomotion au sein des séances de familiarisation dépend de la séance et du groupe. En effet, lors de la dernière séance (Familiarisation 3), la locomotion des animaux se stabilise plus tôt que lors des deux premières séances (interaction « séance » x « minute » : $F_{(28,784)} = 1,63$; $p \leq 0,05$) : lors des familiarisations 1 et 2, la stabilité du nombre de carreaux traversés est atteinte à la 11^e minute alors que pendant la familiarisation 3, elle est atteinte dès la 8^e minute. De plus, l'interaction « minute » x « âge » x « condition d'hébergement » ($F_{(14,392)} = 2,13$; $p \leq 0,01$) révèle que les animaux âgés, quelle que soit leur condition d'hébergement, présentent une stabilisation de leur locomotion dès la 5^e minute alors que la stabilisation de la locomotion a lieu à partir de la 9^e minute pour les J-ES et de la 6^e minute pour les J-EE. Ce résultat pourrait être lié à un « effet plancher » dû aux déplacements moindres des animaux âgés par rapport aux animaux jeunes adultes.

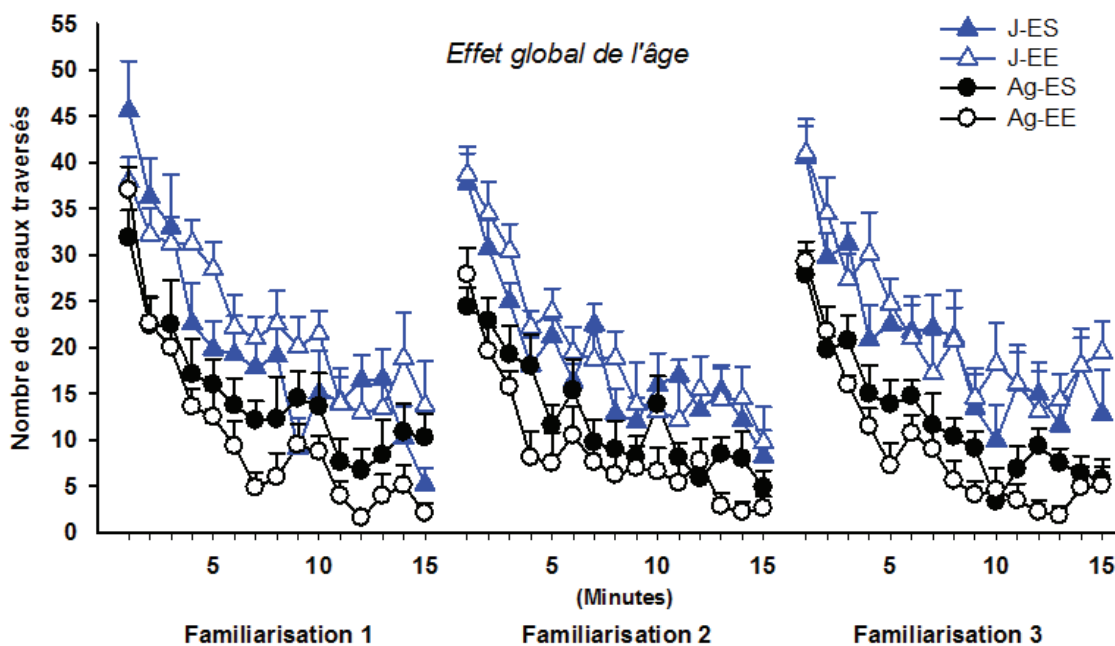


Figure 31. : Locomotion au cours des 3 séances de familiarisation, représentée par le nombre de carreaux traversés pendant chaque minute. Pour la clarté du graphique, les résultats statistiques liés aux effets « séance » et « minute » ne sont pas représentés (cf texte ci-dessus).

b) Familiarisation à une configuration d'objets

Les animaux des quatre groupes présentent une diminution de l'exploration des objets au sein des séances et entre les séances (Fig 32). Bien qu'une ré-exploration des objets soit observée lorsque les animaux sont replacés dans l'enceinte lors des séances 5 et 6, cette exploration reste moindre que lors de la première exposition aux objets (interaction « séance » x « minute » : $F_{(10,280)} = 81,31$; $p \leq 0,005$). En effet, il existe une différence significative entre chacune des trois premières minutes de la séance 4 et les autres minutes de cette séance ainsi qu'avec toutes les minutes des deux autres séances (encadré ; NK : $p \leq 0,005$ au moins). De plus, l'exploration se stabilise à partir de la 4^e minute lors de la séance 4, de la 3^e minute lors de la séance 5 et de la 2^e minute lors de la séance 6. Ces résultats reflètent une familiarisation aux objets inter- et intra-séance. En outre, l'enrichissement des conditions d'hébergement promeut une familiarisation plus rapide, surtout lors de la première séance de présentation des objets (interaction « séance » x « condition d'hébergement » presque significative : $F_{(2,56)} = 3,05$; $p = 0,055$). Ainsi, les animaux hébergés en EE présentent une exploration significativement inférieure à celle des animaux hébergés en ES lors de la séance 4 (NK : $p \leq 0,005$). Le fait que cet effet ne soit significatif qu'à la séance 4 est certainement lié à un « effet plancher » lors des séances suivantes durant lesquelles l'ensemble des animaux présente une exploration réduite.

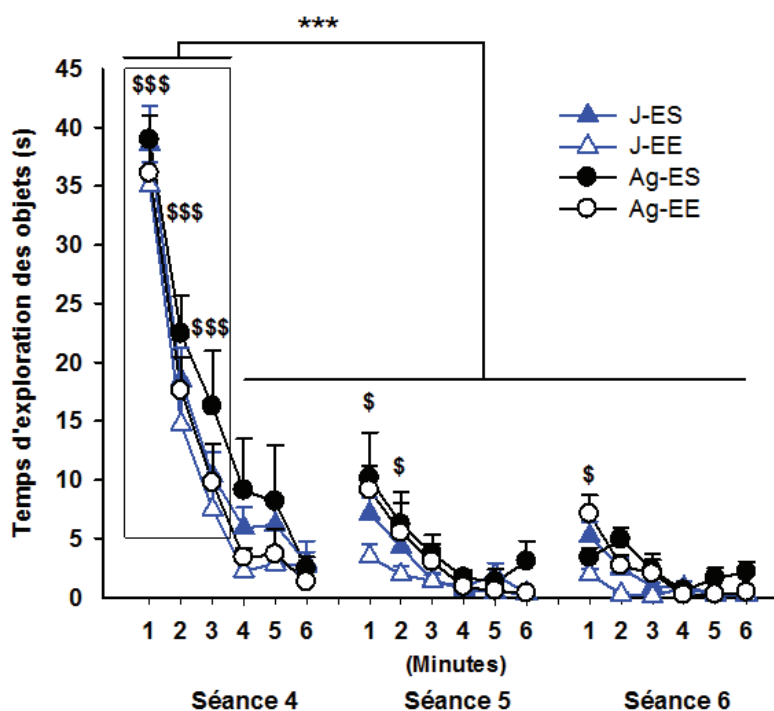


Figure 32. : Temps d'exploration total des 3 objets au cours des séances 4 à 6 du test (par minute). *** $p \leq 0,005$; \$, \$\$\$ différent de toutes les autres minutes au sein de la même séance ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,005$ respectivement). Pour la clarté du graphique, les résultats statistiques liés à l'interaction « séance » x « condition d'hébergement » ne sont pas représentés (cf texte ci-dessus).

c) Détection du changement spatial

- Exploration de chaque objet pendant les séances de familiarisation

Les animaux des quatre groupes présentent une exploration similaire de chacun des objets lors des séances 4 à 6 (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction « âge » x « condition d'hébergement » ; *Fig 33*). Aucune différence significative d'exploration entre les trois objets n'apparaît lors de cette familiarisation, lorsque l'ensemble des animaux est pris en compte (effet « objet » : $F_{(2,56)} = 1,14$; $p = 0,33$) ou pour chacun des groupes (J-ES : $F_{(2,14)} = 0,02$; $p = 0,98$; J-EE : $F_{(2,14)} = 0,91$; $p = 0,43$; Ag-ES : $F_{(2,14)} = 1,56$; $p = 0,24$; Ag-EE : $F_{(2,14)} = 2,28$; $p = 0,14$). Cette exploration identique des trois objets reflète une absence de préférence des animaux pour un objet ou sa position dans l'enceinte.

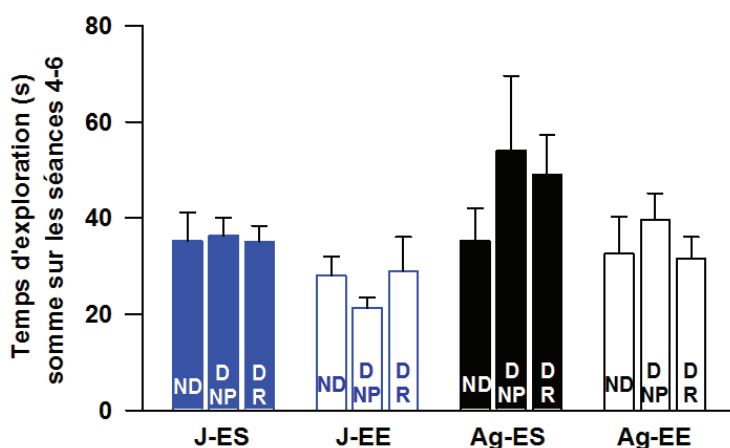


Figure 33. : Somme du temps d'exploration de chaque objet au cours des séances 4 à 6 du test. Les objets sont nommés en fonction de leur position à la séance 7 : D-NP : déplacé - nouvelle position, D-R : déplacé - remplaçant, ND : non déplacé.

- Exploration globale suite au changement spatial

Suite au changement de configuration spatiale des objets, les animaux de tous les groupes présentent une ré-exploration importante des objets, essentiellement en début de séance (*Fig 34*). Les animaux hébergés en EE explorent moins que ceux hébergés en ES sur l'ensemble des deux séances (effet « condition d'hébergement » : $F_{(1,28)} = 6,22$; $p \leq 0,05$). De plus, une interaction « séance » x « minute » x « âge » x « condition d'hébergement » ($F_{(5,140)} = 2,81$; $p \leq 0,05$) révèle que, pour les animaux Ag-ES la deuxième minute de la séance 7 est différente de la minute 4 de cette séance et des 4 dernières minutes de la séance 6 (NK, $p \leq 0,05$ au moins) et que, pour l'ensemble des groupes la première minute de la séance 7 est différente des autres minutes de cette séance ainsi que de toutes les minutes de la séance 6 (NK, $p \leq 0,005$).

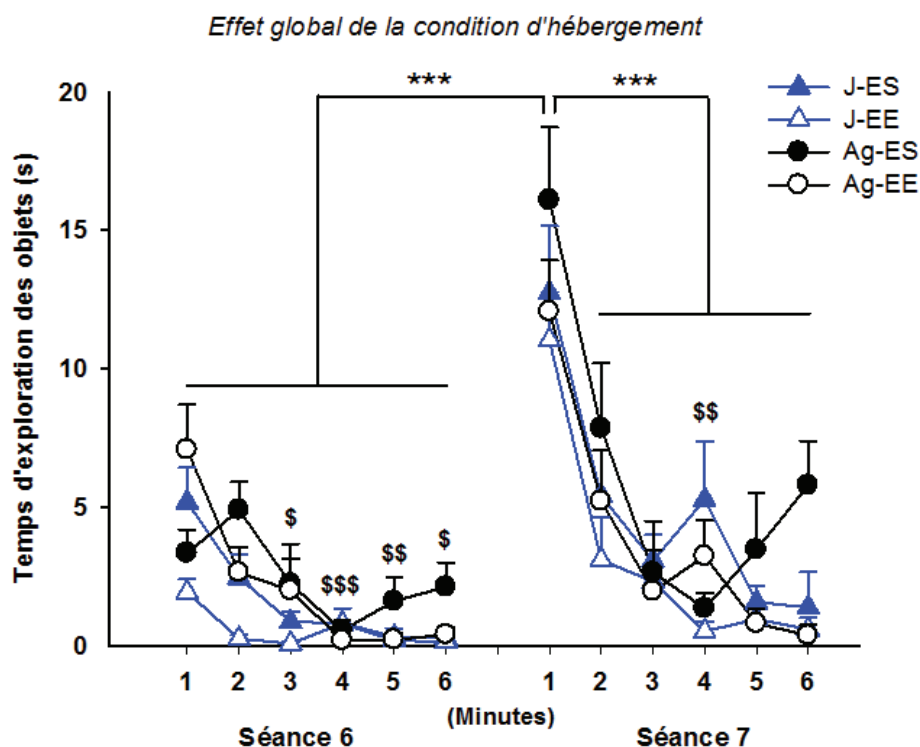


Figure 34. : Temps d’exploration total des 3 objets au cours des 6 minutes des séances 6 (avant le changement de configuration des objets) et 7 (après le changement de configuration des objets).

*** différent pour l’ensemble des groupes ($p \leq 0,005$) ; \$, \$\$, \$\$\$ différent de la 2^e minute de la S7 chez les Ag-ES ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,005$ respectivement).

Compte tenu du fait que la ré-exploration a lieu essentiellement durant la première minute suivant le changement spatial (résultat en accord avec les données de la littérature : Dix et Aggleton 1999 ; Ozawa *et al.* 2011), les capacités de détection de ce changement de configuration ont été examinées spécifiquement lors de la première minute de la séance 7.

- Exploration de chaque objet suite au changement spatial

Lorsque l’analyse est effectuée pour l’ensemble des groupes, ces derniers présentent tous une ré-exploration spécifique des objets déplacés suite au changement spatial (*Fig 35* ; interaction « séance » x « objet » : $F_{(2,56)} = 11,39$; $p \leq 0,005$). En effet, les animaux présentent une forte ré-exploration de l’objet déplacé à une nouvelle position (D-NP ; NK, $p \leq 0,005$), une ré-exploration moins importante de l’objet « remplaçant », ayant pris la place du précédent (D-R ; NK, $p \leq 0,05$), et ne présentent pas de ré-exploration de l’objet non déplacé (ND ; NK, $p = 0,51$). De plus, le temps d’exploration de l’objet déplacé « nouvelle position » est significativement supérieur au temps d’exploration des deux autres objets lors de la première minute de la séance 7 (NK, $p \leq 0,005$).

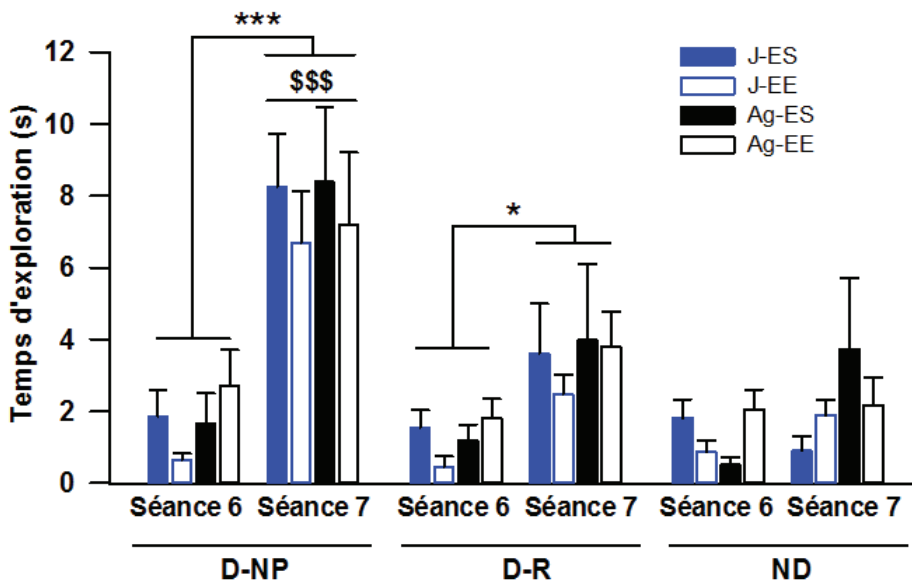


Figure 35. : Temps d'exploration de chaque objet lors de la première minute des séances 6 et 7. * $p \leq 0,05$; *** $p \leq 0,005$; \$\$\$ différent des autres objets lors des séances 6 et 7 ($p \leq 0,005$). D-NP : objet déplacé « nouvelle position » ; D-R : objet déplacé « remplaçant » ; ND : objet non déplacé.

Pour confirmer les résultats obtenus sur l'ensemble des groupes, l'analyse a également été effectuée pour chacun des groupes séparément. Dans ce cas, les animaux jeunes adultes, quelle que soit leur condition d'hébergement, présentent une ré-exploration spécifique de l'objet D-NP lors de la séance 7 (interaction « séance » x « objet » : J-ES : $F_{(2,14)} = 15,63$; $p \leq 0,005$; NK, $p \leq 0,005$; J-EE : $F_{(2,14)} = 8,29$; $p \leq 0,005$; NK, $p \leq 0,005$). Le temps d'exploration de cet objet est alors significativement supérieur au temps d'exploration des deux autres objets à la séance 7 (NK, $p \leq 0,005$ pour toutes les comparaisons). Par contre, les animaux Ag-ES présentent une ré-exploration globale lors de la séance 7 (effet « séance » uniquement : Ag-ES : $F_{(1,7)} = 26,43$; $p \leq 0,005$). Enfin, chez les animaux Ag-EE, l'ANOVA indique à la fois un effet « séance » ($F_{(1,7)} = 8,92$; $p \leq 0,05$) et un effet « objet » ($F_{(2,14)} = 3,62$; $p \leq 0,05$). L'analyse post-hoc de l'interaction « objet » x « séance » ($F_{(2,14)} = 1,63$; $p = 0,23$) révèle une augmentation significative spécifique de l'exploration de l'objet D-NP (NK, $p \leq 0,05$). Le temps d'exploration de cet objet à la séance 7 est significativement supérieur à celui de l'objet ND (NK, $p \leq 0,05$) et presque supérieur à celui de l'objet D-R (NK, $p = 0,068$).

Les résultats obtenus dans la tâche de détection du changement spatial indiquent que les animaux de tous les groupes, quels que soient leur âge et leur condition d'hébergement, sont capables de se familiariser à un environnement et à une configuration d'objets. Cependant, l'enrichissement des conditions d'hébergement semble promouvoir une familiarisation plus rapide à l'enceinte chez les animaux jeunes adultes ainsi qu'une familiarisation plus rapide aux objets, chez les animaux jeunes adultes et âgés. De plus, tous les groupes d'animaux, quels que soient leur âge et leur condition d'hébergement, sont capables de détecter une

modification spatiale de la configuration d'objets à laquelle ils ont été familiarisés (ré-exploration significative des objets lors de la séance 7). Cependant, cette détection du changement spatial semble moins précise chez les animaux âgés hébergés en ES que chez les animaux jeunes adultes car elle porte sur l'ensemble des objets et n'est pas spécifique des objets déplacés. L'hébergement en EE chez les animaux âgés semble limiter ce déficit, ces animaux présentant, comme les jeunes adultes, une ré-exploration plus spécifique de l'objet déplacé à une nouvelle position.

C) Activité oscillatoire du champ CA1 hippocampique

a) *Emplacement des électrodes*

Suite à l'élimination de certains animaux (mauvais emplacement de l'électrode, signaux essentiellement artefactuels), l'effectif final pour les enregistrements électrophysiologiques est le suivant : J-ES : n = 7 ; J-EE : n = 5 ; Ag-ES : n = 6 ; Ag-EE : n = 4 (*Fig 36*). Une partie de ces animaux a été soumise à l'implantation d'une électrode à 16 canaux permettant les analyses de CSD : J-ES : n = 6 ; J-EE : n = 5 ; Ag-ES : n = 2 ; Ag-EE : n = 3.

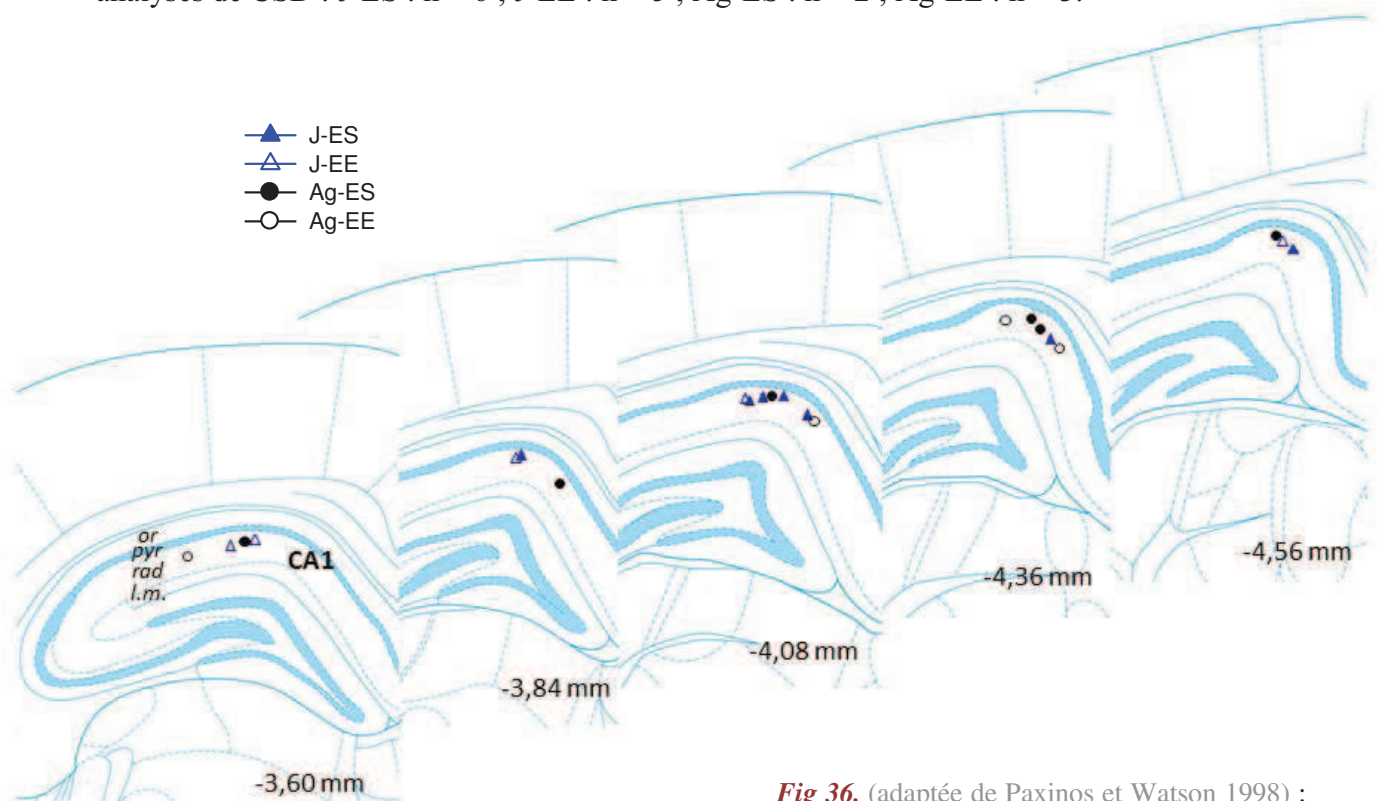


Fig 36. (adaptée de Paxinos et Watson 1998) : Illustration de l'emplacement des électrodes pour chacun des groupes d'animaux, sur des planches de l'atlas ordonnées selon l'axe antéro-postérieur.

b) Influence de l'âge et des conditions d'hébergement

Dans un premier temps, les modifications de l'activité oscillatoire hippocampique liées au vieillissement et aux conditions d'hébergement des animaux ont été évaluées lors d'épisodes de sommeil paradoxal et lorsque les animaux sont en veille active dans un contexte familial (première minute de la Familiarisation 3). L'ensemble des résultats est résumé dans le tableau ci-après (*Tableau 7*).

Une corrélation est généralement observée entre la vitesse de déplacement de l'animal et la puissance des oscillations θ et γ ainsi que la fréquence de l'oscillation θ (p.e. Hinman *et al.* 2011 ; Kemere *et al.* 2013). Ainsi, les modifications de ces variables avec l'âge ou l'enrichissement des conditions d'hébergement pourraient être associées à des modifications de la vitesse de déplacement des animaux. Pour évaluer cette possibilité, des corrélations ont été réalisées entre la vitesse de déplacement des animaux et ces différentes variables. Aucune corrélation significative n'a été mise en évidence (données non montrées).

1. Effet de l'âge

Dans cette partie, je ne décrirai que les effets du vieillissement qui apparaissent à la fois chez les animaux hébergés en ES et en EE. Le vieillissement induit une diminution de la fréquence de l'oscillation θ , quel que soit l'état de vigilance des animaux. De plus, durant le SP, les animaux âgés présentent une puissance absolue de l'oscillation γ_L plus faible, alors que la puissance absolue de l'oscillation γ_R est similaire à celle des sujets jeunes adultes. En outre, lorsque les animaux sont placés dans un contexte environnemental familial, les animaux âgés présentent une puissance absolue des oscillations θ et γ_L plus faible que les animaux jeunes adultes, sans modification de celle de l'oscillation γ_R . Toutefois, les animaux âgés présentant une diminution de la puissance du spectre de fréquence total, nous avons jugé pertinent d'évaluer également les puissances relatives des différentes bandes de fréquences d'intérêt. Dans ce cas, seule la puissance relative de l'oscillation γ_R est plus importante chez les sujets âgés lorsqu'ils sont en veille active dans un contexte familial. Enfin, la force de couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R n'est pas affectée par le vieillissement. D'autres effets du vieillissement apparaissent spécifiquement chez les animaux hébergés en EE et seront décrits plus tard.

Effet / Variable		Situation	Sommeil paradoxal	Veille active (contexte familial)
Age	Fréquence θ (Hz)		↓ $F_{(1,18)} = 5,69 ; p \leq 0,05$	↓ $F_{(1,18)} = 8,45 ; p \leq 0,01$
	Puissance absolue (dB)	θ	↓ chez EE $F_{(1,18)}^* = 5,45 ; p \leq 0,05 ; NK : p \leq 0,005$	↓ $F_{(1,18)} = 6,86 ; p \leq 0,05$
		γL	↓ $F_{(1,18)} = 6,13 ; p \leq 0,05$	↓ $F_{(1,18)} = 7,48 ; p \leq 0,01$
		γR	—	—
	Puissance relative	θ	↓ chez EE $F_{(1,18)}^* = 4,20 ; p = 0,055 ; NK : p \leq 0,005^\#$	—
		γL	↑ chez EE $F_{(1,18)}^* = 2,74 ; p = 0,12 ; NK : p \leq 0,01^\#$	—
		γR	↑ chez EE $F_{(1,18)}^* = 7,77 ; p \leq 0,01, NK : p \leq 0,005$	↑ $F_{(1,18)} = 7,83 ; p \leq 0,01$
	Index de modulation	γL	—	—
		γR	—	—
	EE	Fréquence θ (Hz)		—
Puissance absolue (dB)		θ	↓ chez Ag $F_{(1,18)}^* = 5,45 ; p \leq 0,05 ; NK : p \leq 0,005$	↓ $F_{(1,18)} = 4,96 ; p \leq 0,05$
		γL	—	—
		γR	—	—
Puissance relative		θ	↓ chez Ag $F_{(1,18)}^* = 4,20 ; p = 0,055 ; NK : p \leq 0,005^\#$	↓ $F_{(1,18)} = 17,29 ; p \leq 0,005$
		γL	↑ chez Ag $F_{(1,18)}^* = 2,74 ; p = 0,12 ; NK : p \leq 0,01^\#$	↑ $F_{(1,18)} = 9,58 ; p \leq 0,01$
		γR	↑ chez Ag $F_{(1,18)}^* = 7,77 ; p \leq 0,01, NK : p \leq 0,005$	↑ $F_{(1,18)} = 9,27 ; p \leq 0,01$
Index de modulation		γL	—	—
	γR	—	↓ $F_{(1,18)} = 7,03 ; p \leq 0,05$	

Tableau 7. : Modifications de l'activité oscillatoire liées à l'âge et à l'enrichissement des conditions d'hébergement dans la *stratum radiatum* du champ CA1 hippocampique, lors d'épisodes de sommeil paradoxal et lors de la veille active dans un contexte familial (Familiarisation 3). ↑ : augmentation, ↓ : diminution, — : pas de modification, * F de l'interaction « âge » x « condition d'hébergement », # pour ces interactions proches de la significativité, les résultats des analyses post-hoc ont été pris en compte.

2. Effet de l'hébergement en EE

Dans cette partie, je ne décrirai que les effets de l'enrichissement des conditions d'hébergement qui apparaissent à la fois chez les animaux jeunes adultes et âgés. L'hébergement en EE ne modifie pas la fréquence de l'oscillation θ , quel que soit l'état de vigilance des animaux. Il n'affecte pas non plus les puissances absolues des oscillations γ_L et γ_R pendant le SP. Lorsque les animaux sont placés dans un contexte familial, les animaux hébergés en EE présentent une puissance absolue de l'oscillation θ plus faible, alors que la puissance absolue des oscillations γ_L et γ_R est similaire à celle des sujets hébergés en ES. Dans cette situation, la puissance relative de l'oscillation θ est plus faible et celle des oscillations γ_L et γ_R , et elle est plus importante chez les animaux hébergés en EE que chez les animaux hébergés en ES. Enfin, la force de couplage entre l'oscillation θ et l'oscillation γ_L n'est pas affectée par l'enrichissement, mais les animaux hébergés en EE présentent un couplage plus faible entre les oscillations θ et γ_R lorsqu'ils sont placés dans un contexte familial.

3. Effet de l'hébergement en EE chez les animaux âgés

Toutes les modifications observées chez les animaux âgés hébergés en ES apparaissent également chez les animaux hébergés toute leur vie en EE. Ainsi, l'hébergement en EE ne permet pas de restaurer la fréquence de l'oscillation θ ou la puissance du spectre de fréquence total (données non montrées) ni de restaurer la puissance des oscillations durant la veille active. De plus, durant le SP, les animaux hébergés en EE présentent des puissances absolue et relative de l'oscillation θ plus faibles et une puissance relative des oscillations γ_L et γ_R plus importante que les animaux du même âge hébergés en ES.

c) Modulation de l'activité oscillatoire hippocampique dans la tâche de détection du changement spatial

Etant donné que la détection des changements de l'environnement proximal de l'animal semble reposer essentiellement sur la première minute d'exploration de cet environnement (*Fig 34*), l'étude de la modulation de l'activité oscillatoire au cours de cette tâche a été effectuée au cours de la première minute des séances de familiarisation et de test.

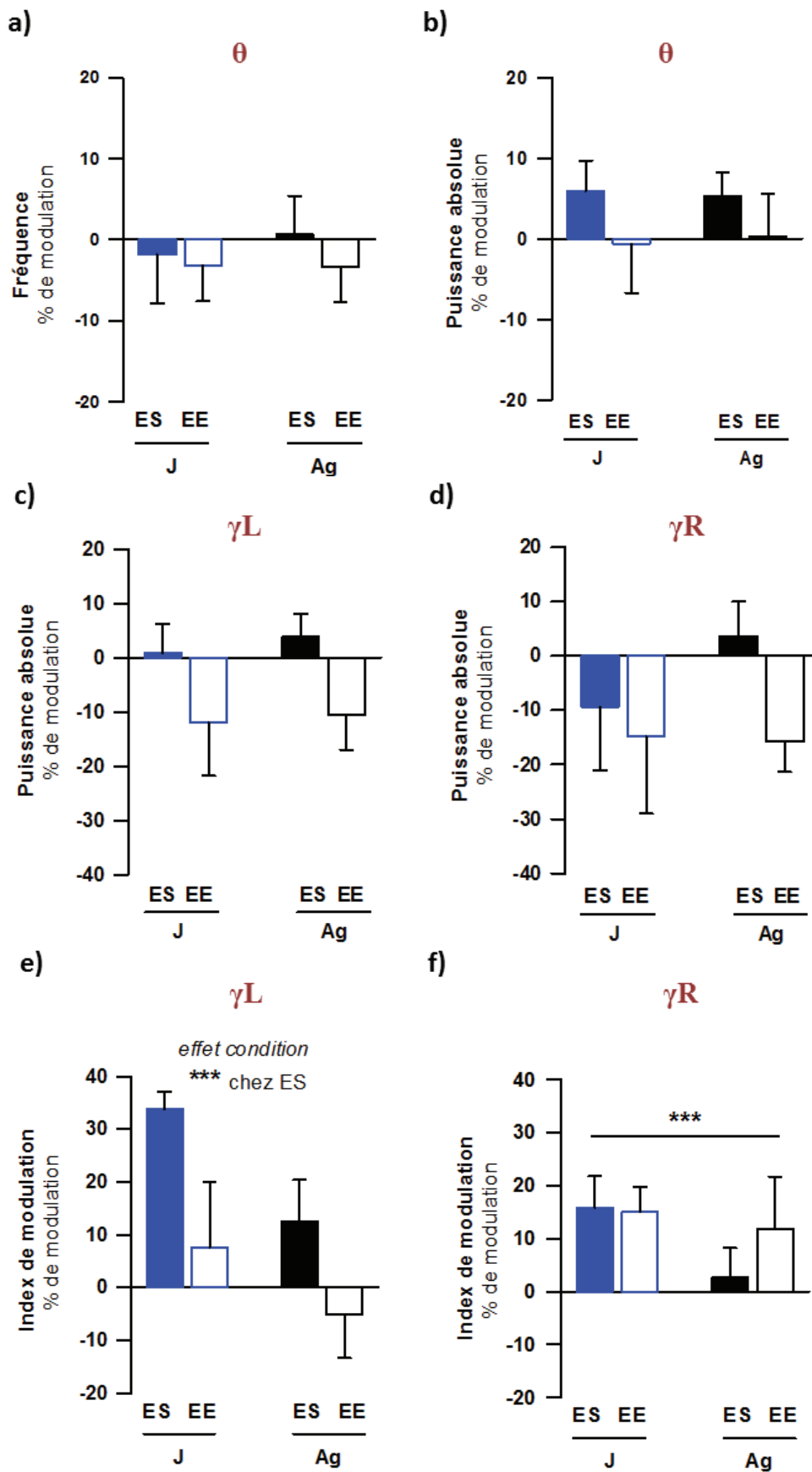


Fig 37. : Modulation de l'activité oscillatoire entre la Familiarisation 1 (contexte nouveau) et la Familiarisation 3 (contexte familier) : $[100 - (\text{Familiarisation 1} / \text{Familiarisation 3}) \times 100]$. Fréquence au pic de l'oscillation θ (a). Puissances absolues des oscillations θ (b), γ_L (c) et γ_R (d). Index de modulation reflétant la force de couplage entre les oscillations θ et γ_L (e) et entre les oscillations θ et γ_R (f). *** différent de 0 ($p \leq 0,005$).

1. Familiarisation à l'enceinte

La modulation de l'activité oscillatoire liée à la familiarisation à l'enceinte est évaluée en calculant le pourcentage de modulation des différentes variables entre la première séance de familiarisation à l'enceinte (Familiarisation 1 ; contexte « nouveau ») et la dernière séance de familiarisation à l'enceinte (Familiarisation 3 ; contexte « familier »).

La fréquence de l'oscillation θ (*Fig 37a*), ainsi que les puissances des oscillations θ , γ_L et γ_R (*Fig 37b-d*) sont identiques, que les animaux soient placés dans un contexte nouveau ou familier, et ce chez les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction).

La modulation de la force de couplage entre l'oscillation θ et l'oscillation γ_L , quant à elle, dépend de la condition d'hébergement des animaux (effet « condition d'hébergement » : $F_{(1,18)} = 7,23$; $p \leq 0,01$; *Fig 37e*). En effet, chez les animaux hébergés en ES, la force de couplage est plus élevée lorsqu'ils sont placés dans un contexte familier que lorsqu'ils sont placés dans un contexte nouveau ($t = 4,86$; $p \leq 0,005$). La modulation de la force de couplage entre l'oscillation θ et l'oscillation γ_R est similaire chez les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction ; *Fig 37f*). Cette force de couplage est plus importante lorsque les animaux sont placés dans un contexte familier que lorsqu'ils sont placés dans un contexte nouveau (ensemble des groupes : $t = 3,55$; $p \leq 0,005$).

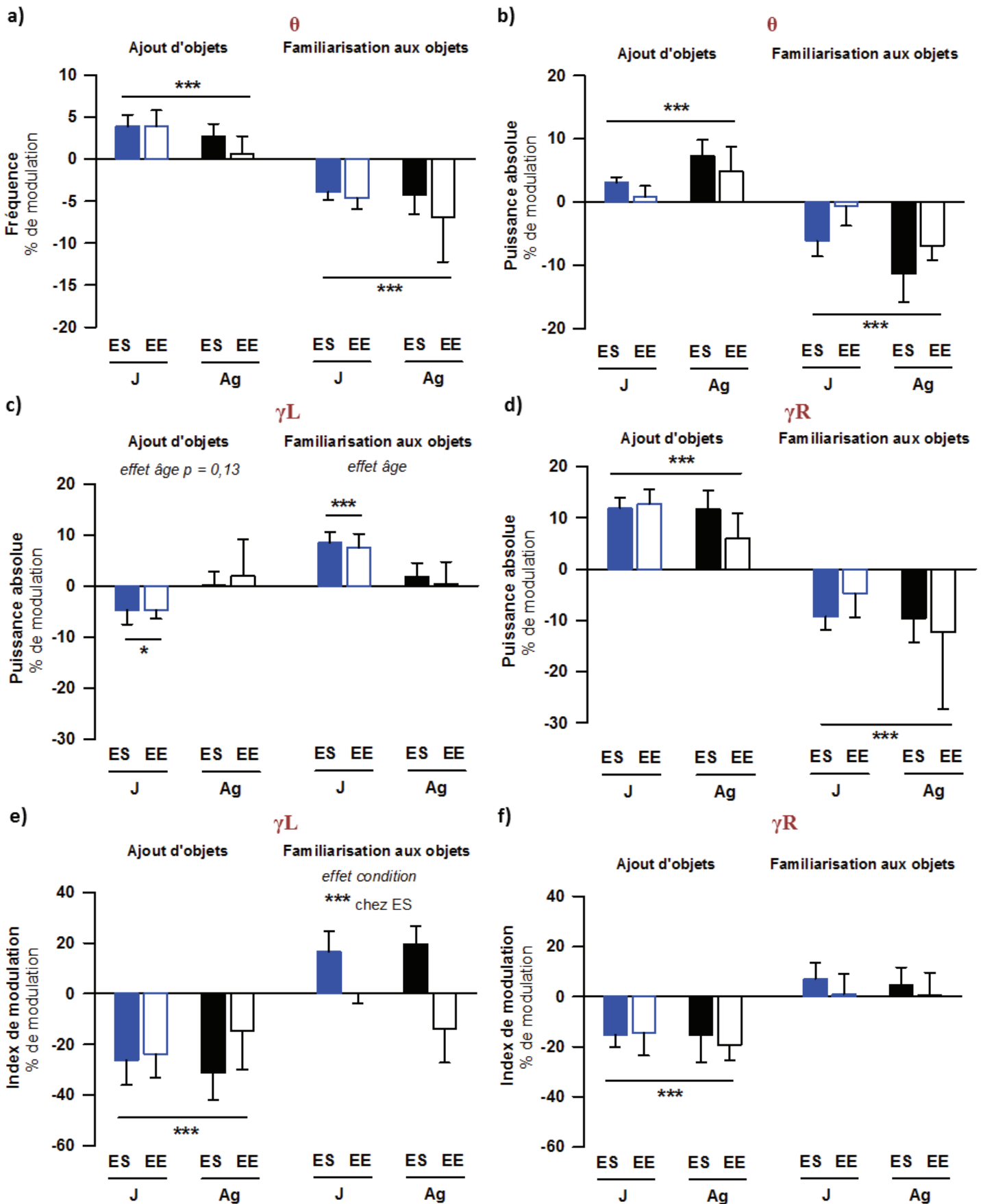


Fig 38. : Modulation de l'activité oscillatoire entre la Séance 3 (dernière exposition à l'enceinte vide) et la Séance 4 (première exposition aux objets) : $[100 - (S3 / S4) \times 100]$; entre la Séance 4 et la Séance 6 (configuration d'objets familière) : $[100 - (S4 / S6) \times 100]$. Fréquence au pic de l'oscillation θ (a). Puissances absolues des oscillations θ (b), γ_L (c) et γ_R (d). Index de modulation reflétant la force de couplage entre les oscillations θ et γ_L (e) et entre les oscillations θ et γ_R (f). *, *** différent de 0 ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,005$ respectivement).

2. Réaction à l'ajout d'objets dans l'enceinte et familiarisation à une configuration d'objets

La modulation de l'activité oscillatoire liée à l'ajout d'objets dans l'enceinte et la familiarisation à une configuration d'objets est évaluée en calculant le pourcentage de modulation des différentes variables entre la dernière séance dans l'enceinte vide (Séance 3) et la première séance de présentation des objets dans leur configuration initiale (Séance 4) ainsi qu'entre cette séance (Séance 4) et la dernière séance d'exposition à cette même configuration (Séance 6).

La modulation de la fréquence et de la puissance de l'oscillation θ est similaire pour les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction ; *Fig 38a et b*). Elle consiste en une augmentation de la valeur de ces variables suite à l'ajout des objets (ensemble des groupes : fréquence : $t = 3,68$; $p \leq 0,005$; puissance : $t = 3,58$; $p \leq 0,005$) et en leur diminution avec la familiarisation des animaux aux objets (ensemble des groupes : fréquence : $t = -4,08$; $p \leq 0,005$; puissance : $t = -3,70$; $p \leq 0,005$).

La modulation de la puissance de l'oscillation γ_L est, quant à elle, dépendante de l'âge des animaux (*Fig 38c*). En effet, seuls les animaux jeunes adultes présentent une diminution significative de la puissance de l'oscillation γ_L lors de l'ajout des objets dans l'enceinte (effet « âge » : $F_{(1,18)} = 2,53$; $p = 0,13$; J : $t = -2,77$; $p \leq 0,05$) ainsi qu'une augmentation de cette puissance lors de la familiarisation aux objets (effet « âge » : $F_{(1,18)} = 5,57$; $p \leq 0,05$; J : $t = 4,86$; $p \leq 0,005$). Par contre, la modulation de la puissance de l'oscillation γ_R est similaire pour les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction ; *Fig 38d*) qui présentent une augmentation de cette puissance lors de l'ajout d'objets (ensemble des groupes : $t = 6,81$; $p \leq 0,005$) et une diminution lors de la familiarisation à cette configuration d'objets (ensemble des groupes : $t = -2,93$; $p \leq 0,01$).

La modulation de la force de couplage entre l'oscillation θ et l'oscillation γ_L dépend en partie des conditions d'hébergement des animaux (*Fig 38e*). En effet, lors de l'ajout d'objets dans l'enceinte, les animaux de tous les groupes présentent une diminution de la force de couplage (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction ; ensemble des groupes : $t = -4,75$; $p \leq 0,005$). Par contre, lors de la familiarisation des animaux à cette configuration d'objets, seuls ceux hébergés en ES présentent une augmentation de la force de couplage (effet « condition d'hébergement » : $F_{(1,18)} = 8,80$; $p \leq 0,01$; ES : $t = 3,45$; $p \leq 0,005$). La modulation de la force de couplage entre l'oscillation θ et l'oscillation γ_R est similaire pour

les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction ; *Fig 38f*). Cette force de couplage diminue lors de l'ajout des objets (ensemble des groupes : $t = -4,15$; $p \leq 0,005$) mais reste stable lors de la familiarisation des animaux à ces objets (ensemble des groupes : $t = 1,07$; $p = 0,30$).

De manière intéressante, les mesures des différentes variables lorsque les animaux sont à proximité des objets ne sont pas différentes de celles obtenues lorsqu'ils sont dans le reste de l'enceinte (données non montrées). Les modifications de l'activité oscillatoire hippocampique liées à l'ajout des objets dans l'enceinte ne sont donc pas spécifiques de leur exploration.

3. Détection du changement spatial

La modulation de l'activité oscillatoire liée à la détection du changement spatial est évaluée en calculant le pourcentage de modulation des différentes variables entre la dernière séance de familiarisation à la configuration initiale d'objets (Séance 6) et l'exposition à la deuxième configuration des objets suite au changement spatial (Séance 7).

La modulation de la fréquence et de la puissance de l'oscillation θ est similaire pour les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction ; *Fig 39a et b*) et consiste en une augmentation suite au changement spatial (ensemble des groupes : fréquence : $t = 2,65$; $p \leq 0,05$; puissance : $t = 2,43$; $p \leq 0,05$).

Les puissances des oscillations γ_L et γ_R (*Fig 39c et d*) ainsi que la force de leur couplage avec l'oscillation θ (*Fig 39e et f*) sont quant à elles identiques durant la dernière séance de familiarisation aux objets et suite au changement spatial, et ce chez les animaux des quatre groupes (ni effet « âge », ni effet « condition d'hébergement », ni interaction).

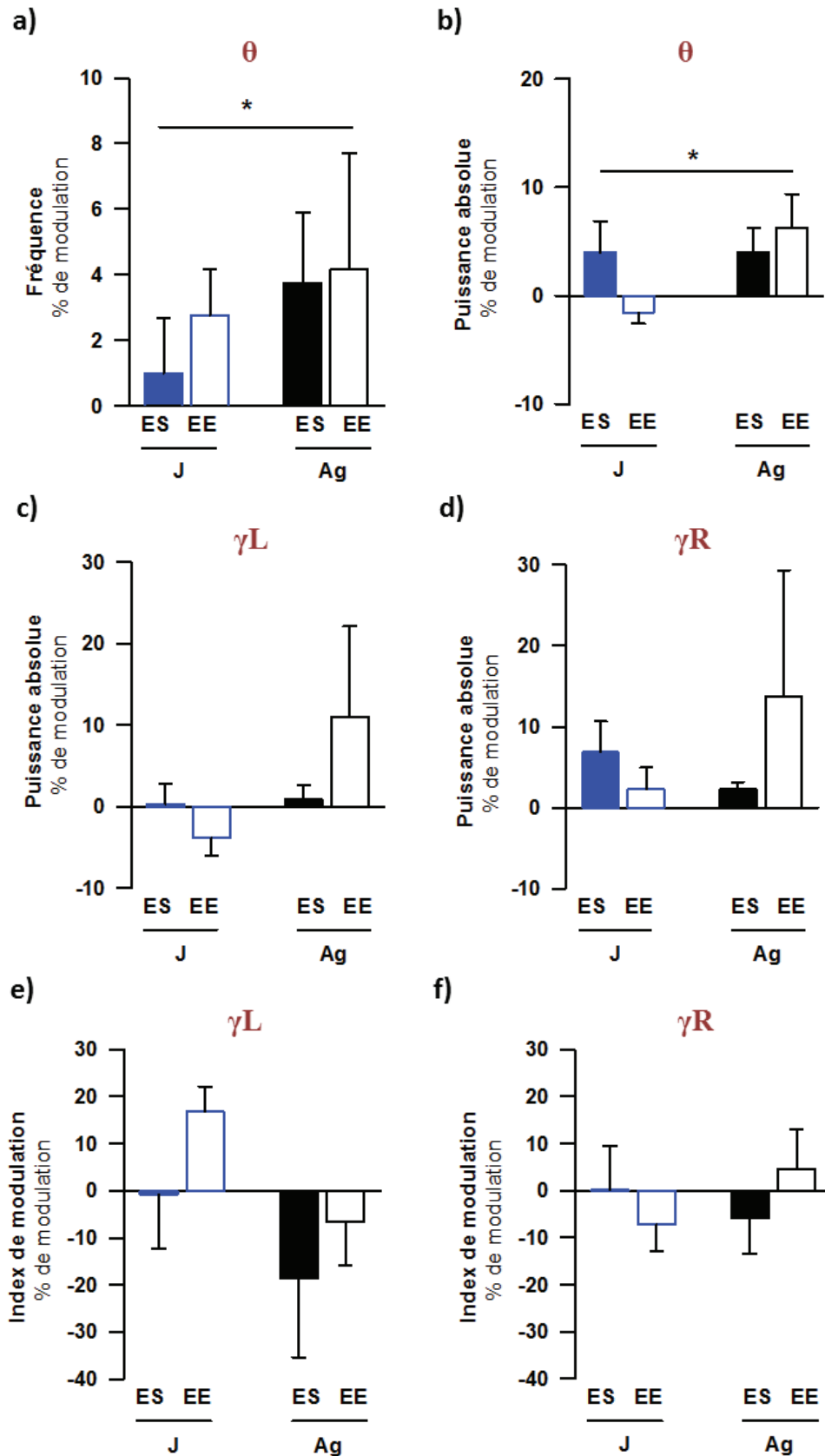


Fig 39. : Modulation de l'activité oscillatoire entre la Séance 6 (dernière exposition à la configuration initiale d'objets) et la Séance 7 (suite au changement spatial) : $[100 - (S6 / S7) \times 100]$. Fréquence au pic de l'oscillation θ (a). Puissances absolues des oscillations θ (b), γ_L (c) et γ_R (d). Index de modulation reflétant la force de couplage entre les oscillations θ et γ_L (e) et entre les oscillations θ et γ_R (f). * différent de 0 ($p \leq 0,05$).

4. Vérification en CSD

Les modulations liées au changement de la configuration des objets de la puissance des oscillations et du couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R ont été vérifiées en CSD chez une partie des animaux (*Fig 40*).

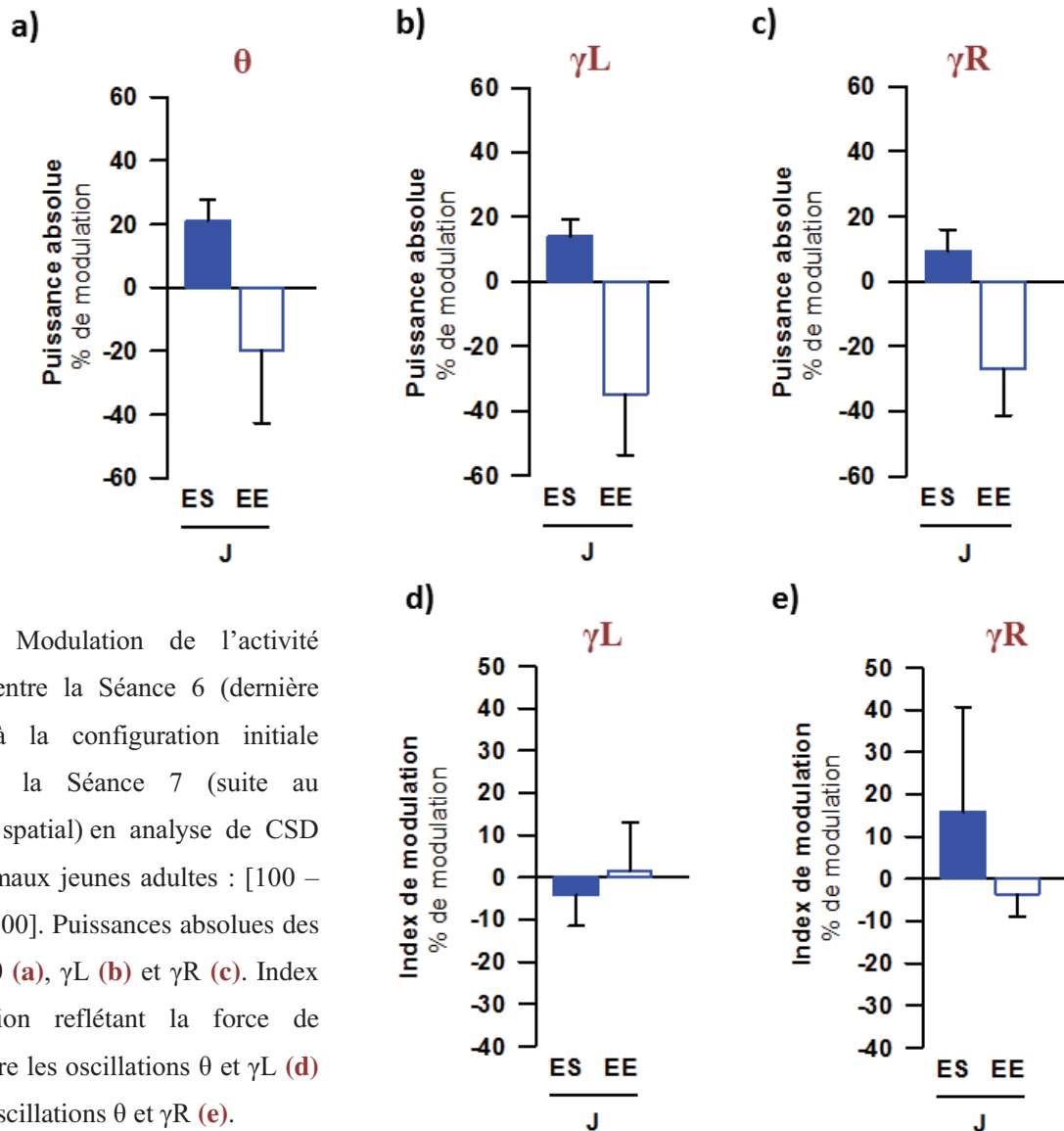


Fig 40. : Modulation de l'activité oscillatoire entre la Séance 6 (dernière exposition à la configuration initiale d'objets) et la Séance 7 (suite au changement spatial) en analyse de CSD chez les animaux jeunes adultes : [100 – (S6 / S7) x 100]. Puissances absolues des oscillations θ (a), γ_L (b) et γ_R (c). Index de modulation reflétant la force de couplage entre les oscillations θ et γ_L (d) et entre les oscillations θ et γ_R (e).

Etant donné le faible nombre d'animaux chez les animaux âgés, seuls les résultats concernant les animaux jeunes adultes ont été représentés. Or, il est possible d'observer des modulations globalement similaires à celles obtenues précédemment en analyses sur les potentiels de champ. Ces modifications de l'activité oscillatoire observées au cours de la tâche de détection du changement spatial semblent ainsi refléter des modifications locales au sein de la *stratum radiatum* du champ CA1 hippocampique.

5. Récapitulatif des modifications de l'activité oscillatoire hippocampique durant la tâche de détection du changement spatial

La modulation de l'activité oscillatoire au sein de la *stratum radiatum* du champ CA1 hippocampique au cours de la tâche de détection du changement spatial est résumée ci-dessous (*Tableau 8*).

Effet \ Variable	Puissances absolues (dB)			Fréquence θ (Hz)	IM	
	θ	γ_L	γ_R		$\theta - \gamma_L$	$\theta - \gamma_R$
Famil. à l'enceinte	–	–	–	–	↑ chez ES	↑
Ajout d'objets	↑	↓ chez J	↑	↑	↓	↓
Famil. aux objets	↓	↑ chez J	↓	↓	↑ chez ES	–
Changement spatial	↑	–	–	↑	–	–

Tableau 8. Modulations de l'activité oscillatoire de la *stratum radiatum* du champ CA1 hippocampique durant la tâche de détection du changement spatial. En noir sont représentées les modifications liées à la familiarisation des animaux lorsqu'ils sont exposés pendant plusieurs séances consécutives à un contexte environnemental identique. En bleu sont représentées les modifications liées à la nouveauté spatiale lorsque les animaux sont exposés à un changement du contexte environnemental auquel ils ont été familiarisés. Famil : familiarisation, IM : index de modulation, ↑ : augmentation, ↓ : diminution, – : pas de modification.

Les résultats des analyses électrophysiologiques effectuées durant la tâche de détection du changement spatial révèlent que l'activité oscillatoire hippocampique au sein de la *stratum radiatum* du champ CA1 est modulée lors de modifications de l'environnement proximal des animaux.

Chez les animaux jeunes adultes hébergés en ES, la familiarisation à une enceinte vide n'induit pas de modification de la puissance des oscillations θ et γ et de la fréquence de l'oscillation θ . Par contre, la familiarisation aux objets s'accompagne d'une diminution de la fréquence θ et de la puissance des oscillations θ et γ_R , ainsi que d'une augmentation de la puissance de l'oscillation γ_L . L'augmentation de la force du couplage entre les oscillations θ et γ_L , quant à elle, apparaît à la fois lors de la familiarisation à l'enceinte et aux objets, et est accompagnée d'une augmentation de la force du couplage entre les oscillations θ et γ_R lors de la familiarisation à l'enceinte. Suite à modification de l'environnement proximal des animaux

(ajout d'objet ou changement spatial de la configuration des objets), la puissance et la fréquence de l'oscillation θ sont toutes deux augmentées. Par contre, l'effet de la nouveauté environnementale sur les oscillations γ et sur leur couplage avec l'oscillation θ semble dépendre de la complexité de la modification du contexte. En effet, la puissance de l'oscillation γ_L diminue, celle de l'oscillation γ_R augmente et le couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R diminue suite à l'ajout d'objets dans l'enceinte vide (nouveauté environnementale importante), alors que ces variables restent inchangées lorsque la configuration de ces objets est modifiée (nouveauté environnementale plus subtile).

La majorité des modifications de l'activité oscillatoire liées aux changements de l'environnement proximal des animaux apparaît chez l'ensemble des groupes. Cependant, la modification de la puissance de l'oscillation γ_L lors de l'ajout des objets et lors de la familiarisation des animaux à ces objets n'apparaît que chez les animaux jeunes adultes. De plus, la modulation du couplage entre l'oscillation θ et l'oscillation γ_L lors de la familiarisation de animaux à l'enceinte et à la configuration initiale des objets apparaît spécifiquement chez les animaux hébergés en ES, quel que soit leur âge.

Discussion

A) *Caractérisation des animaux en piscine de Morris*

La caractérisation des animaux en piscine de Morris a permis de reproduire des résultats précédemment obtenus dans notre laboratoire (Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013) : chez les animaux âgés, l'enrichissement des conditions d'hébergement durant toute la vie adulte prévient les déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale observés chez les animaux hébergés en ES. De plus, l'hébergement en EE des animaux jeunes adultes n'induit pas d'amélioration de leurs performances par rapport à celles d'animaux du même âge hébergés en condition standard. Ceci pourrait être dû au fait que les animaux jeunes adultes, même s'ils sont hébergés en ES, présentent des performances optimales dans cette tâche.

B) Performances des animaux dans la tâche de détection du changement spatial

a) Familiarisation à l'enceinte et à une configuration d'objets

Dans notre tâche, la familiarisation permet d'évaluer le souvenir d'un contexte environnemental proximal plus ou moins complexe, après différents délais. Nos résultats montrent que, bien que les animaux de tous les groupes présentent une familiarisation à l'enceinte vide (reflétée par une diminution de l'activité locomotrice) et à une configuration d'objets (reflétée par une diminution de l'exploration de ces objets), le vieillissement ne semble pas influencer les capacités de familiarisation des animaux alors que l'enrichissement des conditions d'hébergement semble les faciliter. En effet, l'hébergement en EE semble promouvoir une familiarisation plus rapide des animaux à l'enceinte (comme observé précédemment : Schrijver *et al.* 2002 ; Barbelivien *et al.* 2006 ; Amaral *et al.* 2008 ; Brenes *et al.* 2009) et aux objets. L'absence d'effet de l'EE chez les animaux âgés lors de la familiarisation à l'enceinte est certainement liée à l'« effet plancher » dû à la moindre locomotion chez ces animaux. Cet effet facilitateur de la familiarisation des animaux à des situations environnementales nouvelles suggère que les animaux soumis à une vie plus riche en stimulations assimilent plus vite les informations de leur environnement que des animaux hébergés en condition standard.

b) Détection du changement spatial

D'après nos résultats, les animaux de tous les groupes sont capables de détecter le changement de configuration spatiale des objets, car ils présentent tous une ré-exploration importante des objets lors de la première minute de la séance suivant ce changement.

Les animaux jeunes adultes hébergés en ES présentent une ré-exploration plus importante de l'objet déplacé à une nouvelle position (objet D-NP) que de celui remplaçant cet objet déplacé (objet D-R). Ces résultats sont en accord avec une étude précédente de Lee *et al.* (2005) et suggèrent que, lorsque plusieurs changements apparaissent dans leur environnement proximal, la réaction comportementale des animaux est dirigée vers la modification la plus évidente. Ainsi, l'absence de ré-exploration de l'objet D-R dans notre tâche ne signifie pas qu'ils sont incapables de détecter un tel changement. En effet, lorsque des animaux jeunes adultes sont uniquement confrontés à un remplacement entre deux objets au sein d'une enceinte (*i.e.* un changement de type D-R), leur détection du changement spatial semble être aussi efficace que lorsqu'ils sont uniquement confrontés au déplacement d'un objet vers une nouvelle position

(p.e. Barker et Warburton 2011 ; Cross *et al.* 2012). L'enrichissement des conditions d'hébergement n'induit pas de modification de la réaction comportementale des animaux jeunes adultes suite au changement spatial (en accord avec Schrijver *et al.* 2002). Pourtant, à l'instar de son effet sur les performances des animaux en reconnaissance d'objets (Leger *et al.* 2014), Birch *et al.* (2013) ont mis en évidence que l'hébergement en EE promeut une rétention à plus long-terme (24 h) de la mémoire de l'association objet-position. Toutefois, bien que les résultats de cette étude suggèrent que les animaux hébergés en EE auraient un souvenir de leur environnement proximal plus résistant, et donc potentiellement plus précis, cette modification liée à l'enrichissement ne s'exprime pas, dans la tâche de détection du changement spatial, par une exploration plus marquée de l'objet remplaçant.

Les animaux âgés hébergés en ES sont également capables de détecter un changement dans leur environnement proximal, ce qui est reflété par une ré-exploration globale des objets suite à ce changement. Ces résultats sont surprenants car la plupart des données de la littérature suggèrent un déficit de détection du changement spatial chez des Rongeurs âgés (voir Introduction, partie II-1B ; p.e. Shukitt-Hale *et al.* 2001 ; Maasberg *et al.* 2012 ; mais voir Bergado *et al.* 2011). Cette divergence pourrait être expliquée par les sujets d'études (âge, souche, sexe) ou par certains paramètres propres à la tâche (taille de l'enceinte, nombre d'objets, nombre et durée des séances de présentation, délai de rétention). En particulier, le nombre d'objets pourrait constituer un facteur clé de l'effet de l'âge sur les performances des animaux dans cette tâche. En effet, les études de Shukitt-Hale *et al.* (2001) et Maasberg *et al.* (2012) ont toutes deux utilisé un protocole similaire au nôtre (nombre et durée des séances, délai de rétention, changement spatial), la différence critique reposant sur le nombre d'objets présents dans l'enceinte (4 et 5 dans ces études respectives). Ainsi, les animaux âgés pourraient présenter un déficit de détection du changement spatial d'une configuration d'objets, spécifiquement lorsqu'ils sont confrontés à une configuration d'objets plus complexe (plus de trois objets). Cette hypothèse est en accord avec les résultats de Bergado *et al.* (2011) qui ont montré une préservation des performances chez les animaux âgés lorsqu'ils sont confrontés au déplacement d'un objet sur les trois présents dans l'enceinte. Cependant, dans notre étude, bien que les animaux âgés hébergés en ES soient capables de détecter le changement spatial, ils présentent, contrairement aux animaux jeunes adultes hébergés en ES, une ré-exploration plus globale des objets portant à la fois sur les objets déplacés mais également sur l'objet non déplacé. Le vieillissement pourrait ainsi altérer la spécificité de détection d'une modification de l'environnement proximal, pouvant suggérer un souvenir

moins précis de la configuration spatiale des objets. Les animaux hébergés en EE, quant à eux, présentent une ré-exploration plus similaire à celle des sujets jeunes adultes, à savoir une ré-exploration spécifique de l'objet D-NP. L'hébergement en EE pourrait donc limiter les altérations liées au vieillissement (contrairement à Van Waas et Soffié 1996).

C) *Activité oscillatoire du champ CA1 hippocampique*

a) Influence de l'âge et des conditions d'hébergement

La puissance des oscillations θ , γ_L et γ_R ainsi que la fréquence de l'oscillation θ sont généralement corrélées à la vitesse de déplacement des animaux (p.e. Hinman *et al.* 2011 ; Kemere *et al.* 2013). Les modifications de ces variables avec l'âge ou l'enrichissement des conditions d'hébergement pourraient ainsi être en partie dues à des modifications de la vitesse de déplacement des animaux. Cependant, dans notre étude, les effets liés à l'âge ou aux conditions d'hébergement apparaissent également la plupart du temps en SP. De plus, aucune corrélation significative n'a été mise en évidence entre la vitesse de locomotion et chacune de ces variables. Ainsi, les modifications de l'activité oscillatoire hippocampiques décrites ci-dessous peuvent être attribuées à l'influence de l'âge et de l'hébergement en EE *per se*.

1. Effet de l'âge chez les animaux hébergés en ES

D'après nos résultats, le vieillissement induit une diminution de la fréquence au pic de l'oscillation θ . Cette différence apparaît durant le SP et lorsque les animaux sont placés dans un contexte environnemental familier. Ces résultats sont en accord avec différentes données de la littérature obtenues chez le Rat, dans le champ CA1 hippocampique ou en EEG, qui suggèrent une diminution de cette fréquence chez les animaux âgés (Shen *et al.* 1997 ; Jacobson *et al.* 2013 ; mais voir Abe et Toyosawa 1999). Cette diminution semble apparaître tardivement étant donné que, contrairement aux animaux âgés, des animaux moyennement âgés (MA) présentent quant à eux un maintien, voire une augmentation de cette fréquence par rapport aux animaux jeunes adultes (Abe et Toyosawa 1999 ; Kuo *et al.* 2010 ; Huxter *et al.* 2012). Par ailleurs, alors que le vieillissement n'induit pas de modification de la puissance absolue de l'oscillation θ durant le SP (comme décrit précédemment : Shen *et al.* 1997), il induit une diminution de cette puissance lorsque les animaux sont en veille active dans un contexte familier. En accord avec nos données, plusieurs études ont mis en évidence une telle diminution dans une situation similaire (Kuo *et al.* 2010 ; Huxter *et al.* 2012 ; mais voir Abe

et Toyosawa 1999). Cette diminution semble assez précoce puisqu'elle est observée dans les études comparant des animaux jeunes et MA (Kuo *et al.* 2010 ; Huxter *et al.* 2012 ; mais voir Abe et Toyosawa 1999) mais pas dans celles comparant des animaux MA et âgés (Shen *et al.* 1997 ; Abe et Toyosawa 1999 ; Jacobson *et al.* 2013). De plus, en accord avec une étude précédente (Kuo *et al.* 2010), cette diminution de la puissance absolue de l'oscillation θ avec l'âge n'est pas associée à une diminution de sa puissance relative. Ainsi, d'après l'ensemble de nos données, l'influence du vieillissement sur la puissance absolue de l'oscillation θ est distincte lors du SP et de la veille active.

Des mécanismes distincts sont impliqués dans la genèse ou la modulation de cette oscillation en fonction des états de vigilance. Notamment, l'influence du système cholinergique septo-hippocampique semble particulièrement importante durant le SP (Lee *et al.* 1994) alors qu'elle est limitée lors de la veille (Vandecasteele *et al.* 2014). Compte tenu de cette influence différentielle et compte tenu de l'altération du système de neurotransmission cholinergique septo-hippocampique chez les animaux âgés (voir Introduction, partie III-1E; p.e. Harati *et al.* 2013 et nos propres résultats de l'étude 4), il est étonnant d'observer une diminution de la puissance absolue de cette oscillation durant la veille active et non durant le SP. Ainsi, certains mécanismes de genèse et / ou de modulation de l'oscillation θ autres que l'entrée cholinergique du complexe SM/BDBv sont certainement conservés chez les animaux âgés pour permettre le maintien de cette oscillation durant le SP, et l'altération d'autres mécanismes pourrait expliquer la diminution de la puissance de cette oscillation avec le vieillissement lors de la veille active.

Nos résultats montrent également que le vieillissement s'accompagne d'une diminution de la puissance absolue de l'oscillation γ_L mais n'affecte pas sa puissance relative, quel que soit l'état de vigilance des animaux. Par contre, alors que la puissance absolue de l'oscillation γ_R n'est pas modifiée, la puissance relative de cette oscillation est augmentée chez les animaux âgés durant la veille active dans un contexte familial. La seule étude qui, à notre connaissance, a évalué l'impact de l'âge sur les oscillations γ_L et γ_R n'a pas montré de différence de puissance absolue de ces oscillations entre des animaux MA et des animaux âgés, lorsqu'ils étaient placés dans un contexte familial (Jacobson *et al.* 2013). Cependant, il est possible que la diminution de la puissance absolue de l'oscillation γ_L soit un phénomène précoce, expliquant qu'elle soit observée dans notre étude et non dans celle de Jacobson *et al.* (2013).

La genèse de l'oscillation γ_L reposerait sur le réseau excitateur-inhibiteur au sein du champ CA3 (Hajos et Paulsen 2009) et serait transmise au champ CA1 par le biais d'une excitation rythmique des cellules de CA1 par les collatérales de Schaffer (Zemankovics *et al.* 2013). Or, bien que le nombre de synapses soit conservé au sein du champ CA1 chez l'animal âgé (Geinisman *et al.* 2004), une perte de fonction de certaines de ces synapses (voir Introduction, partie III-1E ; p.e. Barnes *et al.* 2000b) pourrait expliquer la diminution de la puissance absolue de cette oscillation chez les animaux âgés.

Enfin, nos résultats suggèrent que le vieillissement n'affecte pas la force de couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R (contrairement à Jacobson *et al.* 2013).

2. Effet de l'hébergement en EE

Notre étude est la première, à notre connaissance, à évaluer l'influence de l'hébergement en EE sur l'activité oscillatoire hippocampique chez des animaux en situation comportementale. Cette influence diffère en fonction de l'état de vigilance des animaux.

Durant le sommeil paradoxal, l'hébergement en EE n'a aucune influence sur l'activité oscillatoire hippocampique chez l'animal jeune adulte. Concernant la puissance de l'oscillation θ , l'absence de modification semble cohérente avec une étude récente ayant mis en évidence que l'hébergement en EE n'affecte pas cette puissance dans le champ CA1 hippocampique chez l'animal adulte anesthésié à l'uréthane (Shinohara *et al.* 2013), un état durant lequel, comme durant le SP, l'oscillation θ dépend largement de la transmission cholinergique (Vandecasteele *et al.* 2014). Ces mêmes auteurs ont, par contre, montré une augmentation de la puissance des oscillations γ_L et γ_R chez les animaux hébergés en EE (Shinohara *et al.* 2013). La divergence entre leurs résultats et les nôtres pourraient être liée à l'état des animaux (anesthésiés *versus* SP) ou au fait que leurs animaux contrôles sont hébergés en environnement appauvri. En effet, il est possible que la différence de puissance entre leurs deux groupes d'animaux ne soit pas liée à une augmentation de la puissance γ induite par l'enrichissement, mais plutôt à une diminution de cette puissance induite par l'isolement chez leurs animaux contrôles.

Lorsque les animaux sont en veille active dans un contexte familial, l'influence de l'hébergement en EE est similaire chez les animaux jeunes adultes et âgés. Les animaux hébergés en EE présentent une puissance absolue et relative de l'oscillation θ plus faible que celles des animaux hébergés en ES. Or, l'hébergement en EE chez l'animal jeune semble

induire une diminution du nombre d'interneurones à décharge rapide (« fast-spiking interneurons ») exprimant la PV (dans CA1 : Iuvone *et al.* 1996) ou une augmentation de l'innervation inhibitrice sur ces interneurones (dans CA3 : Donato *et al.* 2013). Ce type d'interneurones hippocampiques étant impliqué dans la modulation de la puissance de l'oscillation θ (Wulff *et al.* 2009), l'influence de l'enrichissement sur ces cellules pourrait expliquer au moins en partie la diminution de la puissance de l'oscillation θ observée chez les animaux hébergés en EE. Par ailleurs, alors que les puissances absolues des oscillations γ_L et γ_R ne sont pas affectées par l'enrichissement, leurs puissances relatives sont plus importantes que celles des animaux hébergés en ES. L'ensemble de ces modifications induisent un décalage du spectre de fréquence vers les bandes de fréquences plus rapides, pouvant suggérer un traitement de l'information plus local (von Stein et Sarnthein 2000). De manière intéressante, les oscillations γ constitueraient un mécanisme neuronal d'intégration et de ségrégation de l'activité en ensemble fonctionnels de cellules traitant conjointement des informations apparentées (Harris *et al.* 2003). La formation d'assemblées de cellules locales au sein du champ CA1 pourrait ainsi favoriser un traitement plus spécialisé et donc plus efficace des informations chez les animaux hébergés en EE. La force de couplage entre les oscillations θ et γ_L n'est, quant à elle, pas influencée par l'enrichissement des conditions d'hébergement (malgré une tendance vers une diminution). Par contre, la force de couplage entre les oscillations θ et γ_R est plus faible chez les animaux hébergés en EE que chez les animaux hébergés en ES. Comme pour la puissance de l'oscillation θ , l'influence de l'enrichissement des conditions d'hébergement sur les interneurones PV pourrait expliquer la diminution du couplage chez ces animaux, le rôle de ces cellules dans la genèse du couplage θ - γ ayant été récemment suggéré (Wulff *et al.* 2009 ; Zemankovics *et al.* 2013 ; Lasztocki et Klausberger 2014).

3. Effet de l'hébergement en EE chez les animaux âgés

Notre étude a mis en évidence que toutes les modifications de l'activité oscillatoire observées chez les animaux âgés hébergés en ES apparaissent également avec l'âge chez les animaux hébergés toute leur vie en EE. Ainsi, l'enrichissement des conditions d'hébergement ne prévient pas les modifications de cette activité liées à l'âge.

Par contre, durant le sommeil paradoxal, l'hébergement en EE induit, chez les animaux âgés, un décalage du spectre de fréquence vers les fréquences rapides (diminution de la puissance relative de l'oscillation θ et augmentation de la puissance relative des oscillations γ). Ainsi,

chez ces animaux âgés, le décalage du spectre de fréquence est présent quel que soit leur état de vigilance. La diminution de la puissance absolue de l'oscillation θ est étonnante, étant donné que, contrairement aux animaux âgés hébergés en ES, ceux ayant été exposés toute leur vie à un EE présentent une préservation de l'innervation cholinergique en provenance du complexe SM/BDBv (voir Introduction, partie IV-2B ; p.e. Harati *et al.* 2013 et nos propres résultats de l'étude 4).

b) Modulation de l'activité oscillatoire dans la tâche de détection du changement spatial chez les animaux jeunes adultes hébergés en ES

1. Familiarisation lors de l'exposition répétée à un contexte similaire

D'après nos résultats, la fréquence de l'oscillation θ ainsi que les puissances absolues des oscillations θ , γ_L et γ_R restent stables lors de la familiarisation des animaux à une enceinte vide. Par contre, la familiarisation à une configuration d'objets dans cette même enceinte s'accompagne d'une diminution de la fréquence de l'oscillation θ et de la puissance des oscillations θ et γ_R ainsi que d'une augmentation de la puissance de l'oscillation γ_L . Cette différence de modulation de l'activité oscillatoire pourrait être liée au délai différent entre les séances de familiarisation (24 h) et entre celles du test (3 min) ou encore à la complexité du contexte environnemental auquel sont exposés les animaux. En effet, les puissances des oscillations ainsi que la fréquence du θ semblent spécifiquement modulées lorsque la familiarisation est évaluée sur des séances séparées d'un délai court dans un contexte environnemental complexe (enceinte avec objets) et non lorsque la familiarisation est évaluée sur des séances séparées d'un délai long dans un contexte environnemental plus simple (enceinte vide). Lors de la familiarisation à une enceinte vide, nous n'avons pas observé de modification de la fréquence de l'oscillation θ , contrairement à Jeewajee *et al.* (2008), dont les résultats ont cependant été remis en cause (Sambeth *et al.* 2009). Par ailleurs, l'absence de modulation de la puissance des oscillations θ et γ lors de la familiarisation à l'enceinte a également été décrite par Jacobson *et al.* (2013), lorsque leurs animaux étaient placés pour la deuxième fois dans une enceinte vide, après un délai de 15 minutes. Ces résultats suggèrent que la complexité de l'environnement dans lequel sont placés les animaux, et non le délai entre les séances de familiarisation, influencerait la modulation des puissances des oscillations.

La force de couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R est, quant à elle, modulée à la fois lors de la familiarisation à l'enceinte (augmentation du couplage au γ_L et au γ_R) et lors de la familiarisation aux objets (augmentation du couplage au γ_L). Alors que Jacobson *et al.* (2013) n'ont pas observé de modification du couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R lorsqu'ils replacent pour la deuxième fois les animaux dans une enceinte vide, plusieurs autres études ont montré une augmentation de ce couplage, en absence de modification des puissances de ces oscillations, avec l'amélioration des performances mnésiques des animaux lorsqu'ils sont placés de manière répétée dans une situation comportementale identique (Tort *et al.* 2009 ; Igarashi *et al.* 2014 ; Nishida *et al.* 2014). Nos résultats suggèrent que cette augmentation de la force de couplage pourrait être liée en partie à l'exposition répétée des animaux à une situation environnementale et comportementale identique.

2. Introduction d'une nouveauté spatiale

Suite à l'ajout d'objets dans l'enceinte ou suite au changement de la configuration spatiale de ces objets, les animaux présentent une augmentation de la puissance et de la fréquence de l'oscillation θ . L'augmentation de la puissance de l'oscillation θ est en accord avec plusieurs études ayant mis en évidence une telle augmentation lorsque les animaux sont placés dans un contexte environnemental nouveau (Kocsis *et al.* 2007 ; Jacobson *et al.* 2013 ; Penley *et al.* 2013). La modulation des puissances des oscillations γ et de leur couplage à l'oscillation θ semble quant à elle dépendre de la complexité de la nouveauté environnementale. En effet, une nouveauté importante (ajout d'objets) s'accompagne de modifications de ces variables alors que la nouveauté plus subtile induite par le changement de configuration des objets (modification environnementale qui n'induit pas de modification de l'activité des cellules de lieu : Larkin *et al.* 2014) n'induit pas de modification des puissances et du couplage. La diminution de la puissance de l'oscillation γ_L observée lors de l'ajout des objets diverge des études précédentes, qui cependant donnent des résultats très variés (tendance vers une augmentation chez des animaux MA : Jacobson *et al.* 2013 ; augmentation chez des animaux adultes : Kemere *et al.* 2013 ; pas de modification chez des animaux adultes : Penley *et al.* 2013). Au contraire, toutes ces études ont montré, comme la nôtre, une augmentation de la puissance de l'oscillation γ_R lorsque les animaux sont placés dans un contexte nouveau. Enfin, l'ajout d'objets dans l'enceinte induit une diminution du couplage entre l'oscillation θ et les oscillations γ_L et γ_R (données en partie similaires lorsque les animaux sont placés dans un nouvel environnement : Jacobson *et al.* 2013). Ainsi, l'augmentation de la force de

couplage observée dans les tâches de mémoire (Tort *et al.* 2009 ; Igarashi *et al.* 2014 ; Nishida *et al.* 2014) pourrait être liée en partie à l'exposition répétée des animaux à une situation identique et une diminution de ce couplage pourrait être un marqueur de nouveauté spatiale.

Nos résultats montrent aussi que, suite à l'ajout des objets, l'activité oscillatoire enregistrée à proximité des objets est identique à celle enregistrée dans le reste de l'enceinte. La modulation de cette activité oscillatoire ne semble donc pas spécifique de l'exploration des objets. De la même manière, l'activité oscillatoire n'est pas spécifiquement modifiée à proximité des objets déplacés lors de la séance suivant le changement de configuration spatiale des objets. Ces résultats sont en accord avec ceux de Larkin *et al.* (2014), qui ont montré que le signal de nouveauté du champ CA1 hippocampique (dans leur cas, une augmentation de la fréquence de décharge des cellules de lieu) suite au changement de l'environnement proximal des animaux est généralisé dans l'enceinte et n'est pas spécifique de la localisation précise de ce changement. Ainsi, ces modifications de l'activité électrophysiologiques pourraient constituer des signaux indiquant une modification de l'environnement proximal des animaux, mais ne sont pas associés à l'expression comportementale de la ré-exploration spécifique de l'objet déplacé (Larkin *et al.* 2014).

3. Modifications de l'activité oscillatoire et traitement de l'information spatiale

Les modifications de l'activité oscillatoire observées lors d'une nouveauté spatiale de l'environnement proximal des animaux sont en miroir de celles observées lors de la familiarisation des animaux à cet environnement proximal. Elles pourraient ainsi être liées au traitement cérébral des informations spatiales. En particulier, la diminution de la puissance de l'oscillation γ_L et l'augmentation de celle de l'oscillation γ_R suite à l'ajout d'objets, ainsi que la modulation inverse lors de la familiarisation des animaux à cette configuration d'objets, sont cohérentes avec les rôles respectifs de ces oscillations dans le rappel et l'encodage de l'information (Colgin *et al.* 2009). L'ajout d'objet lors de la séance 4 constitue potentiellement une situation dans laquelle l'encodage des informations nouvelles serait majoritaire, favorisé par la communication entre le CE et CA1 à la fréquence γ_R . Alternativement, la séance 6, dernière séance de familiarisation aux objets, constitue potentiellement une situation dans laquelle le rappel des informations des séances précédentes serait majoritaire, favorisé par la communication entre les champs CA3 et CA1 à la fréquence γ_L .

c) Influence de l'âge et de l'hébergement en EE sur la modulation de l'activité oscillatoire dans la tâche de détection du changement spatial

Nos résultats révèlent peu de différences liées à l'âge dans la modulation de l'activité électrophysiologique durant la tâche de détection du changement spatial. En effet, seule la puissance de l'oscillation γ_L est spécifiquement modulée chez les animaux jeunes adultes lors de l'ajout des objets et de la familiarisation des animaux à ces objets. Comme discuté précédemment, la perte de fonction avec l'âge de certaines synapses des collatérales de Schaffer dans la *stratum radiatum* de CA1 (p.e. Barnes *et al.* 2000b) pourrait expliquer non seulement la diminution de la puissance absolue de cette oscillation chez les animaux âgés, mais également l'altération de sa modulation liée au comportement des animaux. Etant donnés les rôles respectifs des oscillations γ_R et γ_L respectivement dans les processus d'encodage et de rappel de l'information, il est possible que l'absence de modulation de l'oscillation γ_L chez les animaux âgés et / ou l'altération de la balance entre ces deux oscillations puisse altérer les capacités d'encodage et de rappel chez ces animaux. Ainsi, la formation d'un souvenir moins précis de l'association objet-position pourrait expliquer la perte de spécificité de la réaction des animaux âgés hébergés en ES face au changement de la configuration des objets. Cette absence de modulation de l'oscillation γ_L apparaissant avec l'âge, quelle que soit la condition d'hébergement des animaux, la préservation de la spécificité de détection chez les animaux âgés hébergés en EE ne peut pas reposer sur un maintien de la modulation de l'oscillation γ_L . Cette préservation pourrait par contre reposer sur un traitement de l'information spatiale ayant lieu au sein de réseaux d'assemblées de cellules plus spécialisés dans le champ CA1, favorisé par le décalage du spectre de fréquence observé chez ces animaux.

L'hébergement en EE ne modifie que peu la modulation de l'activité oscillatoire hippocampique durant cette tâche. Toutefois, contrairement aux animaux hébergés en ES, dont le couplage entre les oscillations θ et γ_L augmente lors de la familiarisation à l'enceinte et aux objets, les animaux hébergés en EE ne présentent pas une telle modulation du couplage. Cette absence de modulation, associée à une familiarisation plus rapide des animaux hébergés en EE à leur environnement proximal, laisse envisager que l'exposition à un EE modifie la manière dont les animaux traitent les informations spatiales. Ce traitement différentiel et apparemment plus efficace pourrait être lié aux changements fréquents de leur environnement proximal et aux opportunités d'exploration de nouveaux objets dans leur cage d'élevage tout au long de la période d'enrichissement.

D'après cette étude, l'hébergement en EE durant toute la vie adulte permet un maintien de la mémoire spatiale chez les animaux âgés, qui se manifeste par une préservation des performances de navigation spatiale en piscine de Morris, par une familiarisation plus rapide à un contexte nouveau et aux modifications apportées à ce contexte, ainsi que par une préservation de la spécificité de détection de changements de la configuration spatiale de cet environnement proximal. Cette préservation pourrait reposer en partie sur une modification de l'activité oscillatoire au sein du champ CA1 hippocampique, qui consiste en un décalage du spectre de fréquence des oscillations lentes (θ) vers les oscillations plus rapides (γ), favorisant ainsi un traitement des informations plus local et potentiellement plus spécialisé. L'exposition durant toute la vie adulte à un environnement riche en stimulations cognitives, physiques et sociales pourrait ainsi promouvoir un traitement des informations spatiales plus efficace permettant de prévenir les déficits de mémoire spatiale observés chez les animaux âgés hébergés dans des conditions standard de laboratoire.

ETUDE 4

Introduction

Des altérations différentielles de certains systèmes de neurotransmission pourraient expliquer la variabilité interindividuelle des performances cognitives chez les sujets âgés. En particulier, des modifications des systèmes de neurotransmission cholinergique, glutamatergique et GABAergique ont pu être mises en évidence chez le rongeur âgé dans différentes aires cérébrales (cortex préfrontal, FH et striatum dorsal ; voir introduction, partie III-1E ; pour revues, voir Segovia *et al.* 2001 ; McQuail *et al.* 2015) et ont parfois pu être associées aux déficits de mémoire spatiale observés chez une partie des animaux âgés (Fischer *et al.* 1992 ; Abdulla *et al.* 1995 ; Stemmelin *et al.* 2000 ; Menard *et al.* 2015). Les effets bénéfiques d'un enrichissement pendant toute la vie sur les fonctions cognitives pourraient, de la même manière, être liés à un maintien de l'intégrité structurelle et / ou fonctionnelle de ces systèmes de neurotransmission, comme déjà suggéré pour le système cholinergique de la base du cerveau antérieur par des études précédentes du laboratoire (Harati *et al.* 2011 ; Harati *et al.* 2013). L'étude de l'influence de l'enrichissement sur les modifications liées à l'âge de ces différents systèmes de neurotransmission au sein de la FH dorsale semble être particulièrement pertinente, au vu du rôle critique de cette structure dans les processus mnésiques (p.e. Moser *et al.* 1993 ; Nadel et Moscovitch 1997).

L'un des moyens d'évaluer les modifications de ces systèmes de neurotransmission consiste à mesurer les quantités de transporteurs vésiculaires. Ces derniers sont des protéines enchâssées dans les membranes plasmiques des vésicules de sécrétion présentes au niveau des terminaisons synaptiques, permettant l'entrée dans ces vésicules des neurotransmetteurs présents au niveau cytoplasmique. Les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires peuvent refléter la quantité de neurotransmetteur chargée au niveau des vésicules d'exocytose et ainsi constituer une mesure de la capacité de libération du neurotransmetteur (Wilson *et al.* 2005b). La technique d'immunoautoradiographie (IAR), une approche particulièrement adaptée pour mesurer la densité de différents anticorps dans de nombreuses régions cérébrales, a été utilisée pour évaluer l'effet de l'âge et des conditions d'hébergement sur différents systèmes de neurotransmission. Nous avons ainsi mesuré la quantité de marquage des transporteurs vésiculaires du glutamate (VGLUT1-3), des acides aminés inhibiteurs (VIAAT) et de l'ACh (VACHT) au sein de différentes régions de la FH, que sont les champs CA1 et CA3 ainsi que le GD. De plus, compte tenu de la réduction du nombre de neurones cholinergiques observée chez les animaux âgés dans différentes régions cérébrales (le

SM/BDBv, mais également le NBM et le striatum : p.e. Fischer *et al.* 1992 ; Stemmelin *et al.* 2000 ; Baskerville *et al.* 2006 ; Banuelos *et al.* 2013), nous avons également mesuré la densité de VACHTs au sein du striatum dorsomédian et de différentes aires corticales.

Matériels et méthodes

Matériel

Cette étude est effectuée sur les cerveaux d'animaux jeunes adultes hébergés en ES et d'animaux âgés hébergés toute leur vie en ES ou en EE (une partie des animaux des études 2 et 3). Suite à la mise à mort des animaux et à l'extraction rapide du cerveau, l'hémisphère droit est immédiatement congelé dans l'isopentane pendant 45 s à -30 °C. Des coupes coronales de 14 µm d'épaisseur sont ensuite réalisées au cryostat et directement placées sur des lames de verre. Ces coupes sont conservés à -80°C jusqu'à leur traitement.

Immunoautoradiographie (IAR)

L'immunoautoradiographie a été réalisée au Laboratoire de Physiopathologie des maladies du Système Nerveux Central (Inserm U1130, UMR 8246 CNRS / Université Pierre et Marie Curie, Paris) au cours de deux périodes d'expérimentation (septembre-octobre 2013 ; décembre 2014-avril 2015).

Principe

L'IAR repose sur la propriété de reconnaissance de la protéine d'intérêt par un anticorps spécifique (anticorps primaire) et sur la détection autoradiographique du complexe antigène-anticorps grâce à une protéine radiomarquée ayant une affinité pour l'anticorps primaire utilisé (anticorps secondaire couplé à l'isotope radioactif).

Anticorps

Différents anticorps primaires (obtenus chez le lapin) sont utilisés :

- un anticorps dirigé contre les transporteurs vésiculaires de l'ACh (VACHT : Synaptic System 139103 ; dilution 1/10 000),
- 3 anticorps dirigés contre les 3 transporteurs vésiculaires du glutamate (VGLUT1 : fabrication « maison » au Laboratoire des Maladies du Système Nerveux Central de Paris ; dilution 1/50 000 / VGLUT2 : fabrication « maison » ; dilution 1/20 000 / VGLUT3 : Synaptic System 135203 ; dilution 1/10 000),
- un anticorps dirigé contre les transporteurs vésiculaires des acides aminés inhibiteurs (VIAAT : fabrication « maison » ; dilution 1/30 000).

Les anticorps secondaires (anti-lapin) sont couplés à l'iode 125 (^{125}I ; Amersham Biosciences). Ce radio-isotope, dont la demi-vie est d'environ 60 jours, est un émetteur de rayons γ .

Protocole d'IAR

Le protocole utilisé est celui décrit par Herzog *et al.* (2001). La première étape consiste en la purification des anticorps secondaires radioactifs sur colonne d'exclusion, de manière à éliminer les anticorps non couplés à l' ^{125}I ainsi que l' ^{125}I non couplé aux anticorps. Suite à cette purification, le traitement des coupes est réalisé. Après décongélation et séchage des lames, les manipulations se font à température ambiante. Les lames sont d'abord placées dans un bain de paraformaldéhyde à 4 % pendant 15 min. Après 3 rinçages de 10 min dans du PBS, les lames sont placées dans une solution tampon contenant de l'Albumine sérique bovine (BSA, ou bovine serum albumine) ainsi que du sérum de chèvre permettant le blocage des sites aspécifiques, et ce pendant 1 h. Les lames sont ensuite placées dans le bain d'anticorps primaires et y sont laissées durant la nuit à 4 °C. Suite à cette incubation, le reste des manipulations se fait à nouveau à température ambiante. Après 3 rinçages de 10 min dans le PBS, les lames sont incubées dans la solution d'anticorps secondaires radioactifs pendant 2 h. Pour finir, elles sont à nouveau rincées dans 3 bains successifs de PBS, puis rincées à l'eau ultra pure (miliQ) et mises à séchées. Les lames sont ensuite appliquées contre des films sensibles à l' ^{125}I (Kodack Biomax MR) avec une gamme de standards radioactifs. La durée de l'exposition dépend de la densité de la protéine d'intérêt ainsi que de l'« âge » des anticorps secondaires. Ici, les films permettant le marquage des VACHTs ont été exposés pendant 45 h,

celui des VGLUT1s et VGLUT2s pendant 23 h, des VGLUT3s pendant 1 semaine et des VIAATs pendant 23h. Suite à cette exposition, les films sont développés en chambre noire. A cette fin, ils sont placés dans une solution de révélateur (5 min), rincés dans un bain d'eau (5 min), puis placés dans une solution de fixateur (5 min) avant d'être une dernière fois rincés à l'eau.

Quantification

L'analyse densitométrique a été réalisée à l'aide du logiciel d'analyse d'images MCID. La gamme standard permet de convertir la densité optique en une quantité de marqueur (nano-curie par mg de tissu : nCi / mg). Pour chaque région d'intérêt (*Fig 42*), la densité optique est mesurée et convertie en quantité de marqueur. Le bruit de fond, mesuré au niveau du corps calleux, est soustrait au résultat obtenu dans chacune de ces régions.

Problèmes techniques

Une première expérience préliminaire a été effectuée sur les cerveaux d'animaux jeunes adultes hébergés en ES (n = 5) et d'animaux âgés hébergés toute leur vie en ES (n = 4) ou EE (n = 5). Quelques problèmes techniques ont entraîné la perte de certaines coupes pour la quantification (p.e., mauvaise adhésion du film sur certaines lames placées aux extrémités).

Suite à ces premiers résultats prometteurs, nous avons décidé de réaliser de nouvelles expériences avec un nombre d'animaux plus conséquent, et en incluant des animaux jeunes adultes hébergés en EE. Cependant, de nombreux problèmes liés à la qualité des anticorps secondaires ont retardé les expériences de plusieurs mois. Alors qu'ils semblaient résolus (premier marquage radioactif de bonne qualité), il est apparu que, suite à la première utilisation de l'anticorps secondaire, les incubations suivantes n'ont pas permis d'obtenir de marquage satisfaisant et l'ensemble du matériel a donc été perdu. Les résultats présentés ci-dessous sont donc ceux obtenus à l'issue de la première expérience et constituent donc des résultats préliminaires, avec un nombre d'animaux par groupe faible et parfois variable.

Régions d'intérêt

Chaque marquage est effectué sur 3 lames obtenues sur 3 niveaux d'antéro-postériorité (*Fig 41*), sur lesquelles 6 coupes consécutives sont déposées. Pour chaque région d'intérêt, l'analyse densitométrique est effectuée sur ces 6 coupes et la moyenne de ces mesures est utilisée pour les analyses statistiques.

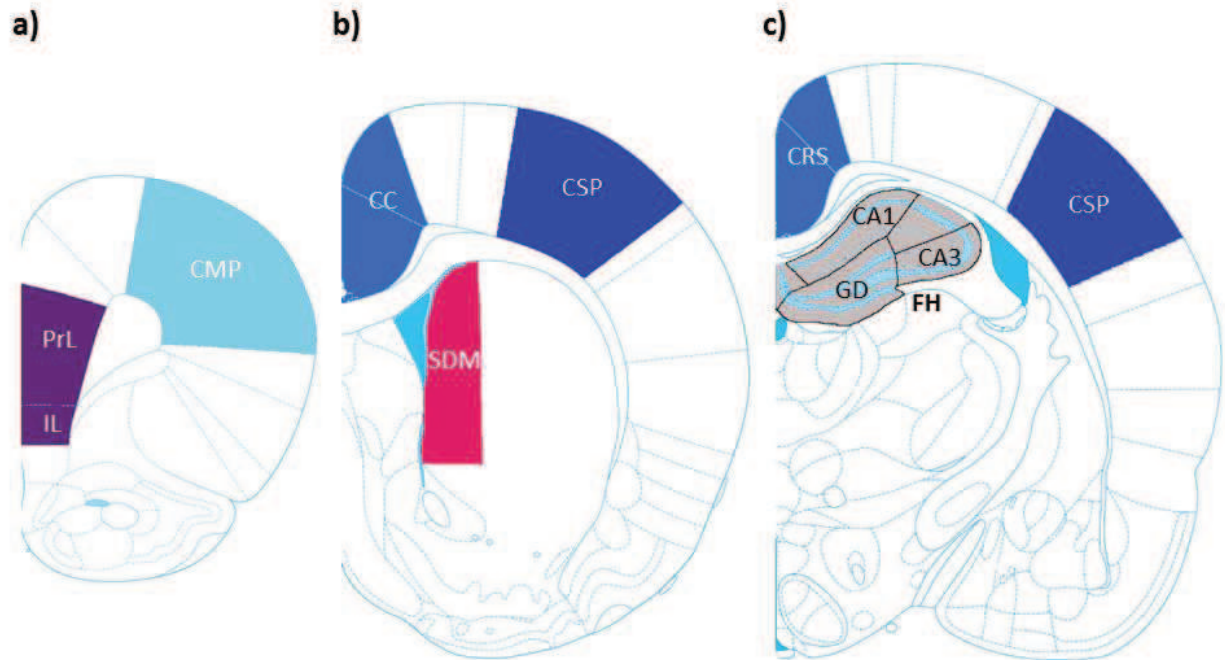


Figure 41. : Localisation des régions d'intérêt : **a)** Lame 1 (à partir de 3,72 mm antérieur au bregma) : cortex préfrontal médian (violet), constitué des cortex infralimbique (IL) et prélimbique (PrL), cortex moteur primaire (CMP ; bleu clair). **b)** Lame 2 (à partir de 0,84 mm antérieur au bregma) : striatum dorsomédian (SDM ; rose), cortex cingulaire (CC ; bleu moyen), cortex somatosensoriel primaire dans sa partie antérieure (CSP ; bleu foncé). **c)** Lame 3 (à partir de 2,76 mm postérieur au bregma) : FH dorsale (gris), composée des champs CA1 et CA3 hippocampiques ainsi que du GD, cortex rétrosplénial (CRS ; bleu moyen), cortex somatosensoriel primaire dans sa partie postérieure (CSP ; bleu foncé).

Analyses statistiques

Les données sont analysées par des analyses de la variance (ANOVAs) à un facteur (« groupe »). Les ANOVAs sont suivies d'un test post-hoc de Newman-Keuls (NK) quand nécessaire. Le seuil de significativité considéré est de 0,05 pour l'ensemble des analyses.

Résultats

A) Formation hippocampique

a) *Innervation glutamatergique*

L'innervation excitatrice glutamatergique, principale innervation hippocampique, est évaluée grâce au marquage des VGLUT1s et VGLUT2s au sein des champs CA1 et CA3 et du GD (Fig 42).

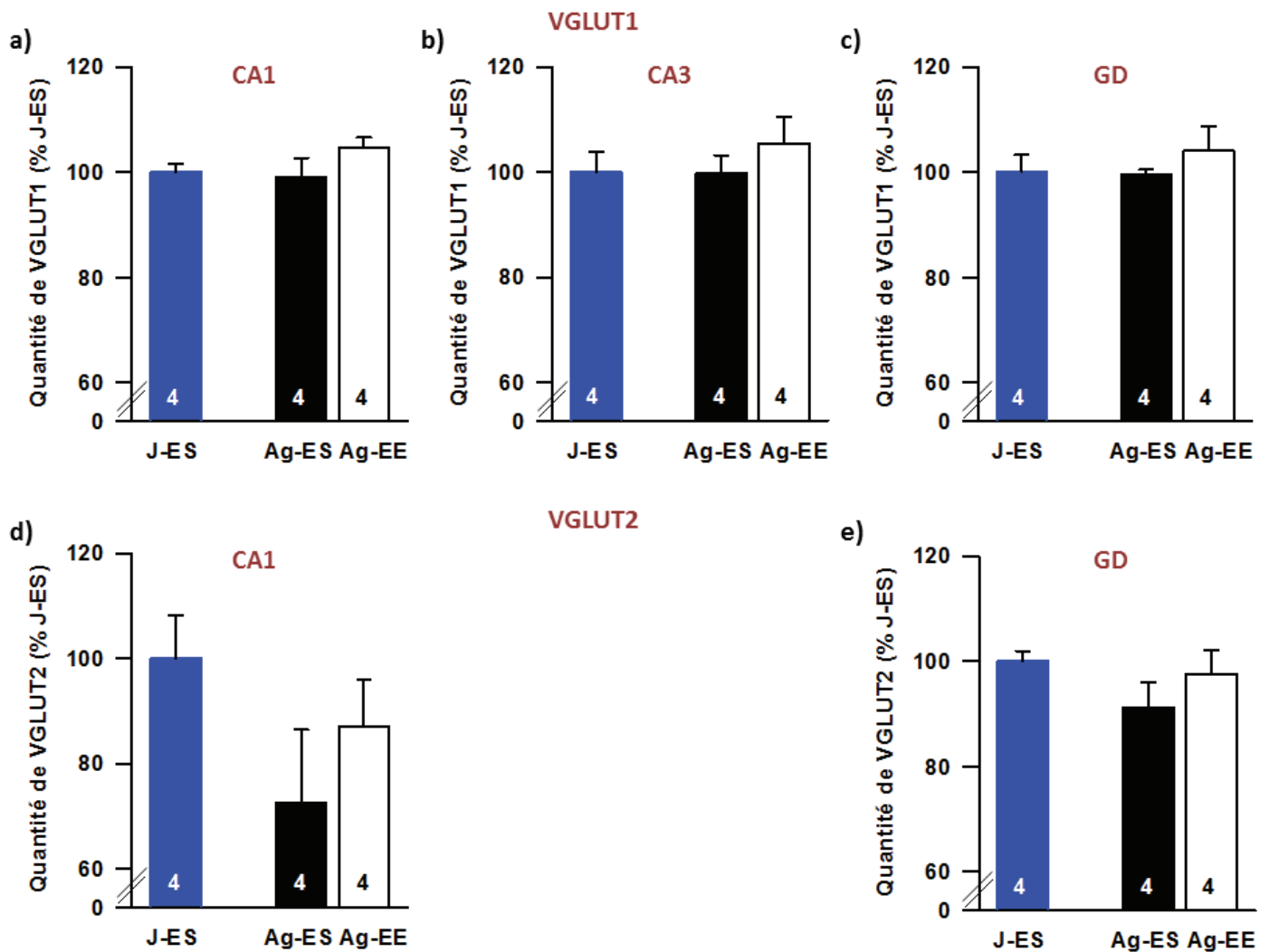


Figure 42. : Densité du marquage VGLUT1 (a-c) et VGLUT2 (d-e) dans la formation hippocampique dorsale, en pourcentage de la densité observée chez les animaux J-ES. Marquage au sein du champ CA1 hippocampique (a et d), du champ CA3 hippocampique (b), et au sein du GD (c et e). L'absence de données pour VGLUT2 dans le champ CA3 est liée à un marquage trop faible ne permettant pas la quantification. Le nombre d'animaux dans chacun des groupes est indiqué dans l'histogramme correspondant.

Dans ces trois régions, la densité du marquage VGLUT1 et VGLUT2 est similaire chez les animaux des trois groupes (aucun effet significatif du facteur « groupe »). Dans le champ CA1 hippocampique, bien que la densité de VGLUT2 semble plus faible chez les animaux âgés (notamment ceux hébergés en ES) que chez les animaux jeunes adultes, la variabilité importante des résultats ne permet pas de conclure quant à un effet du vieillissement sur ce marqueur (aucun effet significatif du facteur « groupe »).

b) Innervation GABAergique

L'innervation inhibitrice, essentiellement GABAergique, est évaluée grâce au marquage des VIAATs. Ce marquage reflète en partie les entrées inhibitrices en provenance du complexe SM/BDBV, mais représente en grande majorité l'innervation en provenance des interneurons hippocampiques. Parmi eux, les interneurons exprimant la cholécystokinine (CCK) ont pour particularité d'exprimer à la fois des VIAATs et des VGLUT3s. Ces deux marqueurs ont été quantifiés au sein des champs CA1 et CA3 et du GD (*Fig 43 et 44*).

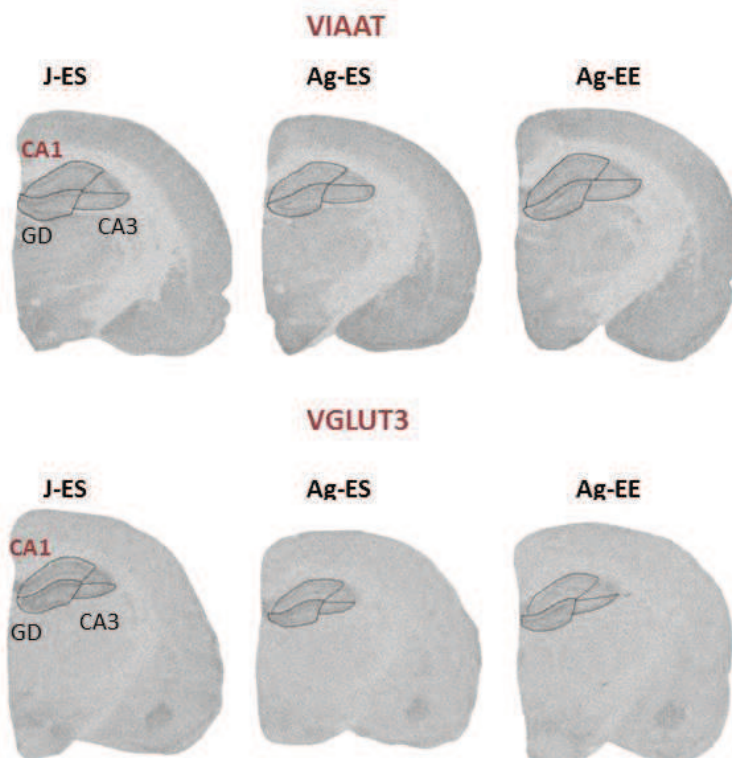


Figure 43. : Photographies des films représentant des coupes après marquage VIAAT (en haut) et VGLUT3 (en bas) dans le champ CA1 hippocampique (exemples pour un animal de chaque groupe). Ces illustrations constituent des images brutes et ne représentent pas le signal rapporté au bruit de fond.

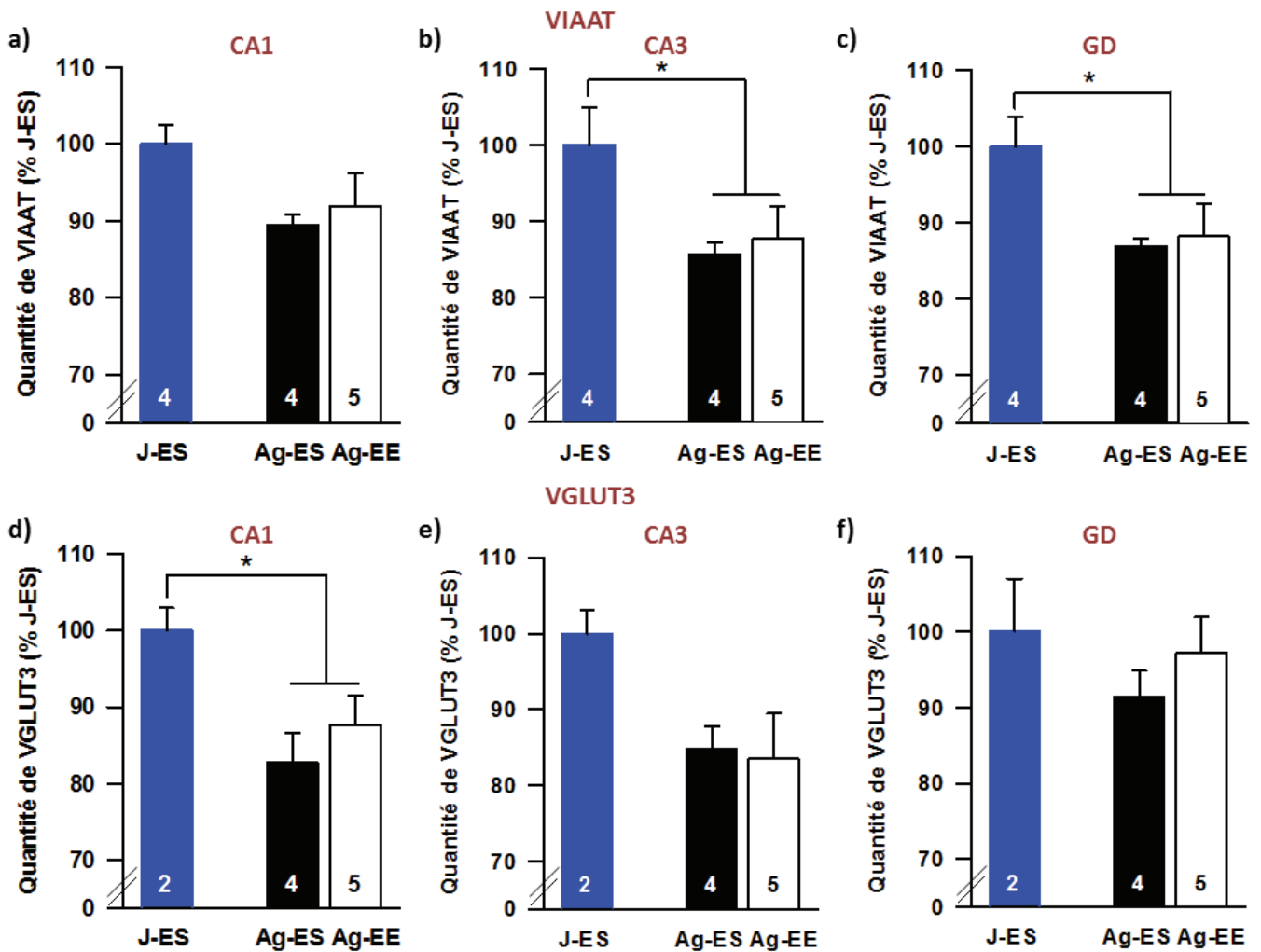


Figure 44. : Densité du marquage VIAAT (a-c) et VGLUT3 (d-f) dans la formation hippocampique dorsale, en pourcentage de la densité observée chez les animaux J-ES. Marquage au sein du champ CA1 hippocampique (a et d), du champ CA3 hippocampique (b et e), et au sein du GD (c et f). * $p \leq 0,05$.

Dans l'ensemble de la FH, la densité des VIAATs semble être légèrement plus faible chez les animaux âgés, quelle que soit leur condition d'hébergement, que chez les animaux jeunes adultes (Fig 44a-c). Cette différence n'est pas significative dans le champ CA1 ($F_{(2,10)} = 2,98$; $p = 0,10$) mais elle l'est dans le champ CA3 ($F_{(2,10)} = 4,23$; $p \leq 0,05$) et le GD ($F_{(2,10)} = 4,60$; $p \leq 0,05$). Pour ces deux régions, l'analyse post-hoc confirme une différence significative entre les animaux J-ES et les deux groupes d'animaux âgés (NK, $p \leq 0,05$ dans tous les cas). De manière similaire, la densité du marquage VGLUT3 semble légèrement plus faible chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes adultes, essentiellement dans les champs CA1 et CA3 (Fig 44d-f). Les analyses révèlent une différence significative dans CA1 ($F_{(2,8)} = 4,39$; $p \leq 0,05$; NK, $p \leq 0,05$ entre les J-ES et les deux groupes d'animaux âgés) mais pas dans CA3 ($F_{(2,8)} = 2,81$; $p = 0,12$). L'absence d'effet significatif dans cette région

pourrait être liée au faible nombre d’animaux dans le groupe J-ES car l’analyse post-hoc révèle que la différence entre les J-ES et les deux groupes d’animaux âgés est proche de la significativité (J-ES vs Ag-ES : NK, $p = 0,058$; J-ES vs Ag-EE : NK, $p = 0,098$).

c) Innervation cholinergique

L’innervation cholinergique est quant à elle évaluée grâce au marquage des VACHTs au sein des champs CA1 et CA3 et du GD (Fig 45).

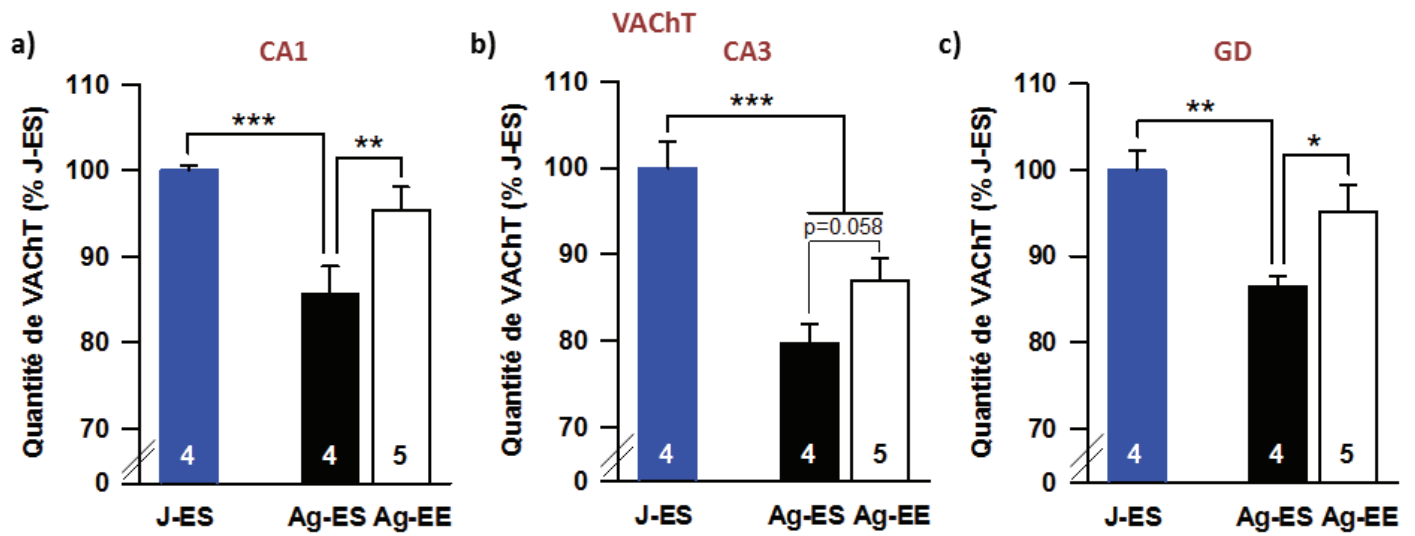


Figure 45. : Densité du marquage VACHT dans la formation hippocampique dorsale, en pourcentage de la densité observée chez les animaux J-ES. Marquage au sein du champ CA1 hippocampique (a), du champ CA3 hippocampique (b), et au sein du GD (c). * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,005$.

Dans l’ensemble de la FH, alors qu’une diminution du marquage VACHT est observée chez les animaux Ag-ES, les animaux Ag-EE présentent une préservation (au moins partielle) de ce marquage. En effet, pour chaque région, l’ANOVA révèle un effet significatif du facteur « groupe » (CA1 : $F_{(2,10)} = 9,56$; $p \leq 0,005$; CA3 : $F_{(2,10)} = 17,15$; $p \leq 0,005$; GD : $F_{(2,10)} = 7,58$; $p \leq 0,01$). Les analyses post-hoc confirment une différence significative entre les Ag-ES et les deux autres groupes dans CA1 et le GD (NK, $p \leq 0,05$ au moins), alors que les animaux Ag-EE ne diffèrent pas des animaux J-ES. Dans CA3, l’analyse post-hoc indique une différence significative entre les animaux jeunes adultes et les deux groupes d’animaux âgés (NK, $p \leq 0,005$ dans les deux cas) et révèle une différence quasi-significative entre les deux groupes d’animaux âgés (NK, $p = 0.058$).

L'ensemble des résultats obtenus dans la formation hippocampique dorsale sont résumés dans le tableau ci-dessous (*Tableau 9*).

Marqueur Région	VGLUT1	VGLUT2	VGLUT3	VIAAT	VACHT
CA1	–	(↓) Ag-ES	↓ Ag	(↓) Ag	↓ Ag-ES
CA3	–		(↓) Ag	↓ Ag	↓ Ag
GD	–	–	–	↓ Ag	↓ Ag-ES

Tableau 9. : Impact de l'âge sur les densités de transporteurs vésiculaire au sein de la FH. ↓ : diminution, (↓) : diminution non significative, – : pas de modification. Ag : la modification concerne les animaux âgés quelle que soit leur condition d'hébergement ; Ag-ES : la modification ne concerne que les animaux âgés hébergés en ES.

B) Striatum dorsomédian et cortex

Compte tenu des modifications du système de neurotransmission cholinergique avec l'âge, nous avons, en plus de la FH, étudié l'innervation cholinergique d'autres structures impliquées dans les fonctions cognitives sensibles aux effets du vieillissement, que sont le striatum dorsomédian et certaines régions corticales (cortex préfrontal médian, cingulaire, rétrosplénial), ainsi que d'aires corticales particulièrement sensibles aux stimulations environnementales (cortex somatosensoriel et moteur).

a) Striatum dorsomédian

Au sein du striatum dorsomédian, l'innervation cholinergique provient en partie des afférences extrinsèques, mais est constituée en grande majorité des interneurons locaux. Ces interneurons ayant pour particularité d'exprimer à la fois des VACHTs et des VGLUT3s, ces deux marqueurs ont été quantifiés au sein de cette structure (*Fig 46*).

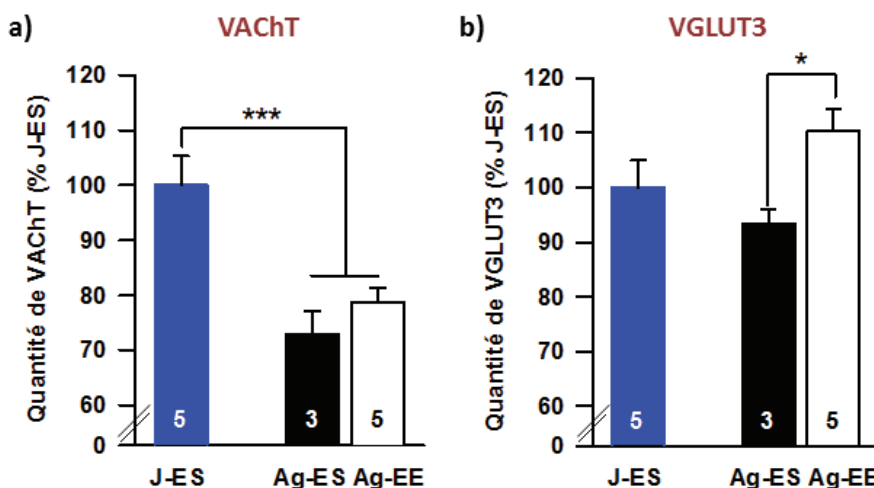


Figure 46. : Densité du marquage VACHT (a) et VGLUT3 (b) dans le striatum dorsomédian, en pourcentage de la densité observée chez les animaux J-ES. * p ≤ 0,05, *** p ≤ 0,005.

Dans cette structure, la quantité de VACHT est plus faible chez les deux groupes d'animaux âgés que chez les animaux jeunes adultes (effet « groupe » : $F_{(2,10)} = 12,12$; $p \leq 0,005$; NK, $p \leq 0,005$ entre les J-ES et les deux groupes d'animaux âgés). La quantité de VGLUT3 est, quant à elle, plus importante chez les animaux Ag-EE que chez les animaux Ag-ES (effet « groupe » : $F_{(2,11)} = 4,60$; $p \leq 0,05$; NK, $p \leq 0,05$ entre les Ag-ES et les Ag-EE).

b) Régions corticales

Alors qu'une diminution du marquage VACHT est observée chez les animaux Ag-ES dans les cortex préfrontal médian, cingulaire et rétrosplénial (*Fig 47a-c*), ces densités semblent préservées des effets du vieillissement chez les animaux hébergés en EE dans les cortex préfrontal médian et rétrosplénial, mais pas dans le cortex cingulaire. En effet, les ANOVAs révèlent un effet significatif ou presque significatif du facteur « groupe » pour chacune de ces aires corticales (CPFm : $F_{(2,9)} = 3,75$; $p = 0,065$; CC : $F_{(2,9)} = 7,79$; $p \leq 0,01$; CRS : $F_{(2,9)} = 6,88$; $p \leq 0,05$). Dans les cortex préfrontal médian et rétrosplénial, les analyses post-hoc confirment une différence significative entre les Ag-ES et les animaux jeunes adultes (NK, $p \leq 0,05$ au moins) alors que les Ag-EE ne diffèrent pas des J-ES (CPFm : NK, $p = 0,87$; CRS : NK, $p = 0,12$). De plus, dans le cortex préfrontal médian, le post-hoc indique une différence presque significative entre les Ag-ES et les Ag-EE (NK, $p = 0,066$). Par contre, dans le cortex cingulaire, la densité de marquage des deux groupes d'animaux âgés diffère de celle des animaux jeunes adultes (NK, $p \leq 0,05$ pour chaque comparaison). Bien qu'une diminution du marquage VACHT semble également être observée chez les animaux âgés dans les cortex moteur primaire et somatosensoriel, quelle que soit leur condition d'hébergement (*Fig 47d-f*), les analyses ne révèlent aucune différence significative.

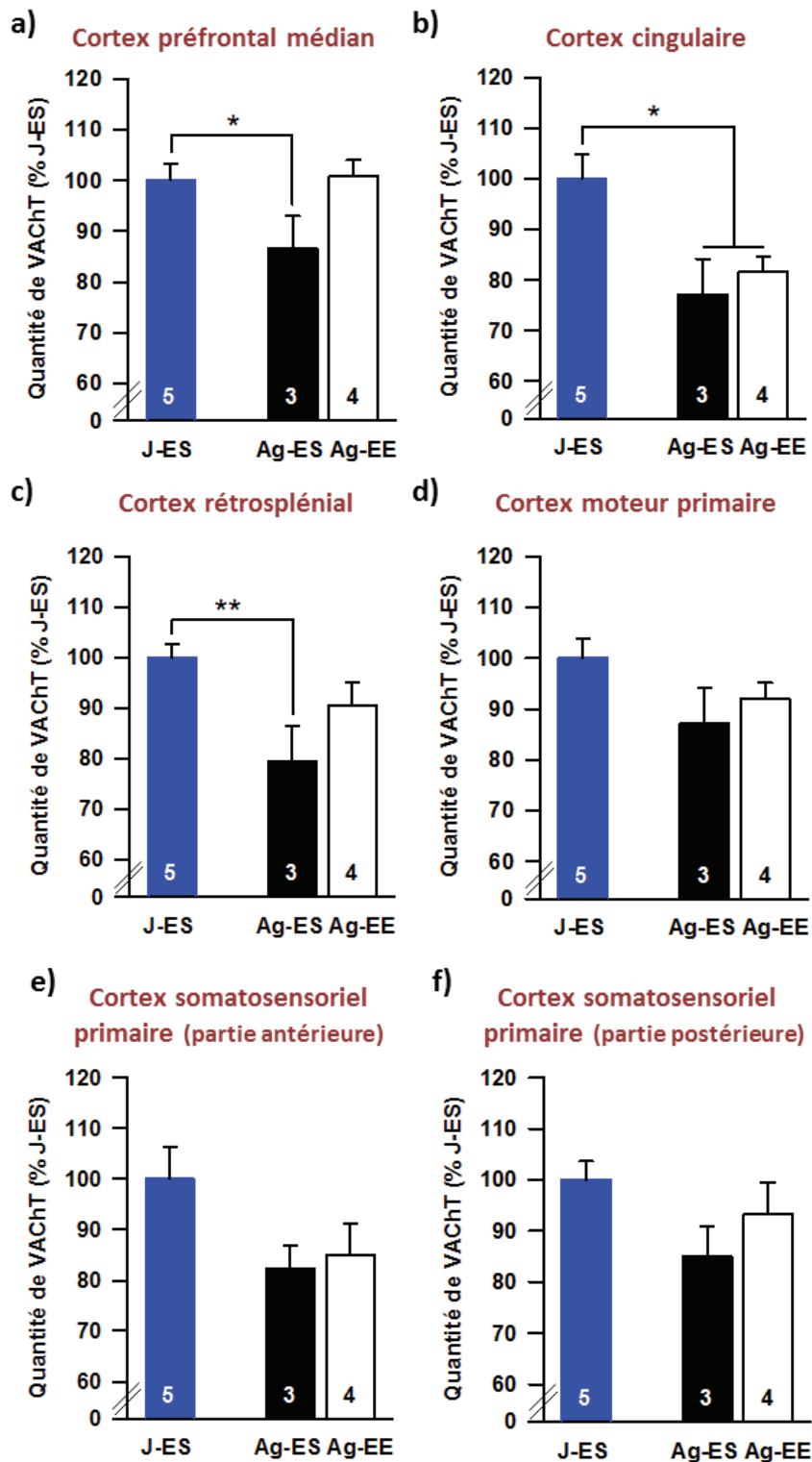


Figure 47. : Densité du marquage VACht dans différentes régions corticales, en pourcentage de la densité observée chez les animaux J-ES. Marquage au sein des cortex préfrontal médian (a), cingulaire (b) rétrospinal (c), moteur primaire (d), et somatosensoriel primaire dans ses parties antérieure (e) et postérieure (f) * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01.

Discussion

A) Formation hippocampique

L'origine de l'innervation glutamatergique de la FH est en grande partie intrinsèque (projections de la voie trisynaptique et collatérales de récurrence) et extrinsèque en provenance du CE (marquage VGLUT1 : Herzog *et al.* 2001). La FH reçoit également, en moindre mesure, une innervation en provenance du complexe SM/BDBv et de certains noyaux thalamiques (marquage VGLUT2 : Herzog *et al.* 2001). D'après nos résultats, cette innervation ne semble pas être altérée par le vieillissement ni influencée par les conditions d'hébergement. L'absence de modification de la densité de VGLUT1 que nous observons dans le champ CA1 chez les animaux âgés est cohérente avec le maintien de l'innervation directe du CE vers ce champ hippocampique (Smith *et al.* 2000). Par contre, l'absence de modification de la densité de VGLUT1 que nous observons dans le champ CA3 et le GD est étonnante compte tenu de la perte synaptique précédemment mise en évidence dans ces régions (Geinisman *et al.* 1986 ; Adams *et al.* 2010). Cependant, la compensation de ces altérations par le biais d'une augmentation de l'efficacité synaptique aux synapses restantes avait été suggérée par Barnes et McNaughton (1980). Nos résultats pourraient ainsi apporter un argument en faveur de l'existence d'un tel mécanisme, qui pourrait reposer sur un maintien de la densité de transporteurs vésiculaires du glutamate en dépit d'une perte de terminaisons permettant la préservation d'une capacité de libération équivalente à celle des animaux jeunes adultes. Par ailleurs, l'absence de modification de la densité de VGLUT2 suggère une préservation de l'innervation glutamatergique en provenance du SM/BDBv, qui, à notre connaissance, n'avait pas encore été évaluée. La préservation du système glutamatergique que nous observons chez les animaux âgés hébergés en ES est en accord avec une étude de Segovia *et al.* (2006) ayant mis en évidence un maintien de la libération de glutamate chez des animaux âgés hébergés en ES. Par contre, ces mêmes auteurs ont montré une augmentation de la libération de glutamate chez des animaux âgés hébergés en EE par rapport aux animaux du même âge hébergés en ES (Segovia *et al.* 2006). Etant donné que nous n'observons pas de modification de la densité de transporteurs vésiculaires du glutamate chez les animaux hébergés en EE par rapport à ceux hébergés en ES, nos résultats semblent suggérer que l'augmentation de la libération de glutamate ne serait pas liée à une augmentation du nombre de transporteurs.

L'origine de l'innervation GABAergique de la FH est principalement intrinsèque (interneurones inhibiteurs) et, en moindre mesure, extrinsèque en provenance du complexe SM/BDBv. Nos résultats montrent une diminution du marqueur VIAAT chez les animaux âgés par rapport aux animaux jeunes adultes, dans les trois régions hippocampiques étudiées (bien que la diminution ne soit pas significative dans le champ CA1). Ces données sont en accord avec des études ayant montré, chez des rats âgés, une diminution de la libération de GABA dans l'HPC (Stanley *et al.* 2012 ; mais voir Segovia *et al.* 2006), une réduction de l'amplitude et de la durée des potentiels post-synaptiques inhibiteurs aux cellules pyramidales de CA1 (Potier *et al.* 2006), ainsi qu'une diminution de la densité d'un autre transporteur vésiculaire du GABA (VGAT ; Canas *et al.* 2009). L'ensemble de ces résultats suggère que le vieillissement induit une diminution de l'innervation GABAergique hippocampique en provenance du complexe SM/BDBv et / ou des interneurones locaux. Un maintien du nombre de neurones GABAergiques au sein du complexe SM/BDBv a été suggéré par plusieurs auteurs (Krzywkowski *et al.* 1995 ; Han *et al.* 2002 ; Banuelos *et al.* 2013). Bien qu'une diminution de l'innervation soit possible, en dépit de la préservation du nombre de neurones, par le biais d'une diminution du nombre de fibres ou de synapses par exemple, il semble tout de même plus probable que la diminution de marquage VIAAT observée chez les animaux âgés soit liée à une perte de l'innervation GABAergique intrinsèque par les interneurones. En effet, plusieurs études ont mis en évidence une réduction avec l'âge de l'expression de la GAD dans les différents champs de la FH (Shetty et Turner 1998 ; Vela *et al.* 2003 ; Stanley *et al.* 2012), qui pourrait être due à une perte de certains types d'interneurones et / ou à une réduction de la synthèse de GABA par les interneurones (Stanley *et al.* 2012). Les interneurones CCK, exprimant à la fois les VIAATs et les VGLUT3s (Somogyi *et al.* 2004), pourraient être particulièrement sensibles aux effets du vieillissement, étant donné la diminution du marquage VGLUT3 observé dans les champs CA1 et CA3. L'ensemble de ces résultats suggérerait ainsi une susceptibilité plus marquée de certains types d'interneurones hippocampiques aux effets du vieillissement.

Cette réduction de la densité du marquage VIAAT et VGLUT3 n'est pas contrecarrée par l'hébergement des animaux âgés en EE. Segovia *et al.* (2006) ont pourtant montré une augmentation de la libération de GABA chez des animaux âgés hébergés en fin de vie en EE par rapport aux animaux du même âge hébergés en ES. L'ensemble de ces données suggère, comme pour le glutamate, que si l'hébergement en EE est capable de limiter l'altération du système GABAergique hippocampique, cela ne repose pas sur un maintien de ses transporteurs.

L'innervation cholinergique de la FH est constituée en grande majorité des entrées en provenance du complexe SM/BDBv, en plus des quelques interneurons locaux. Nos résultats montrent (comme ceux de Canas *et al.* 2009) une diminution de la densité de marquage VAcHT chez les animaux âgés, dans les trois régions hippocampiques étudiées. En accord avec nos données, plusieurs études ont mis en évidence une diminution (plus ou moins importante) du nombre de neurones cholinergiques du complexe SM/BDBv avec l'âge (p.e. Fischer *et al.* 1992 ; Banuelos *et al.* 2013 ; Harati *et al.* 2013), bien que certaines données contradictoires aient également été obtenues (p.e. Stemmelin *et al.* 2000 ; Ypsilanti *et al.* 2008 ; Madhusudan *et al.* 2009).

Chez les animaux âgés hébergés en EE, la densité de marqueur VAcHT semble largement préservée. Ces données sont en accord avec de précédents résultats obtenus au laboratoire ayant montré une diminution (non significative) du nombre de neurones exprimant la ChAT dans le complexe SM/BDBv chez les animaux âgés hébergés en ES, et une préservation de ce nombre chez les animaux âgés hébergés en EE (Harati *et al.* 2013). Ainsi, l'enrichissement des conditions d'hébergement favoriserait le maintien du système cholinergique septo-hippocampique, par le biais d'une préservation du nombre de neurones, mais également par le biais d'une préservation de leur capacité de libération du neurotransmetteur.

L'ensemble des résultats obtenus au sein de la FH montre un effet différentiel du vieillissement sur les systèmes de neurotransmission glutamatergique, GABAergique et cholinergique. De plus, nos résultats indiquent que l'enrichissement des conditions d'hébergement ne semble pas empêcher l'altération de l'innervation GABAergique chez l'animal âgé, et confirme qu'il semble par contre préserver l'innervation cholinergique septo-hippocampique des effets du vieillissement (Harati *et al.* 2013).

B) *Striatum dorsomédian et cortex*

a) Striatum dorsomédian

Au sein du striatum dorsomédian, l'innervation cholinergique reflète en partie les entrées en provenance des noyaux cholinergiques du système ponto-mésencéphalique, mais est constituée en grande majorité des interneurons locaux. Nos résultats indiquent que le vieillissement induit une diminution de la densité des VAcHTs chez les animaux âgés. Bien que le vieillissement n'affecte pas le nombre de neurones cholinergiques au sein des noyaux pédonculopontin et du tegmentum latérodorsal (Baskerville *et al.* 2006), il semble réduire

celui des interneurones striataux (Colombo et Gallagher 1998 ; Stemmelin *et al.* 2000 ; Harati *et al.* 2013). Ainsi, la réduction du marquage VACHT observée chez les animaux âgés doit être liée à une perte spécifique des interneurones cholinergiques striataux.

Dans notre étude, la perte des VACHTs observée chez les animaux âgés n'est pas contrecarrée par l'hébergement des animaux en EE. Ces données sont étonnantes, compte tenu de la préservation partielle du nombre d'interneurones cholinergiques observée précédemment chez les animaux âgés hébergés en EE (Harati *et al.* 2013). Ces interneurones cholinergiques ont pour particularité d'exprimer à la fois des VACHTs et des VGLUT3s (Gras *et al.* 2002), et ce au sein des mêmes vésicules (Gras *et al.* 2008). Or, nos résultats indiquent que la densité de marquage VGLUT3 est augmentée spécifiquement chez les animaux âgés hébergés en EE. De manière intéressante, l'entrée du glutamate dans les vésicules par le biais des VGLUT3 favorise, *via* un mécanisme de synergie vésiculaire (Gras *et al.* 2008 ; El Mestikawy *et al.* 2011), l'entrée de l'ACh dans ces mêmes vésicules et promeut ainsi sa libération. La surexpression des VGLUT3 chez les animaux hébergés en EE pourrait donc constituer un mécanisme de compensation de la perte des VACHTs avec le vieillissement dans cette région, et pourrait expliquer, au moins en partie, le maintien du phénotype cholinergique des interneurones striataux (Harati *et al.* 2013).

b) Régions corticales

La principale innervation cholinergique néocorticale provient du NBM. Cependant, certaines aires corticales sont en partie innervées par le complexe SM/BDBv et / ou la BDBh. Notamment, le CPFm reçoit ses afférences en grande partie de la BDBh, et dans une moindre mesure du complexe SM/BDBv et du NBM (Saper 1984 ; Luiten *et al.* 1987 ; Gaykema *et al.* 1990). Le cortex cingulaire, quant à lui, semble innervé essentiellement par le SM et les BDB, avec une innervation moins importante du NBM (Rye *et al.* 1984 ; Saper 1984). Enfin, le cortex rétrospécial est innervé en majorité par les BDB, le SM et en moindre mesure par le NBM (Saper 1984 ; Luiten *et al.* 1987 ; Gaykema *et al.* 1990). D'après nos résultats, le vieillissement semble induire une diminution de la densité de marquage VACHT dans l'ensemble du manteau cortical, bien que l'effet significatif n'apparaisse que dans les cortex préfrontal médian, cingulaire et rétrospécial. Nos résultats sont ainsi en accord avec plusieurs études ayant montré une diminution du nombre de neurones exprimant la ChAT dans le complexe SM/BDBv (voir plus haut), le NBM (Stemmelin *et al.* 2000 ; Harati *et al.* 2013) et la BDBh (Madhusudan *et al.* 2009) chez les animaux âgés.

D'après nos résultats, l'enrichissement pendant toute la vie semble prévenir la perte de l'innervation cholinergique de certaines régions corticales seulement (cortex préfrontal médian et rétrosplénial). Pourtant, une préservation du nombre de neurones cholinergiques a précédemment été mise en évidence au laboratoire, à la fois dans le complexe SM/BDBv et dans le NBM, chez des animaux âgés hébergés en EE (Harati *et al.* 2013). Ces résultats semblent donc suggérer que la préservation du système cholinergique par l'hébergement en EE ne serait pas liée uniquement à l'origine de cette innervation. En effet, bien que l'enrichissement favorise une préservation structurelle du nombre de neurones cholinergiques de la base du cerveau antérieur, il ne semble pas maintenir les capacités de libération fonctionnelle de ce neurotransmetteur dans toutes les aires corticales cibles. Cet effet bénéfique région-spécifique de l'enrichissement pourrait être lié à une sollicitation du système cholinergique de certaines aires corticales particulières au cours de l'exposition à cet enrichissement. En particulier, l'exposition répétée des animaux à la nouveauté dans leur environnement proximal pourrait induire une stimulation du système cholinergique dans les cortex frontal (Giovannini *et al.* 2001) et rétrosplénial (Anzalone *et al.* 2009), favorisant les processus attentionnels et la détection des modifications (pour revue, voir Hasselmo et Sarter 2011). La sollicitation de ces systèmes pendant toute la vie de l'animal pourrait ainsi les protéger des effets du vieillissement.

Cette étude a mis en évidence que l'enrichissement des conditions d'élevage pendant toute la vie ne semble pas empêcher la mise en place de toutes les altérations qui apparaissent au cours du vieillissement. Dans notre étude, seul le système cholinergique semble bénéficier de ces conditions de vie. Au niveau du système cholinergique de la base du cerveau antérieur, la préservation de sa fonctionnalité semble liée à un maintien de la densité des transporteurs vésiculaires de l'acétylcholine, suggérant une intégrité structurelle de l'innervation de la FH et de certaines régions corticales. Au niveau du striatum, la préservation de la fonctionnalité du système cholinergique semble reposer sur un mécanisme de compensation. Le fait que plusieurs études aient au préalable mis en évidence que l'hébergement en EE n'affecte pas le système cholinergique chez l'animal adulte (p.e. Por *et al.* 1982 ; Del Arco *et al.* 2007 ; Dhanushkodi *et al.* 2007) suggère que l'enrichissement des conditions d'élevage protège spécifiquement ce système des effets du vieillissement. Il aurait ainsi été intéressant d'évaluer l'impact d'une exposition à un EE chez des animaux jeunes adultes pour évaluer si l'augmentation des VGLUT3s au niveau striatal apparaîtrait uniquement chez des animaux âgés afin de contrecarrer l'atteinte de ce système.

Notre étude ne nous permet cependant pas de conclure en l'absence d'effet de l'enrichissement sur les systèmes de neurotransmission glutamatergique et GABAergique dans la FH. En effet, nous n'avons étudié qu'un aspect de ces systèmes (densité de transporteurs véhiculaires) pouvant refléter l'intégrité de l'innervation ou la capacité de libération du neurotransmetteur. Ainsi, l'hébergement en EE pendant toute la vie pourrait exercer des effets permettant un maintien de la fonctionnalité de ces systèmes en modifiant par exemple l'expression de leurs récepteurs, comme déjà mis en évidence chez l'animal adulte (p.e. Mlynarik *et al.* 2004).

DISCUSSION GENERALE

I) PERFORMANCES DE NAVIGATION SPATIALE EN PISCINE DE MORRIS

Le premier objectif de mon travail de thèse a été de déterminer dans quelle mesure l'enrichissement jusqu'à- ou à partir d'-un âge auquel les déficits cognitifs sont déjà présents contribue au maintien des performances observé chez des animaux âgés hébergés toute leur vie en EE. Pour cela, nous avons comparé les capacités de mémoire spatiale d'animaux âgés hébergés toute leur vie en ES à celles d'animaux âgés ayant été hébergés en EE jusqu' à 18 ou 24 mois, ou à partir de 18 mois. A cette fin, nous avons utilisé la tâche de navigation en piscine de Morris en employant deux protocoles d'acquisition différents.

Les différences majeures entre ces deux protocoles sont le nombre de séances d'acquisition (5 *versus* 8) et la présence ou l'absence d'une séance avec plate-forme visible avant la phase d'acquisition. Chacun de ces protocoles a été appliqué dans une pièce expérimentale différente. Bien que chacune d'elle possède de nombreux indices distaux, des différences dans la saillance de ces indices ont pu avoir un impact sur la qualité du souvenir, tout du moins quant à sa résistance à la dégradation avec le temps (Lopez *et al.* 2008). Ainsi, bien que nous ne puissions totalement exclure qu'une partie des différences observées soit liée à la différence de pièce utilisée, nous pensons que cet effet pourrait être assez limité.

Des analyses effectuées sur des données obtenues pendant plusieurs années au sein du laboratoire (comparaison des performances lors des cinq premières séances) ont mis en évidence que le protocole d'entraînement comportant une séance avec une plate-forme visible (dite séance de pré-entraînement) accélère la vitesse de l'apprentissage. Celle-ci est reflétée par une diminution plus rapide de la distance parcourue pour atteindre la plate-forme (*Fig 48*) et est associée à une diminution plus rapide du comportement de thigmotaxie ainsi qu'à une augmentation plus rapide de la réussite aux essais (données non montrées). Cet effet a été mis en évidence chez les animaux adultes et âgés, quelle que soit leur condition d'hébergement. Seuls des animaux jeunes adultes, qu'ils aient été hébergés en ES ou en EE, ne bénéficient pas de ce protocole, suggérant que chez eux, l'apprentissage est déjà optimal avec le protocole qui semble le plus sollicitant. Ainsi, l'apprentissage préalable des aspects procéduraux de la tâche (apprendre que la paroi de la piscine ne constitue pas une sortie mais que la seule échappatoire est la plate-forme et donc apprendre à nager jusqu'à la plate-forme, y grimper et y rester) accélère la mise en place d'une stratégie efficace pour rejoindre la plate-forme.

Discussion générale

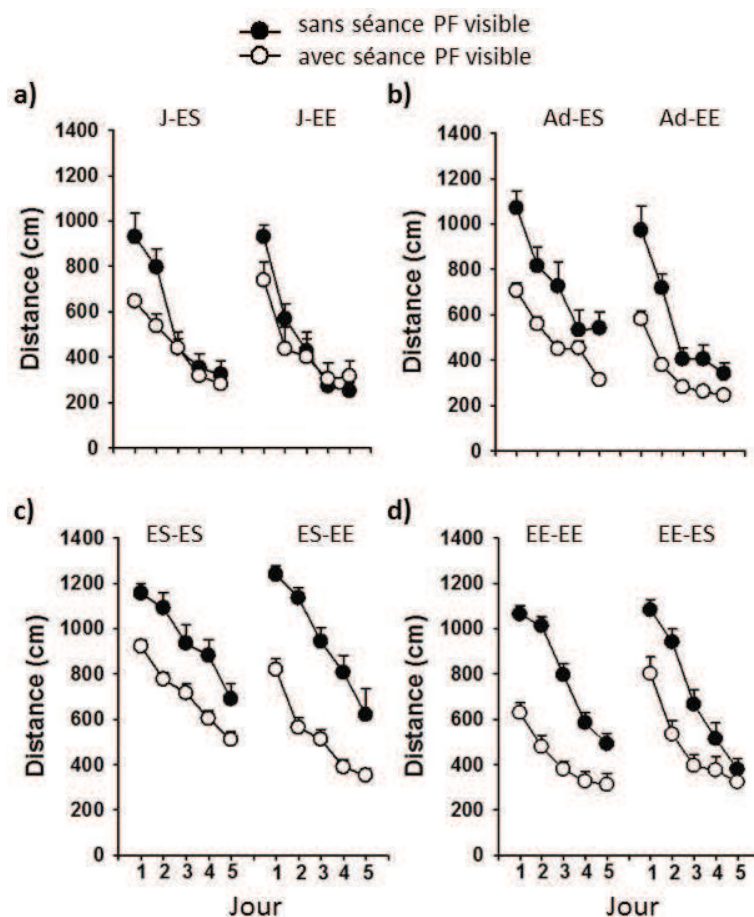


Fig 48. : Impact de la présence d'une séance avec plate-forme visible sur la distance parcourue pour atteindre la plate-forme chez **(a)** des animaux jeunes adultes (4-5 mois) hébergés en ES (J-ES) ou en EE (J-EE) ; **(b)** des animaux adultes (8 mois) hébergés en ES (Ad-ES) ou en EE (Ad-EE) ; **(c)** des animaux âgés (24-27 mois) hébergés toute leur vie en ES (ES-ES) ou hébergés en EE à partir de 18 mois (ES-EE); **(d)** des animaux âgés hébergés en EE jusqu'à 24 mois (EE-EE) ou jusqu'à 18 mois (EE-ES). PF : plate-forme.

Afin de pouvoir discuter, d'une part, de la nature des déficits présents chez les animaux âgés hébergés toute leur vie en ES et, d'autre part, de l'impact des différentes conditions d'enrichissement sur ces déficits, nous avons comparé les performances des animaux obtenues avec les deux protocoles d'apprentissage au cours de cette thèse (voir le récapitulatif des résultats en *Tableau 10*).

Tableau 10 : Récapitulatif des résultats comportementaux obtenus dans la tâche de navigation spatiale en fonction du protocole d'apprentissage utilisé. *En italique sont indiquées les comparaisons qui n'ont pas été présentées dans cette thèse ou les inférences faites à partir de la comparaison de ces études.* MCT, mémoire à court terme ; MLT, mémoire à long terme ; PF : plate-forme. L'article 1 de l'étude 1 est référencé comme l'étude 1A ; l'article 2 de cette même étude est référencé comme l'étude 1B.

	Etude	PF visible	Nb jours acquisition	Performances en acquisition	Performances en rétention Mémoire récente
ES-ES	1A	non	5	déficit	déficit : pas de rétention
	1B, 2, 3	oui	8	déficit « index de MCT et de MLT » > à ceux des adultes	déficit : rétention < à celle des adultes (1B) ou pas de rétention (2 et 3) L'absence de rétention dans deux des études est certainement liée au faible nombre d'animaux. En effet, avec l'âge il y a une augmentation de l'hétérogénéité des performances et du nombre d'animaux présentant des déficits.
ES-EE	1A	non	5	déficit identique à celui des ES-ES	déficit : rétention < à celle observée chez les EE-EE et EE-ES
	1B	oui	8	déficit, mais < à celui des ES-ES « index de MCT » identique à celui des adultes mais « index de MLT » < à celui des adultes	déficit : rétention < à celle des EE-EE et EE-ES ; cette comparaison provient de la démonstration que les EE-EE présentent des performances similaires à celles de jeunes adultes dans l'étude 3
EE-EE	1A	non	5	pas de déficit (performances identiques à celles d'animaux adultes – résultats non présentés dans l'étude 1A)	pas de déficit (rétention identique à celle d'animaux adultes – résultats non présentés dans l'étude 1A)
	2,3	oui	8	pas de déficit « index de MCT et MLT » identiques à ceux de jeunes adultes	pas de déficit : rétention similaire à celle observée chez des jeunes adultes (étude 3)
EE-ES	1A	non	5	pas de déficit (performances identiques à celles d'animaux adultes – résultats non présentés dans l'étude 1A)	pas de déficit (rétention identique à celle d'animaux adultes – résultats non présentés dans l'étude 1A) – rétention similaire à celle des EE-EE
	2	oui	8	pas de déficit – performances identiques à celles des EE-EE (performances identiques à celles d'animaux adultes – résultats non présentés dans l'étude 1A)	pas de déficit – rétention similaire à celle des EE-EE (rétention identique à celle d'animaux adultes – résultats non présentés dans l'étude 1A)

Impact du vieillissement sur les capacités de mémoire spatiale chez l'animal âgé hébergé toute sa vie en ES

Les résultats montrent que les rats âgés ne semblent pas capables d'apprendre la localisation de la plate-forme, sauf s'ils sont soumis à un protocole d'acquisition long (8 jours) avec une séance de pré-entraînement. Cependant, dans une étude précédente menée au laboratoire et utilisant un protocole sans séance de pré-entraînement (Harati *et al.* 2013), il a été montré que l'augmentation du nombre de séances d'acquisition ne profite que peu aux animaux âgés hébergés en ES. Ceci suggère que ce serait plutôt la présence d'une séance avec plate-forme visible qui permettrait aux animaux âgés de mettre en place une stratégie efficace de recherche de la plate-forme, mais également de garder en mémoire à long terme le souvenir de sa localisation. Certains auteurs proposent que les déficits qui n'apparaissent pas lorsque l'acquisition est précédée d'une séance de pré-entraînement sont des déficits de l'apprentissage des aspects non spatiaux et notamment procéduraux liés à la tâche (p.e. Saucier *et al.* 1996). Cependant, le fait que les animaux âgés soient capables d'apprendre à rejoindre une plate-forme visible met en évidence qu'ils peuvent apprendre ces aspects procéduraux et qu'ils possèdent également la motivation et les capacités sensorimotrices pour le faire. De plus, la présence d'une séance de pré-entraînement ne fait pas disparaître leur déficit (comme déjà mis en évidence : Aura et Riekkinen 2000). Ainsi, nous proposons que l'impossibilité pour les animaux âgés d'apprendre la localisation de la plate-forme en absence de séance de pré-entraînement reflète plutôt leur incapacité à apprendre les deux composantes (non spatiales et spatiales) de la tâche simultanément (Day et Schallert 1996).

Même si les performances de rats âgés bénéficient d'une séance de pré-entraînement avec plate-forme visible, nos résultats mettent en évidence qu'ils présentent des déficits qui semblent liés à leur difficulté à mettre en place une stratégie efficace, ce qui retarde leur apprentissage. Les rats âgés parcourant toujours une distance plus importante, même après une période d'acquisition longue, nous proposons que ces animaux utilisent une stratégie différente de celle des animaux adultes pour rejoindre la plate-forme : ils sembleraient favoriser une stratégie de type « savoir comment aller à la plate-forme » plutôt qu'une stratégie allocentrique (« savoir où est la plate-forme ») (cf discussion de l'étude 1B). Le fait que les animaux soient capables de rappeler le souvenir de la localisation de la plate-forme semble toutefois indiquer qu'ils utilisent des indices distaux pour le faire. Cependant, le souvenir des rats âgés semble moins précis (cf discussion de l'étude 1B) et plus sensible à la

dégradation. Ainsi, l'ensemble de ces données laisse envisager que les animaux âgés présentent un déficit de la capacité à utiliser des informations spatiales pour rejoindre un but.

Nos résultats ont également mis en évidence que les animaux âgés ne présentent pas d'amélioration marquée de leurs performances au sein de chaque séance (index de mémoire à court terme plus important que des animaux adultes). Ceci pourrait refléter un déficit de mémoire à court terme tel que déjà mis en évidence par certains auteurs (Guidi *et al.* 2014 ; McQuail *et al.* 2015). Cependant, cette absence d'amélioration des performances au sein des séances pourrait également être liée à la stratégie utilisée par ces animaux pour rejoindre la plate-forme, comme discuté précédemment (« savoir comment aller à la plate-forme »). Les animaux âgés présentent également une capacité limitée à mettre en mémoire à long terme les informations acquises au cours de l'apprentissage (index de mémoire à long terme plus important que des animaux adultes). Ce déficit de mémoire à long terme (mis en évidence précédemment par Foster et Kumar 2007) pourrait être dû à un défaut de consolidation ou à un encodage moins précis ou moins profond des informations.

Nature des processus bénéficiant d'un enrichissement tardif et / ou d'un enrichissement pendant toute la vie adulte

Les résultats que nous avons obtenus chez les animaux âgés hébergés en EE en fin de vie montrent qu'ils sont capables, contrairement aux animaux âgés hébergés toute leur vie en ES, d'apprendre la localisation d'une plate-forme même en absence d'une séance de pré-entraînement (séance avec plate-forme visible ; étude 1A). Ces animaux présentent cependant de moins bonnes performances en acquisition et une mémoire récente moins précise que celle des animaux adultes, bien que leurs performances soient moins altérées que celles des animaux âgés hébergés toute leur vie en ES (étude 1B). L'enrichissement pendant toute la vie permet, quant à lui, une préservation des performances d'acquisition mais aussi de rétention. Le fait que les performances des animaux hébergés en EE jusqu'à 18 mois soient identiques à celles des animaux bénéficiant d'un enrichissement jusqu'à 24 mois, et ce quel que soit le protocole d'acquisition utilisé, suggère que l'enrichissement pendant toute la vie adulte (au moins jusqu'à 18 mois) est suffisant pour prévenir des altérations subséquentes liées au vieillissement.

Toutes les conditions d'enrichissement étudiées permettent aux animaux âgés de maintenir une capacité à utiliser les informations au sein des séances (index de mémoire à

court terme similaire à celui des adultes). Cependant, seul l'enrichissement pendant toute la vie adulte permet une mise en mémoire à long terme des informations qui soit aussi rapide et efficace que celle des animaux adultes (index de mémoire à long terme similaire à celui des adultes). L'ensemble de ces données suggère que, contrairement à un enrichissement pendant toute la vie adulte, l'enrichissement tardif ne permet pas de totalement prévenir les déficits de mémoire à long terme qui apparaissent avec le vieillissement. Comme indiqué précédemment, le déficit de mémoire à long terme des animaux âgés pourraient résulter d'un défaut d'encodage ou de consolidation : il est alors envisageable que l'enrichissement pendant toute la vie favorise l'un et / ou l'autre de ces processus.

De manière intéressante, nous avons mis en évidence qu'un enrichissement tardif ne bénéficie qu'aux animaux qui n'étaient pas déficitaires à 17 mois. Ainsi, à l'instar de l'enrichissement pendant toute la vie adulte, qui semble empêcher l'émergence des déficits qui apparaissent avec l'âge, l'enrichissement tardif semble être, quant à lui, seulement capable de les limiter.

II) SUBSTRATS NEUROBIOLOGIQUES DE LA MEMOIRE SPATIALE

La deuxième partie de mon travail de thèse a consisté à étudier certains mécanismes pouvant sous-tendre les effets bénéfiques de l'enrichissement des conditions d'élevage sur le vieillissement cognitif.

Nous avons mis en évidence que l'enrichissement pendant toute la vie modifie le cycle veille-sommeil des animaux pendant la phase diurne. Cet effet n'étant pas observé chez les animaux hébergés en EE jusqu'à 18 mois, nos résultats laissent envisager que l'effet bénéfique de l'enrichissement sur les fonctions cognitives ne repose pas sur ces modifications de l'architecture de ce cycle. Par contre, nous avons montré que l'enrichissement des conditions d'hébergement semble modifier la manière dont les animaux pourraient traiter des informations spatiales (décalage du spectre de fréquence vers les fréquences plus rapides), un effet qui, bien que présent également chez les animaux jeunes, pourrait contribuer au maintien des capacités de mémoire spatiale des animaux âgés. De plus, les effets bénéfiques de l'hébergement en EE chez l'animal âgé pourraient reposer en partie sur un maintien de l'intégrité structurelle et fonctionnelle des systèmes cholinergiques de la base du cerveau antérieur et du striatum (étude 4). En effet, nos résultats suggèrent une préservation de la

capacité de libération d'ACh au sein de la FH (préservation de la densité de VChTs chez les animaux âgés hébergés en EE) et du striatum dorsomédian (augmentation de la densité de VGLUT3 chez les animaux âgés hébergés en EE), deux structures cérébrales dont l'intégrité est critique pour l'apprentissage de la tâche de navigation spatiale en piscine de Morris (p.e. Moser *et al.* 1993 ; Devan *et al.* 1996 ; Lee *et al.* 2014). Nous avons montré que les animaux âgés présentent un déficit d'acquisition associé à un comportement de thigmotaxie très marqué. Or, un retard d'acquisition associé à une tendance initiale à présenter de la thigmotaxie a été décrit à la suite de lésions du striatum dorsal et particulièrement de sa composante médiane (Devan *et al.* 1999 ; mais voir Shirakawa et Ichitani 2004). Ces résultats suggèrent que l'absence de thigmotaxie persistante chez les rats âgés hébergés toute leur vie en EE pourrait dépendre du maintien de l'intégrité fonctionnelle du striatum et notamment du système cholinergique striatal. De plus, l'altération du système cholinergique septo-hippocampique avec l'âge a, elle aussi, été associée aux déficits d'apprentissage des animaux âgés en piscine de Morris (p.e. Fischer *et al.* 1992) et le maintien des performances lié à l'enrichissement des conditions d'hébergement semble reposer en partie sur la préservation de l'intégrité de ce système avec l'âge (Harati *et al.* 2013).

Au niveau hippocampique, l'ACh serait particulièrement impliquée dans la balance entre encodage et rappel des informations (Hasselmo et Schnell 1994). En effet, l'augmentation des niveaux d'ACh lorsque l'animal est exposé à une nouveauté environnementale induit une suppression de l'entrée excitatrice de CA3 (p.e. Fernandez de Sevilla et Buno 2003) et, de cette manière, favorise l'entrée en provenance du CE. Par conséquent, l'ACh pourrait jouer un rôle critique pour limiter l'interférence entre des informations apprises précédemment et l'encodage de nouvelles informations (pour revue, voir Hasselmo et McGaughy 2004). La diminution de l'innervation cholinergique septo-hippocampique avec l'âge (étude 4) pourrait ainsi réduire l'inhibition des entrées de CA3 et perturber les processus d'encodage des nouvelles informations. Ceci pourrait expliquer les déficits de spécificité de détection du changement spatial observés chez les animaux âgés hébergés en ES. En accord avec cette hypothèse, le maintien de l'innervation cholinergique chez les animaux âgés hébergés en EE (étude 4) pourrait être responsable de l'absence de déficits chez ces derniers. De plus, comme discuté précédemment, un tel effet bénéfique de l'enrichissement des conditions d'hébergement sur l'encodage des informations pourrait également expliquer leur capacité maintenue de mémoire à long terme en piscine de Morris.

Le traitement de la nouveauté spatiale semble, d'après nos résultats, être différent chez les animaux âgés hébergés en ES ou en EE (étude 3). Nous avons évalué ce traitement dans le champ CA1 hippocampique, dont l'implication critique dans la détection du changement spatial serait liée à son rôle de comparateur entre les informations actuelles en provenance du CE et les prédictions en provenance de CA3 (Kumaran et Maguire 2007). Chez l'animal âgé, des altérations à la fois structurelles et fonctionnelles peuvent être observées au sein du champ CA1 (Fig 49). Dans cette dernière partie, nous proposons certaines hypothèses concernant l'influence que pourrait avoir l'hébergement en EE sur ces altérations, en nous basant sur les données de la littérature et sur nos propres travaux (études 3 et 4).

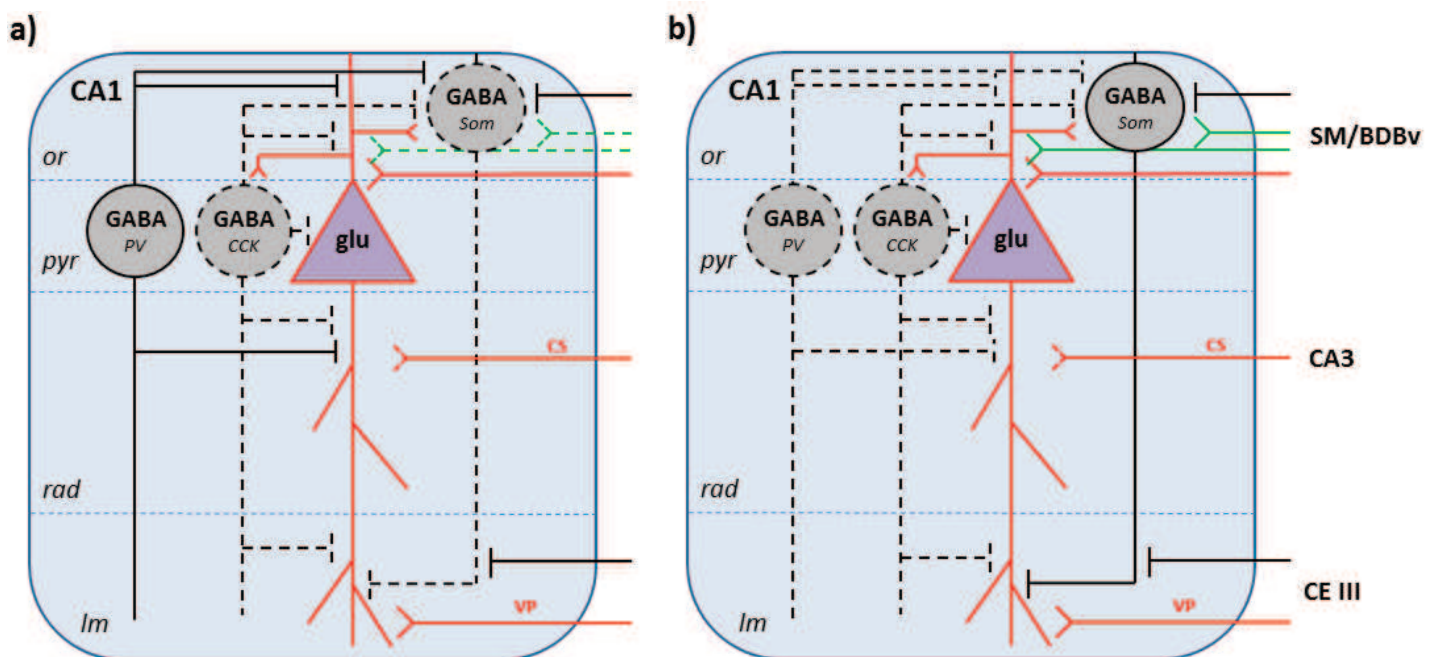


Fig 49. : schéma récapitulatif de l'influence potentielle du vieillissement (a) et de l'enrichissement des conditions d'hébergement (b) sur la structure et la fonctionnalité du champ CA1 hippocampique, basé sur les données de la littérature et les résultats obtenus au cours de ma thèse (cf texte ci-dessous). Les projections glutamatergiques sont en rouge, GABAergiques en noir et cholinergiques en vert. Les traits pleins représentent des connexions intactes et les traits pointillés représentent des connexions altérées. CCK : cholécystokinine, CS : collatérales de Schaffer, Im : *stratum lacunosum moleculare*, or : *stratum oriens*, pyr : *stratum pyramidale*, PV : parvalbumine, rad : *stratum radiatum*, Som : somatostatine, VP : voie perforante.

Bien que l'innervation en provenance de CA3 par les collatérales de Schaffer ne semble pas affectée par le vieillissement (Geinisman *et al.* 2004 ; maintien de la densité de VGLUT1), les synapses que forment ces afférences sur les cellules du champ CA1 pourraient

subir des altérations induisant une perte de fonction d'une partie d'entre elles (p.e. Nicholson *et al.* 2004 ; Burke et Barnes 2010). L'oscillation γ_L enregistrée dans le champ CA1 étant potentiellement générée au sein du champ CA3 (Hajos et Paulsen 2009 ; Zemankovics *et al.* 2013), la diminution de la puissance absolue de cette oscillation que nous avons observée chez les animaux âgés pourrait être associée à ce déficit fonctionnel des synapses aux collatérales de Schaffer. La puissance de l'oscillation γ_L n'étant pas restaurée chez les animaux âgés hébergés en EE, nos résultats suggèrent que l'enrichissement des conditions d'hébergement ne permet pas d'empêcher l'altération fonctionnelle de ces synapses.

La préservation des entrées directes du CE vers le champ CA1 (Smith *et al.* 2000 ; maintien de la densité de VGLUT1) pourrait, quant à elle, expliquer le maintien de la puissance de l'oscillation γ_R chez les animaux âgés, quelle que soit leur condition d'hébergement (étude 3 ; Bragin *et al.* 1995 ; Charpak *et al.* 1995).

Les afférences glutamatergiques en provenance du complexe SM/BDBv semblent préservées avec l'âge, quelle que soit la condition d'hébergement des animaux (maintien de la densité des VGLUT2s). De plus, bien que nos données suggèrent une diminution avec l'âge de l'innervation GABAergique au sein du champ CA1, quelle que soit la condition d'hébergement des animaux (diminution de la densité de VIAAT), celle-ci semblerait plutôt liée à une diminution de l'innervation intrinsèque hippocampique (maintien du nombre de neurones GABAergiques au sein du complexe SM/BDBv : Krzywkowski *et al.* 1995 ; Han *et al.* 2002 ; Banuelos *et al.* 2013). L'innervation cholinergique est, quant à elle, altérée chez les animaux âgés hébergés en ES (diminution de la densité des VChTs, étude 4 ; diminution du nombre de neurones cholinergiques au niveau de complexe SM/BDBv, p.e. Fischer *et al.* 1992 ; Banuelos *et al.* 2013 ; Harati *et al.* 2013 ; mais voir Ypsilanti *et al.* 2008) mais préservée chez les animaux âgés hébergés en EE (maintien de la densité des VChTs, étude 4 ; maintien du nombre de neurones cholinergiques au niveau du complexe SM/BDBv, Harati *et al.* 2013). Compte-tenu de l'influence du système cholinergique septo-hippocampique sur la modulation de l'oscillation θ , nous nous attendions à observer une diminution de la puissance de cette oscillation au cours du SP avec le vieillissement uniquement chez les animaux âgés hébergés en ES. Or, cette puissance est diminuée exclusivement chez les animaux âgés hébergés en EE. Ceci suggère que des mécanismes de modulation de l'oscillation θ indépendants du système cholinergique septo-hippocampique sont mis en jeu chez les animaux âgés hébergés en EE. Ces derniers pourraient en partie reposer sur le réseau d'interneurones locaux du champ CA1.

Comme suggéré précédemment, l'innervation GABAergique intrinsèque semble compromise avec l'âge. Cet effet pourrait cependant être spécifique de certains types d'interneurones. En effet, les interneurones exprimant la Som (*Vela et al.* 2003 ; *Potier et al.* 2006 ; *Stanley et al.* 2012 ; mais voir *Miettinen et al.* 1993) et ceux exprimant la CCK (diminution des VGLUT3s) pourraient être particulièrement sensibles aux effets du vieillissement. Ces altérations pourraient participer à la diminution de la puissance de l'oscillation θ observée chez les animaux âgés, ces deux types d'interneurones présentant une décharge rythmique à la fréquence θ (*Klausberger et Somogyi* 2008) et étant impliqués dans l'inhibition rythmique des cellules pyramidales. Alors que les interneurones exprimant la PV semblent résistants aux effets de l'âge (*Miettinen et al.* 1993 ; *Potier et al.* 1994 ; *Vela et al.* 2003 ; *Potier et al.* 2006 ; *Stanley et al.* 2012 ; mais voir *Lolova et Davidoff* 1992 ; *Shetty et Turner* 1998), une diminution du nombre de ces interneurones a été observée suite à l'enrichissement des conditions d'hébergement chez l'animal jeune (*Iuvone et al.* 1996), laissant envisager qu'une telle diminution puisse exister chez les animaux âgés hébergés en EE. Compte tenu du rôle de ces interneurones dans la modulation de l'oscillation θ (p.e. *Wulff et al.* 2009 ; *Amilhon et al.* 2015), ceci pourrait expliquer la diminution plus importante de la puissance de l'oscillation θ chez les animaux âgés hébergés en EE. Etant donné la densité similaire des VIAATs chez les deux groupes d'animaux âgés, et compte tenu de la diminution supplémentaire des interneurones PV+ chez les animaux enrichis, une hypothèse, bien que spéculative, serait que les interneurones Som soient, quant à eux, épargnés lorsque les animaux sont hébergés toute leur vie dans un EE.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Les études comportementales que j'ai effectuées au cours de ma thèse ont permis de mettre en évidence que l'enrichissement jusqu'à 18 mois est aussi efficace que l'enrichissement durant toute la vie pour prévenir les déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale liés à l'âge. Par contre, l'enrichissement à partir de 18 mois permet seulement de limiter ces déficits chez les animaux âgés. En particulier, alors qu'il ne semble pas permettre la restauration des fonctions déjà altérées, il pourrait tout de même limiter l'apparition de déficits subséquents. Ces résultats soulignent l'importance de l'exposition à des stimulations sociales, physiques et cognitives avant un âge avancé pour un vieillissement cognitif réussi. Nos résultats ont également montré que l'enrichissement semble à la fois exercer des effets de type neuroprotecteur (p.e. préservation de l'intégrité du système cholinergique septo-hippocampique, en accord avec la théorie du maintien cérébral) mais favoriserait également la constitution d'une réserve qui pourrait permettre aux animaux âgés de conserver leurs capacités de mémoire spatiale malgré les altérations physiologiques qui accompagnent le vieillissement (p.e. par un mécanisme de compensation permettant une préservation de la fonctionnalité du système cholinergique striatal, en dépit de son altération, ou par une activité oscillatoire favorisant un traitement différentiel et potentiellement plus efficace des informations spatiales).

PERSPECTIVES

Caractérisation des processus mnésiques affectés par le vieillissement et préservés par l'hébergement en EE

Nous avons émis l'hypothèse que l'enrichissement des conditions d'hébergement pouvait empêcher l'altération avec l'âge de la mémoire à long terme en favorisant les processus d'encodage et /ou de consolidation. Pour déterminer sur lequel de ces processus pourrait plus particulièrement reposer l'effet de l'enrichissement, il serait intéressant d'évaluer, dans la tâche de navigation en piscine de Morris, la mémoire de la position de la plate-forme à court (test de rétention après la dernière séance d'acquisition) et long (un jour après la dernière séance d'acquisition) termes chez des animaux âgés ayant été hébergés en ES ou en EE toute leur vie. L'identification du processus susceptible de contribuer au maintien des capacités de mémoire à long terme permettrait par la suite d'en étudier les mécanismes neurobiologiques.

Caractérisation des modifications de la densité de certaines populations d'interneurones impliqués dans la modulation de l'activité oscillatoire hippocampique

Comme discuté précédemment, le réseau des interneurones inhibiteurs au sein du champ CA1 hippocampique pourrait être particulièrement affecté par le vieillissement, mais semblerait être également sensible aux effets de l'enrichissement des conditions d'hébergement. Il serait intéressant d'étudier plus directement l'impact de l'âge et de l'hébergement en EE sur plusieurs classes d'interneurones dont l'implication dans la modulation des oscillations θ et γ a été suggérée. Une technique d'immunohistochimie associée à un comptage stéréologique permettrait en particulier de mettre en évidence des modifications de la densité des interneurones exprimant la Som, la PV et la CCK.

Caractérisation d'un mécanisme sous-tendant la préservation du système cholinergique chez les animaux âgés hébergés en EE

Nos travaux ont mis en évidence que l'hébergement en EE pendant toute la vie semble préserver des atteintes du vieillissement l'innervation cholinergique septo-hippocampique, mais également l'innervation cholinergique vers certaines régions corticales. Cet effet neuroprotecteur pourrait reposer sur une préservation de la production de certains facteurs trophiques. En particulier, la survie des neurones cholinergiques de la base du cerveau antérieur est dépendante de l'apport en NGF, dont la signalisation subit des altérations avec l'âge (Sugaya *et al.* 1998). Il serait intéressant d'étudier si l'enrichissement a un impact sur les voies de signalisation dépendantes de ce facteur.

Etant donné que les animaux hébergés en EE jusqu'à 18 mois présentent une préservation de leurs performances similaire à celle des animaux hébergés en EE jusqu'à 24 mois, il serait intéressant d'évaluer si les différents mécanismes sous-tendant cette préservation sont les mêmes que chez les animaux hébergés en EE durant toute leur vie adulte.

BIBLIOGRAPHIE

- Abdulla, F. A., M. A. Abu-Bakra, M. R. Calaminici, J. D. Stephenson and J. D. Sinden (1995). Importance of forebrain cholinergic and GABAergic systems to the age-related deficits in water maze performance of rats. *Neurobiol Aging* 16(1).
- Abe, Y. and K. Toyosawa (1999). Age-related changes in rat hippocampal theta rhythms: a difference between type 1 and type 2 theta. *J Vet Med Sci* 61(5).
- Acosta-Pena, E., I. Camacho-Abrego, M. Melgarejo-Gutierrez, G. Flores, R. Drucker-Colin and F. Garcia-Garcia (2015). Sleep deprivation induces differential morphological changes in the hippocampus and prefrontal cortex in young and old rats. *Synapse* 69(1).
- Adams, M. M., H. S. Donohue, M. C. Linville, E. A. Iversen, I. G. Newton and J. K. Brunso-Bechtold (2010). Age-related synapse loss in hippocampal CA3 is not reversed by caloric restriction. *Neuroscience* 171(2).
- Aggarwal, N. T., R. S. Wilson, T. L. Beck, K. B. Rajan, C. F. Mendes de Leon, D. A. Evans and S. A. Everson-Rose (2014). Perceived stress and change in cognitive function among adults 65 years and older. *Psychosom Med* 76(1).
- Aggleton, J. P., M. M. Albasser, D. J. Aggleton, G. L. Poirier and J. M. Pearce (2010). Lesions of the rat perirhinal cortex spare the acquisition of a complex configural visual discrimination yet impair object recognition. *Behav Neurosci* 124(1).
- Aggleton, J. P., S. D. Vann, C. J. Oswald and M. Good (2000). Identifying cortical inputs to the rat hippocampus that subservise allocentric spatial processes: a simple problem with a complex answer. *Hippocampus* 10(4).
- Aitken, D. H. and M. J. Meaney (1989). Temporally graded, age-related impairments in spatial memory in the rat. *Neurobiol Aging* 10(3).
- Alger, B. E., D. A. Nagode and A. H. Tang (2014). Muscarinic cholinergic receptors modulate inhibitory synaptic rhythms in hippocampus and neocortex. *Front Synaptic Neurosci* 6
- Alkadhi, K., M. Zagaar, I. Alhaider, S. Salim and A. Aleisa (2013). Neurobiological consequences of sleep deprivation. *Curr Neuropharmacol* 11(3).
- Alkondon, M., E. F. Pereira, C. T. Barbosa and E. X. Albuquerque (1997). Neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation modulates gamma-aminobutyric acid release from CA1 neurons of rat hippocampal slices. *J Pharmacol Exp Ther* 283(3).
- Allen, G. V. and D. A. Hopkins (1989). Mamillary body in the rat: topography and synaptology of projections from the subicular complex, prefrontal cortex, and midbrain tegmentum. *J Comp Neurol* 286(3).
- Alonso, A. and E. Garcia-Austt (1987). Neuronal sources of theta rhythm in the entorhinal cortex of the rat. II. Phase relations between unit discharges and theta field potentials. *Exp Brain Res* 67(3).
- Alonso, A. and C. Kohler (1984). A study of the reciprocal connections between the septum and the entorhinal area using anterograde and retrograde axonal transport methods in the rat brain. *J Comp Neurol* 225(3).

- Alonso, A. and R. R. Llinas (1989). Subthreshold Na⁺-dependent theta-like rhythmicity in stellate cells of entorhinal cortex layer II. *Nature* 342(6246).
- Amaral, D. G. and M. P. Witter (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31(3).
- Amaral, O. B., R. S. Vargas, G. Hansel, I. Izquierdo and D. O. Souza (2008). Duration of environmental enrichment influences the magnitude and persistence of its behavioral effects on mice. *Physiol Behav* 93(1-2).
- Ambrosini, M. V. and A. Giuditta (2001). Learning and sleep: the sequential hypothesis. *Sleep Med Rev* 5(6).
- Amilhon, B., C. Y. Huh, F. Manseau, G. Ducharme, H. Nichol, A. Adamantidis and S. Williams (2015). Parvalbumin Interneurons of Hippocampus Tune Population Activity at Theta Frequency. *Neuron* 86(5).
- Andersen, P. (2007). *The Hippocampus Book*, Oxford University Press, USA.
- Andrews-Hanna, J. R., A. Z. Snyder, J. L. Vincent, C. Lustig, D. Head, M. E. Raichle and R. L. Buckner (2007). Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron* 56(5).
- Anzalone, S., J. Roland, B. Vogt and L. Savage (2009). Acetylcholine efflux from retrosplenial areas and hippocampal sectors during maze exploration. *Behav Brain Res* 201(2).
- Aston-Jones, G. and F. E. Bloom (1981). Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 1(8).
- Atallah, B. V. and M. Scanziani (2009). Instantaneous modulation of gamma oscillation frequency by balancing excitation with inhibition. *Neuron* 62(4).
- Auerbach, J. M. and M. Segal (1994). A novel cholinergic induction of long-term potentiation in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 72(4).
- Aura, J. and P. Riekkinen, Jr. (2000). Pre-training blocks the improving effect of tetrahydroaminoacridine and D-cycloserine on spatial navigation performance in aged rats. *Eur J Pharmacol* 390(3).
- Axmacher, N., M. M. Henseler, O. Jensen, I. Weinreich, C. E. Elger and J. Fell (2010). Cross-frequency coupling supports multi-item working memory in the human hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(7).
- Axmacher, N., F. Mormann, G. Fernandez, C. E. Elger and J. Fell (2006). Memory formation by neuronal synchronization. *Brain Res Rev* 52(1).
- Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science* 255(5044).
- Balakrishnan, S. and R. A. Pearce (2014). Spatiotemporal characteristics and pharmacological modulation of multiple gamma oscillations in the CA1 region of the hippocampus. *Front Neural Circuits* 8
- Banuelos, C., C. L. LaSarge, J. A. McQuail, J. J. Hartman, R. J. Gilbert, B. K. Ormerod and J. L. Bizon (2013). Age-related changes in rostral basal forebrain cholinergic and GABAergic projection neurons: relationship with spatial impairment. *Neurobiol Aging* 34(3).

- Barbelivien, A., K. Herbeaux, P. Oberling, C. Kelche, R. Galani and M. Majchrzak (2006). Environmental enrichment increases responding to contextual cues but decreases overall conditioned fear in the rat. *Behav Brain Res* 169(2).
- Barense, M. D., M. T. Fox and M. G. Baxter (2002). Aged rats are impaired on an attentional set-shifting task sensitive to medial frontal cortex damage in young rats. *Learn Mem* 9(4).
- Barker, G. R. and E. C. Warburton (2011). When is the hippocampus involved in recognition memory? *J Neurosci* 31(29).
- Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Physiology and Psychology* 93
- Barnes, C. A. and B. L. McNaughton (1980). Physiological compensation for loss of afferent synapses in rat hippocampal granule cells during senescence. *J Physiol* 309
- Barnes, C. A., B. L. McNaughton and J. O'Keefe (1983). Loss of place specificity in hippocampal complex spike cells of senescent rat. *Neurobiol Aging* 4(2).
- Barnes, C. A., L. Nadel and W. K. Honig (1980). Spatial memory deficit in senescent rats. *Can J Psychol* 34(1).
- Barnes, C. A., G. Rao and F. P. Houston (2000a). LTP induction threshold change in old rats at the perforant path--granule cell synapse. *Neurobiol Aging* 21(5).
- Barnes, C. A., G. Rao and G. Orr (2000b). Age-related decrease in the Schaffer collateral-evoked EPSP in awake, freely behaving rats. *Neural Plast* 7(3).
- Barnes, L. L., C. F. Mendes de Leon, R. S. Wilson, J. L. Bienias and D. A. Evans (2004). Social resources and cognitive decline in a population of older African Americans and whites. *Neurology* 63(12).
- Bartus, R. T., R. L. Dean, 3rd, B. Beer and A. S. Lippa (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217(4558).
- Baskerville, K. A., C. Kent, M. M. Nicolle, M. Gallagher and M. McKinney (2006). Aging causes partial loss of basal forebrain but no loss of pontine reticular cholinergic neurons. *Neuroreport* 17(17).
- Baxter, M. G., D. J. Bucci, L. K. Gorman, R. G. Wiley and M. Gallagher (1995). Selective immunotoxic lesions of basal forebrain cholinergic cells: effects on learning and memory in rats. *Behav Neurosci* 109(4).
- Baxter, M. G., K. M. Frick, D. L. Price, S. J. Breckler, A. L. Markowska and L. K. Gorman (1999). Presynaptic markers of cholinergic function in the rat brain: relationship with age and cognitive status. *Neuroscience* 89(3).
- Baxter, M. G., P. C. Holland and M. Gallagher (1997). Disruption of decrements in conditioned stimulus processing by selective removal of hippocampal cholinergic input. *J Neurosci* 17(13).
- Bell, J. A., P. J. Livesey and J. F. Meyer (2009). Environmental enrichment influences survival rate and enhances exploration and learning but produces variable responses to the radial maze in old rats. *Dev Psychobiol* 51(7).
- Belluscio, M. A., K. Mizuseki, R. Schmidt, R. Kempter and G. Buzsaki (2012). Cross-frequency phase-phase coupling between theta and gamma oscillations in the hippocampus. *J Neurosci* 32(2).

- Benloucif, S., E. L. Bennett and M. R. Rosenzweig (1995). Norepinephrine and neural plasticity: the effects of xylamine on experience-induced changes in brain weight, memory, and behavior. *Neurobiol Learn Mem* 63(1).
- Bennett, E. L., M. C. Diamond, D. Krech and M. R. Rosenzweig (1964). CHEMICAL AND ANATOMICAL PLASTICITY BRAIN. *Science* 146(3644).
- Bennett, I. J., D. J. Madden, C. J. Vaidya, J. H. Howard, Jr. and D. V. Howard (2011). White matter integrity correlates of implicit sequence learning in healthy aging. *Neurobiol Aging* 32(12).
- Bennett, J. C., P. A. McRae, L. J. Levy and K. M. Frick (2006). Long-term continuous, but not daily, environmental enrichment reduces spatial memory decline in aged male mice. *Neurobiol Learn Mem* 85(2).
- Bergado, J. A., W. Almaguer, Y. Rojas, V. Capdevila and J. U. Frey (2011). Spatial and emotional memory in aged rats: a behavioral-statistical analysis. *Neuroscience* 172
- Berke, J. D., M. Okatan, J. Skurski and H. B. Eichenbaum (2004). Oscillatory entrainment of striatal neurons in freely moving rats. *Neuron* 43(6).
- Bernstein, L. (1973). A study of some enriching variables in a free-environment for rats. *J Psychosom Res* 17(2).
- Birch, A. M., N. B. McGarry and A. M. Kelly (2013). Short-term environmental enrichment, in the absence of exercise, improves memory, and increases NGF concentration, early neuronal survival, and synaptogenesis in the dentate gyrus in a time-dependent manner. *Hippocampus* 23(6).
- Bizon, J. L. and M. Gallagher (2003). Production of new cells in the rat dentate gyrus over the lifespan: relation to cognitive decline. *Eur J Neurosci* 18(1).
- Bizon, J. L., C. L. LaSarge, K. S. Montgomery, A. N. McDermott, B. Setlow and W. H. Griffith (2009). Spatial reference and working memory across the lifespan of male Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging* 30(4).
- Bland, B. H. (1986). The physiology and pharmacology of hippocampal formation theta rhythms. *Prog Neurobiol* 26(1).
- Block, A. E., H. Dhanji, S. F. Thompson-Tardif and S. B. Floresco (2007). Thalamic-prefrontal cortical-ventral striatal circuitry mediates dissociable components of strategy set shifting. *Cereb Cortex* 17(7).
- Blokland, A., K. Rutten and J. Prickaerts (2006). Analysis of spatial orientation strategies of male and female Wistar rats in a Morris water escape task. *Behav Brain Res* 171(2).
- Boccaro, C. N., F. Sargolini, V. H. Thoresen, T. Solstad, M. P. Witter, E. I. Moser and M. B. Moser (2010). Grid cells in pre- and parasubiculum. *Nat Neurosci* 13(8).
- Bokil, H., P. Andrews, J. E. Kulkarni, S. Mehta and P. P. Mitra (2010). Chronux: a platform for analyzing neural signals. *J Neurosci Methods* 192(1).
- Borhegyi, Z., V. Varga, N. Szilagy, D. Fabo and T. F. Freund (2004). Phase segregation of medial septal GABAergic neurons during hippocampal theta activity. *J Neurosci* 24(39).

- Bosma, H., M. P. van Boxtel, R. W. Ponds, P. J. Houx and J. Jolles (2000). Pesticide exposure and risk of mild cognitive dysfunction. *Lancet* 356(9233).
- Bosma, H., M. P. van Boxtel, R. W. Ponds, M. Jelicic, P. Houx, J. Metsemakers and J. Jolles (2002). Engaged lifestyle and cognitive function in middle and old-aged, non-demented persons: a reciprocal association? *Z Gerontol Geriatr* 35(6).
- Bott, J.-B., M.-A. Muller, J. Jackson, J. Aubert, J.-C. Cassel, C. Mathis and R. Goutagny (2015). Spatial Reference Memory is Associated with Modulation of Theta–Gamma Coupling in the Dentate Gyrus. *Cerebral Cortex*
- Bouet, V., T. Freret, P. Dutar, J. M. Billard and M. Boulouard (2011). Continuous enriched environment improves learning and memory in adult NMRI mice through theta burst-related-LTP independent mechanisms but is not efficient in advanced aged animals. *Mech Ageing Dev* 132(5).
- Bragin, A., G. Jando, Z. Nadasdy, J. Hetke, K. Wise and G. Buzsaki (1995). Gamma (40-100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J Neurosci* 15(1 Pt 1).
- Bramham, C. R. and B. Srebro (1989). Synaptic plasticity in the hippocampus is modulated by behavioral state. *Brain Res* 493(1).
- Brandon, M. P., J. Koenig and S. Leutgeb (2014). Parallel and convergent processing in grid cell, head-direction cell, boundary cell, and place cell networks. *Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci* 5(2).
- Brankack, J., M. Stewart and S. E. Fox (1993). Current source density analysis of the hippocampal theta rhythm: associated sustained potentials and candidate synaptic generators. *Brain Res* 615(2).
- Brazhnik, E. S., R. U. Muller and S. E. Fox (2003). Muscarinic blockade slows and degrades the location-specific firing of hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* 23(2).
- Brenes, J. C., M. Padilla and J. Fornaguera (2009). A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behav Brain Res* 197(1).
- Bretsky, P., J. M. Guralnik, L. Launer, M. Albert and T. E. Seeman (2003). The role of APOE-epsilon4 in longitudinal cognitive decline: MacArthur Studies of Successful Aging. *Neurology* 60(7).
- Brillaud, E., D. Morillion and R. de Seze (2005). Modest environmental enrichment: effect on a radial maze validation and well being of rats. *Brain Res* 1054(2).
- Brown, K. J. and N. E. Grunberg (1995). Effects of housing on male and female rats: crowding stresses male but calm females. *Physiol Behav* 58(6).
- Bruel-Jungerman, E., S. Laroche and C. Rampon (2005). New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *Eur J Neurosci* 21(2).
- Bucci, D. J., A. A. Chiba and M. Gallagher (1995). Spatial learning in male and female Long-Evans rats. *Behav Neurosci* 109(1).
- Buechel, H. M., J. Popovic, J. L. Searcy, N. M. Porter, O. Thibault and E. M. Blalock (2011). Deep sleep and parietal cortex gene expression changes are related to cognitive deficits with age. *PLoS One* 6(4).

- Buhl, E. H., K. Halasy and P. Somogyi (1994a). Diverse sources of hippocampal unitary inhibitory postsynaptic potentials and the number of synaptic release sites. *Nature* 368(6474).
- Buhl, E. H., Z. S. Han, Z. Lorinczi, V. V. Stezhka, S. V. Karnup and P. Somogyi (1994b). Physiological properties of anatomically identified axo-axonic cells in the rat hippocampus. *J Neurophysiol* 71(4).
- Bunge, S. A., K. N. Ochsner, J. E. Desmond, G. H. Glover and J. D. Gabrieli (2001). Prefrontal regions involved in keeping information in and out of mind. *Brain* 124(Pt 10).
- Burke, S. N. and C. A. Barnes (2010). Senescent synapses and hippocampal circuit dynamics. *Trends Neurosci* 33(3).
- Buschler, A. and D. Manahan-Vaughan (2012). Brief environmental enrichment elicits metaplasticity of hippocampal synaptic potentiation in vivo. *Front Behav Neurosci* 6
- Bussey, T. J., J. Duck, J. L. Muir and J. P. Aggleton (2000). Distinct patterns of behavioural impairments resulting from fornix transection or neurotoxic lesions of the perirhinal and postrhinal cortices in the rat. *Behav Brain Res* 111(1-2).
- Buzsaki, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33(3).
- Buzsaki, G., J. Czopf, I. Kondakor and L. Kellenyi (1986). Laminar distribution of hippocampal rhythmic slow activity (RSA) in the behaving rat: current-source density analysis, effects of urethane and atropine. *Brain Res* 365(1).
- Cabeza, R., N. D. Anderson, J. K. Locantore and A. R. McIntosh (2002). Aging Gracefully: Compensatory Brain Activity in High-Performing Older Adults. *NeuroImage* 17(3).
- Cabeza, R. and L. Nyberg (2000). Neural bases of learning and memory: functional neuroimaging evidence. *Curr Opin Neurol* 13(4).
- Cadar, D., H. Pikhart, G. Mishra, A. Stephen, D. Kuh and M. Richards (2012). The role of lifestyle behaviors on 20-year cognitive decline. *J Aging Res* 2012
- Cadenas, E. and K. J. Davies (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* 29(3-4).
- Calabrese, F., G. Guidotti, G. Racagni and M. A. Riva (2013). Reduced neuroplasticity in aged rats: a role for the neurotrophin brain-derived neurotrophic factor. *Neurobiol Aging* 34(12).
- Calero-Garcia, M. D., E. Navarro-Gonzalez and L. Munoz-Manzano (2007). Influence of level of activity on cognitive performance and cognitive plasticity in elderly persons. *Arch Gerontol Geriatr* 45(3).
- Calton, J. L. and J. S. Taube (2009). Where am I and how will I get there from here? A role for posterior parietal cortex in the integration of spatial information and route planning. *Neurobiol Learn Mem* 91(2).
- Canas, P. M., J. M. Duarte, R. J. Rodrigues, A. Kofalvi and R. A. Cunha (2009). Modification upon aging of the density of presynaptic modulation systems in the hippocampus. *Neurobiol Aging* 30(11).
- Carp, J., L. Gmeindl and P. A. Reuter-Lorenz (2010). Age differences in the neural representation of working memory revealed by multi-voxel pattern analysis. *Front Hum Neurosci* 4

- Carr, M. F., M. P. Karlsson and L. M. Frank (2012). Transient slow gamma synchrony underlies hippocampal memory replay. *Neuron* 75(4).
- Casadesus, G., B. Shukitt-Hale and J. A. Joseph (2001). Automated measurement of age-related changes in the locomotor response to environmental novelty and home-cage activity. *Mech Ageing Dev* 122(15).
- Cassel, J. C., A. Lazaris, A. Birtheimer and R. Jackisch (2007). Spatial reference- (not working- or procedural-) memory performance of aged rats in the water maze predicts the magnitude of sulphiride-induced facilitation of acetylcholine release by striatal slices. *Neurobiol Aging* 28(8).
- Cenquizca, L. A. and L. W. Swanson (2007). Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Res Rev* 56(1).
- Chalfonte, B. L. and M. K. Johnson (1996). Feature memory and binding in young and older adults. *Mem Cognit* 24(4).
- Charpak, S., D. Pare and R. Llinas (1995). The entorhinal cortex entrains fast CA1 hippocampal oscillations in the anaesthetized guinea-pig: role of the monosynaptic component of the perforant path. *Eur J Neurosci* 7(7).
- Cherdiou, M., E. Reynaud, J. Uhrich, R. Versace and S. Mazza (2014). Does age worsen sleep-dependent memory consolidation? *J Sleep Res* 23(1).
- Cherry, K. E. and D. C. Park (1993). Individual difference and contextual variables influence spatial memory in younger and older adults. *Psychol Aging* 8(4).
- Chouinard, M. L., M. Gallagher, R. P. Yasuda, B. B. Wolfe and M. McKinney (1995). Hippocampal muscarinic receptor function in spatial learning-impaired aged rats. *Neurobiol Aging* 16(6).
- Christensen, H., A. E. Korten, A. F. Jorm, A. S. Henderson, P. A. Jacomb, B. Rodgers and A. J. Mackinnon (1997). EDUCATION AND DECLINE IN COGNITIVE PERFORMANCE: COMPENSATORY BUT NOT PROTECTIVE. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 12(3).
- Christensen, H., A. J. Mackinnon, A. E. Korten, A. F. Jorm, A. S. Henderson, P. Jacomb and B. Rodgers (1999). An analysis of diversity in the cognitive performance of elderly community dwellers: individual differences in change scores as a function of age. *Psychol Aging* 14(3).
- Chrobak, J. J. and G. Buzsaki (1998). Gamma oscillations in the entorhinal cortex of the freely behaving rat. *J Neurosci* 18(1).
- Clayton, D. A., M. H. Mesches, E. Alvarez, P. C. Bickford and M. D. Browning (2002). A hippocampal NR2B deficit can mimic age-related changes in long-term potentiation and spatial learning in the Fischer 344 rat. *J Neurosci* 22(9).
- Clement, P., A. Gharib, R. Cespuoglio and N. Sarda (2003). Changes in the sleep-wake cycle architecture and cortical nitric oxide release during ageing in the rat. *Neuroscience* 116(3).
- Cobb, S. R. and C. H. Davies (2005). Cholinergic modulation of hippocampal cells and circuits. *J Physiol* 562(Pt 1).
- Colcombe, S. J., K. I. Erickson, P. E. Scalf, J. S. Kim, R. Prakash, E. McAuley, S. Elavsky, D. X. Marquez, L. Hu and A. F. Kramer (2006). Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61(11).

- Colgin, L. L., T. Denninger, M. Fyhn, T. Hafting, T. Bonnevie, O. Jensen, M. B. Moser and E. I. Moser (2009). Frequency of gamma oscillations routes flow of information in the hippocampus. *Nature* 462(7271).
- Colgin, L. L. and E. I. Moser (2010). Gamma oscillations in the hippocampus. *Physiology (Bethesda)* 25(5).
- Colom, L. V., M. T. Castaneda, T. Reyna, S. Hernandez and E. Garrido-Sanabria (2005). Characterization of medial septal glutamatergic neurons and their projection to the hippocampus. *Synapse* 58(3).
- Colombo, P. J. and M. Gallagher (1998). Individual differences in spatial memory and striatal ChAT activity among young and aged rats. *Neurobiol Learn Mem* 70(3).
- Cost, K. T., Z. N. Williams-Yee, J. N. Fustok and G. P. Dohanich (2012). Sex differences in object-in-place memory of adult rats. *Behav Neurosci* 126(3).
- Cross, L., M. W. Brown, J. P. Aggleton and E. C. Warburton (2012). The medial dorsal thalamic nucleus and the medial prefrontal cortex of the rat function together to support associative recognition and recency but not item recognition. *Learn Mem* 20(1).
- Cruz-Sanchez, F. F., A. Cardozo and E. Tolosa (1995). Neuronal changes in the substantia nigra with aging: a Golgi study. *J Neuropathol Exp Neurol* 54(1).
- Cummins, R. A., R. N. Walsh, O. E. Budtz-Olsen, T. Konstantinos and C. R. Horsfall (1973). Environmentally-induced changes in the brains of elderly rats. *Nature* 243(5409).
- Cutler, R. G. and M. P. Mattson (2006). The adversities of aging. *Ageing Res Rev* 5(3).
- Danckert, S. L. and F. I. Craik (2013). Does aging affect recall more than recognition memory? *Psychol Aging* 28(4).
- Dannenberg, H., M. Pabst, O. Braganza, S. Schoch and J. Niediek (2015). Synergy of direct and indirect cholinergic septo-hippocampal pathways coordinates firing in hippocampal networks. 35(22).
- Day, L. B. and T. Schallert (1996). Anticholinergic effects on acquisition of place learning in the Morris water task: spatial mapping deficit or inability to inhibit nonplace strategies? *Behav Neurosci* 110(5).
- de Brabander, J. M., R. J. Kramers and H. B. Uylings (1998). Layer-specific dendritic regression of pyramidal cells with ageing in the human prefrontal cortex. *Eur J Neurosci* 10(4).
- Del Arco, A., G. Segovia, P. Garrido, M. de Blas and F. Mora (2007). Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. *Behav Brain Res* 176(2).
- Depp, C., I. V. Vahia and D. Jeste (2010). Successful Aging: Focus on Cognitive and Emotional Health. *Annual Review of Clinical Psychology* 6(1).
- Descarries, L., N. Mechawar, N. Aznavour and K. C. Watkins (2004). Structural determinants of the roles of acetylcholine in cerebral cortex. *Prog Brain Res* 145
- Deshmukh, S. S., D. Yoganarasimha, H. Voicu and J. J. Knierim (2010). Theta modulation in the medial and the lateral entorhinal cortices. *J Neurophysiol* 104(2).

- Deupree, D. L., D. A. Turner and C. L. Watters (1991). Spatial performance correlates with in vitro potentiation in young and aged Fischer 344 rats. *Brain Res* 554(1-2).
- Devan, B. D., E. H. Goad and H. L. Petri (1996). Dissociation of hippocampal and striatal contributions to spatial navigation in the water maze. *Neurobiol Learn Mem* 66(3).
- Devan, B. D., R. J. McDonald and N. M. White (1999). Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place- and cue-guided behaviors in the water maze: relation to thigmotaxis. *Behav Brain Res* 100(1-2).
- Dhanushkodi, A., B. Bindu, T. R. Raju and B. M. Kutty (2007). Exposure to enriched environment improves spatial learning performances and enhances cell density but not choline acetyltransferase activity in the hippocampus of ventral subicular-lesioned rats. *Behav Neurosci* 121(3).
- Diamond, M. C., R. E. Johnson, A. M. Protti, C. Ott and L. Kajisa (1985). Plasticity in the 904-day-old male rat cerebral cortex. *Exp Neurol* 87(2).
- Diamond, M. C., F. Law, H. Rhodes, B. Lindner, M. R. Rosenzweig, D. Krech and E. L. Bennett (1966). Increases in cortical depth and glia numbers in rats subjected to enriched environment. *J Comp Neurol* 128(1).
- Dix, S. L. and J. P. Aggleton (1999). Extending the spontaneous preference test of recognition: evidence of object-location and object-context recognition. *Behavioural Brain Research* 99(2).
- Donato, F., S. B. Rompani and P. Caroni (2013). Parvalbumin-expressing basket-cell network plasticity induced by experience regulates adult learning. *Nature* 504(7479).
- Douchamps, V., A. Jeewajee, P. Blundell, N. Burgess and C. Lever (2013). Evidence for encoding versus retrieval scheduling in the hippocampus by theta phase and acetylcholine. *J Neurosci* 33(20).
- Driscoll, I., S. R. Howard, J. C. Stone, M. H. Monfils, B. Tomanek, W. M. Brooks and R. J. Sutherland (2006). The aging hippocampus: a multi-level analysis in the rat. *Neuroscience* 139(4).
- Dudchenko, P. A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 28(7).
- Duzel, E., H. Schutze, A. P. Yonelinas and H. J. Heinze (2011). Functional phenotyping of successful aging in long-term memory: Preserved performance in the absence of neural compensation. *Hippocampus* 21(8).
- Eckert, M. J. and W. C. Abraham (2013). Effects of environmental enrichment exposure on synaptic transmission and plasticity in the hippocampus. *Curr Top Behav Neurosci* 15
- El Mestikawy, S., A. Wallen-Mackenzie, G. M. Fortin, L. Descarries and L. E. Trudeau (2011). From glutamate co-release to vesicular synergy: vesicular glutamate transporters. *Nat Rev Neurosci* 12(4).
- Ellenbogen, J. M., J. C. Hulbert, R. Stickgold, D. F. Dinges and S. L. Thompson-Schill (2006a). Interfering with theories of sleep and memory: sleep, declarative memory, and associative interference. *Curr Biol* 16(13).
- Ellenbogen, J. M., J. D. Payne and R. Stickgold (2006b). The role of sleep in declarative memory consolidation: passive, permissive, active or none? *Curr Opin Neurobiol* 16(6).
- Elliott, B. M. and N. E. Grunberg (2005). Effects of social and physical enrichment on open field activity differ in male and female Sprague-Dawley rats. *Behav Brain Res* 165(2).

- Ertel, K. A., M. M. Glymour and L. F. Berkman (2008). Effects of social integration on preserving memory function in a nationally representative US elderly population. *Am J Public Health* 98(7).
- Etienne, V., C. Marin-Lamellet and B. Laurent (2008). [Executive functioning in normal aging]. *Rev Neurol (Paris)* 164(12).
- Faherty, C. J., D. Kerley and R. J. Smeyne (2003). A Golgi-Cox morphological analysis of neuronal changes induced by environmental enrichment. *Brain Res Dev Brain Res* 141(1-2).
- Fanselow, M. S. and H. W. Dong (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65(1).
- Faraji, J., G. A. Metz and R. J. Sutherland (2010). Characterization of spatial performance in male and female Long-Evans rats by means of the Morris water task and the ziggurat task. *Brain Research Bulletin* 81(1).
- Farmer, M. E., S. J. Kittner, D. S. Rae, J. J. Bartko and D. A. Regier (1995). Education and change in cognitive function: The Epidemiologic Catchment Area Study. *Annals of Epidemiology* 5(1).
- Febinger, H. Y., A. George, J. Priestley, L. A. Toth and M. R. Opp (2014). Effects of housing condition and cage change on characteristics of sleep in mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 53(1).
- Fell, J. and N. Axmacher (2011). The role of phase synchronization in memory processes. *Nat Rev Neurosci* 12(2).
- Fernandez-Teruel, A., P. Driscoll, L. Gil, R. Aguilar, A. Tobena and R. M. Escorihuela (2002). Enduring effects of environmental enrichment on novelty seeking, saccharin and ethanol intake in two rat lines (RHA/Verh and RLA/Verh) differing in incentive-seeking behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 73(1).
- Fernandez de Sevilla, D. and W. Buno (2003). Presynaptic inhibition of Schaffer collateral synapses by stimulation of hippocampal cholinergic afferent fibres. *Eur J Neurosci* 17(3).
- Figurov, A., L. D. Pozzo-Miller, P. Olafsson, T. Wang and B. Lu (1996). Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature* 381(6584).
- Fisahn, A., F. G. Pike, E. H. Buhl and O. Paulsen (1998). Cholinergic induction of network oscillations at 40 Hz in the hippocampus in vitro. *Nature* 394(6689).
- Fischer, W., K. S. Chen, F. H. Gage and A. Bjorklund (1992). Progressive decline in spatial learning and integrity of forebrain cholinergic neurons in rats during aging. *Neurobiol Aging* 13(1).
- Flood, D. G., S. J. Buell, C. H. Defiore, G. J. Horwitz and P. D. Coleman (1985). Age-related dendritic growth in dentate gyrus of human brain is followed by regression in the 'oldest old'. *Brain Res* 345(2).
- Foster, T. C., R. A. Defazio and J. L. Bizon (2012). Characterizing cognitive aging of spatial and contextual memory in animal models. *Front Aging Neurosci* 4
- Foster, T. C. and T. C. Dumas (2001). Mechanism for increased hippocampal synaptic strength following differential experience. *J Neurophysiol* 85(4).

- Foster, T. C. and A. Kumar (2007). Susceptibility to induction of long-term depression is associated with impaired memory in aged Fischer 344 rats. *Neurobiol Learn Mem* 87(4).
- Fouquet, C., B. M. Babayan, A. Watilliaux, B. Bontempi, C. Tobin and L. Rondi-Reig (2013). Complementary Roles of the Hippocampus and the Dorsomedial Striatum during Spatial and Sequence-Based Navigation Behavior. *PLoS One* 8(6).
- Freret, T., J. M. Billard, P. Schumann-Bard, P. Dutar, F. Dauphin, M. Boulouard and V. Bouet (2012). Rescue of cognitive aging by long-lasting environmental enrichment exposure initiated before median lifespan. *Neurobiology of Aging* 33(5).
- Freund, T. F. (1989). GABAergic septohippocampal neurons contain parvalbumin. *Brain Res* 478(2).
- Freund, T. F. and M. Antal (1988). GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature* 336(6195).
- Frick, K. M., M. G. Baxter, A. L. Markowska, D. S. Olton and D. L. Price (1995). Age-related spatial reference and working memory deficits assessed in the water maze. *Neurobiol Aging* 16(2).
- Frick, K. M. and S. M. Fernandez (2003). Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiology of Aging* 24(4).
- Fries, P. (2005). A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends Cogn Sci* 9(10).
- Fries, P., J. H. Reynolds, A. E. Rorie and R. Desimone (2001). Modulation of oscillatory neuronal synchronization by selective visual attention. *Science* 291(5508).
- Fritsch, T., M. J. McClendon, K. A. Smyth, A. J. Lerner, R. P. Friedland and J. D. Larsen (2007). Cognitive functioning in healthy aging: the role of reserve and lifestyle factors early in life. *Gerontologist* 47(3).
- Frotscher, M., M. Schlander and C. Leranth (1986). Cholinergic neurons in the hippocampus. A combined light- and electron-microscopic immunocytochemical study in the rat. *Cell Tissue Res* 246(2).
- Furtak, S. C., O. J. Ahmed and R. D. Burwell (2012). Single neuron activity and theta modulation in postrhinal cortex during visual object discrimination. *Neuron* 76(5).
- Furtak, S. C., S. M. Wei, K. L. Agster and R. D. Burwell (2007). Functional neuroanatomy of the parahippocampal region in the rat: the perirhinal and postrhinal cortices. *Hippocampus* 17(9).
- Fyhn, M., S. Molden, M. P. Witter, E. I. Moser and M. B. Moser (2004). Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science* 305(5688).
- Gage, F. H., S. B. Dunnett and A. Bjorklund (1984). Spatial learning and motor deficits in aged rats. *Neurobiol Aging* 5(1).
- Gallagher, M., R. Burwell and M. Burchinal (1993). Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav Neurosci* 107(4).
- Gallagher, M. and R. D. Burwell (1989). Relationship of age-related decline across several behavioral domains. *Neurobiol Aging* 10(6).

Gallagher, M., C. Colantuoni, H. Eichenbaum, R. P. Haberman, P. R. Rapp, H. Tanila and I. A. Wilson (2006). Individual differences in neurocognitive aging of the medial temporal lobe. *Age (Dordr)* 28(3).

Gallagher, M. and M. A. Pelleymounter (1988). Spatial learning deficits in old rats: a model for memory decline in the aged. *Neurobiol Aging* 9(5-6).

Gaykema, R. P., P. G. Luiten, C. Nyakas and J. Traber (1990). Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *J Comp Neurol* 293(1).

Geinisman, Y., L. de Toledo-Morrell and F. Morrell (1986). Aged rats need a preserved complement of perforated axospinous synapses per hippocampal neuron to maintain good spatial memory. *Brain Res* 398(2).

Geinisman, Y., O. Ganeshina, R. Yoshida, R. W. Berry, J. F. Disterhoft and M. Gallagher (2004). Aging, spatial learning, and total synapse number in the rat CA1 stratum radiatum. *Neurobiol Aging* 25(3).

Genzel, L., M. C. Kroes, M. Dresler and F. P. Battaglia (2014). Light sleep versus slow wave sleep in memory consolidation: a question of global versus local processes? *Trends Neurosci* 37(1).

George, O., A. Parducz, D. Dupret, M. Kharouby, M. Le Moal, P. V. Piazza and W. Mayo (2006). Smad-dependent alterations of PPT cholinergic neurons as a pathophysiological mechanism of age-related sleep-dependent memory impairments. *Neurobiol Aging* 27(12).

Germroth, P., W. K. Schwerdtfeger and E. H. Buhl (1989). GABAergic neurons in the entorhinal cortex project to the hippocampus. *Brain Res* 494(1).

Gervasoni, D., S. C. Lin, S. Ribeiro, E. S. Soares, J. Pantoja and M. A. Nicolelis (2004). Global forebrain dynamics predict rat behavioral states and their transitions. *J Neurosci* 24(49).

Ghirardi, O., A. Giuliani, A. Caprioli, M. T. Ramacci and L. Angelucci (1992). Spatial memory in aged rats: population heterogeneity and effect of levocarnitine acetyl. *J Neurosci Res* 31(2).

Gilad, G. M., J. M. Rabey, Y. Tizabi and V. H. Gilad (1987). Age-dependent loss and compensatory changes of septohippocampal cholinergic neurons in two rat strains differing in longevity and response to stress. *Brain Res* 436(2).

Giovannini, M. G., A. Rakovska, R. S. Benton, M. Pazzagli, L. Bianchi and G. Pepeu (2001). Effects of novelty and habituation on acetylcholine, GABA, and glutamate release from the frontal cortex and hippocampus of freely moving rats. *Neuroscience* 106(1).

Girardeau, G. and M. Zugaro (2011). Hippocampal ripples and memory consolidation. *Curr Opin Neurobiol* 21(3).

Girbovan, C. and H. Plamondon (2013). Environmental enrichment in female rodents: considerations in the effects on behavior and biochemical markers. *Behav Brain Res* 253

Glahn, D. C., J. W. Kent, Jr., E. Sprooten, V. P. Diego, A. M. Winkler, J. E. Curran, D. R. McKay, E. E. Knowles, M. A. Carless, H. H. Goring, T. D. Dyer, R. L. Olvera, P. T. Fox, L. Almasy, J. Charlesworth, P. Kochunov, R. Duggirala and J. Blangero (2013). Genetic basis of neurocognitive decline and reduced white-matter integrity in normal human brain aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(47).

- Glatt, S. J., P. Chayavichitsilp, C. Depp, N. J. Schork and D. V. Jeste (2007). Successful aging: from phenotype to genotype. *Biol Psychiatry* 62(4).
- Gloveli, T., D. Schmitz, R. M. Empson and U. Heinemann (1997). Frequency-dependent information flow from the entorhinal cortex to the hippocampus. *J Neurophysiol* 78(6).
- Gonzalez-Sulser, A., D. Parthier, A. Candela, C. McClure, H. Pastoll, D. Garden, G. Surmeli and M. F. Nolan (2014). GABAergic projections from the medial septum selectively inhibit interneurons in the medial entorhinal cortex. *J Neurosci* 34(50).
- Gordon, J. A., C. O. Lacefield, C. G. Kentros and R. Hen (2005). State-dependent alterations in hippocampal oscillations in serotonin 1A receptor-deficient mice. *J Neurosci* 25(28).
- Gottesmann, C. (1992). Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 16(1).
- Goutagny, R., J. Jackson and S. Williams (2009). Self-generated theta oscillations in the hippocampus. *Nat Neurosci* 12(12).
- Gow, A. J., M. E. Bastin, S. Munoz Maniega, M. C. Valdes Hernandez, Z. Morris, C. Murray, N. A. Royle, J. M. Starr, I. J. Deary and J. M. Wardlaw (2012). Neuroprotective lifestyles and the aging brain: activity, atrophy, and white matter integrity. *Neurology* 79(17).
- Granon, S. and B. Poucet (1995). Medial prefrontal lesions in the rat and spatial navigation: evidence for impaired planning. *Behav Neurosci* 109(3).
- Gras, C., B. Amilhon, E. M. Lopicard, O. Poirel, J. Vinatier, M. Herbin, S. Dumas, E. T. Tzavara, M. R. Wade, G. G. Nomikos, N. Hanoun, F. Saurini, M. L. Kemel, B. Gasnier, B. Giros and S. El Mestikawy (2008). The vesicular glutamate transporter VGLUT3 synergizes striatal acetylcholine tone. *Nat Neurosci* 11(3).
- Gras, C., E. Herzog, G. C. Bellenchi, V. Bernard, P. Ravassard, M. Pohl, B. Gasnier, B. Giros and S. El Mestikawy (2002). A third vesicular glutamate transporter expressed by cholinergic and serotonergic neurons. *J Neurosci* 22(13).
- Gray, C. M., P. Konig, A. K. Engel and W. Singer (1989). Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338(6213).
- Gray, R., A. S. Rajan, K. A. Radcliffe, M. Yakehiro and J. A. Dani (1996). Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature* 383(6602).
- Green, A. F., G. Rebok and C. G. Lyketsos (2008). Influence of social network characteristics on cognition and functional status with aging. *Int J Geriatr Psychiatry* 23(9).
- Greenough, W. T., F. R. Volkmar and J. M. Juraska (1973). Effects of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and temporal cortex of the rat. *Exp Neurol* 41(2).
- Gritti, I., P. Henny, F. Galloni, L. Mainville, M. Mariotti and B. E. Jones (2006). Stereological estimates of the basal forebrain cell population in the rat, including neurons containing choline acetyltransferase, glutamic acid decarboxylase or phosphate-activated glutaminase and colocalizing vesicular glutamate transporters. *Neuroscience* 143(4).
- Guan, Z., X. Peng and J. Fang (2004). Sleep deprivation impairs spatial memory and decreases extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in the hippocampus. *Brain Res* 1018(1).

- Guidi, M., A. Kumar, A. Rani and T. C. Foster (2014). Assessing the emergence and reliability of cognitive decline over the life span in Fisher 344 rats using the spatial water maze. *Front Aging Neurosci* 6
- Gunning-Dixon, F. M. and N. Raz (2003). Neuroanatomical correlates of selected executive functions in middle-aged and older adults: a prospective MRI study. *Neuropsychologia* 41(14).
- Gutwein, B. M. and W. Fishbein (1980a). Paradoxical sleep and memory (I): Selective alterations following enriched and impoverished environmental rearing. *Brain Res Bull* 5(1).
- Gutwein, B. M. and W. Fishbein (1980b). Paradoxical sleep and memory (II): sleep circadian rhythmicity following enriched and impoverished environmental rearing. *Brain Res Bull* 5(2).
- Hagan, J. J., J. D. Salamone, J. Simpson, S. D. Iversen and R. G. Morris (1988). Place navigation in rats is impaired by lesions of medial septum and diagonal band but not nucleus basalis magnocellularis. *Behav Brain Res* 27(1).
- Hajos, N. and O. Paulsen (2009). Network mechanisms of gamma oscillations in the CA3 region of the hippocampus. *Neural Netw* 22(8).
- Hajszan, T., M. Alreja and C. Leranth (2004). Intrinsic vesicular glutamate transporter 2-immunoreactive input to septohippocampal parvalbumin-containing neurons: novel glutamatergic local circuit cells. *Hippocampus* 14(4).
- Hall, F. S. (1998). Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Crit Rev Neurobiol* 12(1-2).
- Han, S. H., B. A. McCool, D. Murchison, S. S. Nahm, A. R. Parrish and W. H. Griffith (2002). Single-cell RT-PCR detects shifts in mRNA expression profiles of basal forebrain neurons during aging. *Brain Res Mol Brain Res* 98(1-2).
- Hansalik, M., M. Skalicky and A. Viidik (2006). Impairment of water maze behaviour with ageing is counteracted by maze learning earlier in life but not by physical exercise, food restriction or housing conditions. *Exp Gerontol* 41(2).
- Harati, H., A. Barbelivien, K. Herbeaux, M.-A. Muller, M. Engeln, C. Kelche, J.-C. Cassel and M. Majchrzak (2013). Lifelong environmental enrichment in rats: impact on emotional behavior, spatial memory vividness, and cholinergic neurons over the lifespan. *AGE* 35(4).
- Harati, H., M. Majchrzak, B. Cosquer, R. Galani, C. Kelche, J.-C. Cassel and A. Barbelivien (2011). Attention and memory in aged rats: Impact of lifelong environmental enrichment. *Neurobiology of Aging* 32(4).
- Harburger, L. L., T. J. Lambert and K. M. Frick (2007). Age-dependent effects of environmental enrichment on spatial reference memory in male mice. *Behav Brain Res* 185(1).
- Harris, K. D., J. Csicsvari, H. Hirase, G. Dragoi and G. Buzsaki (2003). Organization of cell assemblies in the hippocampus. *Nature* 424(6948).
- Hartley, T., C. Lever, N. Burgess and J. O'Keefe (2014). Space in the brain: how the hippocampal formation supports spatial cognition. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369(1635).
- Hasselmo, M. E., C. Bodelon and B. P. Wyble (2002). A proposed function for hippocampal theta rhythm: separate phases of encoding and retrieval enhance reversal of prior learning. *Neural Comput* 14(4).

- Hasselmo, M. E. and J. McGaughy (2004). High acetylcholine levels set circuit dynamics for attention and encoding and low acetylcholine levels set dynamics for consolidation. *Prog Brain Res* 145
- Hasselmo, M. E. and M. Sarter (2011). Modes and models of forebrain cholinergic neuromodulation of cognition. *Neuropsychopharmacology* 36(1).
- Hasselmo, M. E. and E. Schnell (1994). Laminar selectivity of the cholinergic suppression of synaptic transmission in rat hippocampal region CA1: computational modeling and brain slice physiology. *J Neurosci* 14(6).
- Hasselmo, M. E., E. Schnell and E. Barkai (1995). Dynamics of learning and recall at excitatory recurrent synapses and cholinergic modulation in rat hippocampal region CA3. *J Neurosci* 15(7 Pt 2).
- Hasselmo, M. E. and C. E. Stern (2014). Theta rhythm and the encoding and retrieval of space and time. *Neuroimage* 85 Pt 2
- Head, D. and M. Isom (2010). Age effects on wayfinding and route learning skills. *Behav Brain Res* 209(1).
- Hebb, D. O. (1947). The effects of early experience on problem solving at maturity. *American Psychologist* 2
- Hebb, D. O. (1949). *The Organization of Behavior*. New York, Wiley & Sons.
- Hentschke, H., M. G. Perkins, R. A. Pearce and M. I. Banks (2007). Muscarinic blockade weakens interaction of gamma with theta rhythms in mouse hippocampus. *Eur J Neurosci* 26(6).
- Herskind, A. M., M. McGue, N. V. Holm, T. I. Sorensen, B. Harvald and J. W. Vaupel (1996). The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900. *Hum Genet* 97(3).
- Herzog, E., G. C. Bellenchi, C. Gras, V. Bernard, P. Ravassard, C. Bedet, B. Gasnier, B. Giros and S. El Mestikawy (2001). The existence of a second vesicular glutamate transporter specifies subpopulations of glutamatergic neurons. *J Neurosci* 21(22).
- Hinman, J. R., S. C. Penley, L. L. Long, M. A. Escabi and J. J. Chrobak (2011). Septotemporal variation in dynamics of theta: speed and habituation. *J Neurophysiol* 105(6).
- Hirase, H. and Y. Shinohara (2014). Transformation of cortical and hippocampal neural circuit by environmental enrichment. *Neuroscience* 280
- Hofer, S. M. and M. J. Sliwinski (2001). Understanding Ageing. An evaluation of research designs for assessing the interdependence of ageing-related changes. *Gerontology* 47(6).
- Holloszy, J. O. (1992). Exercise and food restriction in rats. *J Nutr* 122(3 Suppl).
- Houser, C. R., G. D. Crawford, P. M. Salvaterra and J. E. Vaughn (1985). Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat cerebral cortex: a study of cholinergic neurons and synapses. *J Comp Neurol* 234(1).
- Houston, F. P., G. D. Stevenson, B. L. McNaughton and C. A. Barnes (1999). Effects of age on the generalization and incubation of memory in the F344 rat. *Learn Mem* 6(2).

- Howard, D. V. and J. H. Howard, Jr. (1989). Age differences in learning serial patterns: direct versus indirect measures. *Psychol Aging* 4(3).
- Howard, M. W., D. S. Rizzuto, J. B. Caplan, J. R. Madsen, J. Lisman, R. Aschenbrenner-Scheibe, A. Schulze-Bonhage and M. J. Kahana (2003). Gamma oscillations correlate with working memory load in humans. *Cereb Cortex* 13(12).
- Huang, F. L., K. P. Huang and C. Boucheron (2007). Long-term enrichment enhances the cognitive behavior of the aging neurogranin null mice without affecting their hippocampal LTP. *Learn Mem* 14(8).
- Huang, Y. L., R. Y. Liu, Q. S. Wang, E. J. Van Someren, H. Xu and J. N. Zhou (2002). Age-associated difference in circadian sleep-wake and rest-activity rhythms. *Physiol Behav* 76(4-5).
- Huerta, P. T. and J. E. Lisman (1995). Bidirectional synaptic plasticity induced by a single burst during cholinergic theta oscillation in CA1 in vitro. *Neuron* 15(5).
- Huh, C. Y., R. Goutagny and S. Williams (2010). Glutamatergic neurons of the mouse medial septum and diagonal band of Broca synaptically drive hippocampal pyramidal cells: relevance for hippocampal theta rhythm. *J Neurosci* 30(47).
- Hullinger, R. and C. Burger (2015). Learning impairments identified early in life are predictive of future impairments associated with aging. *Behav Brain Res* 294
- Hullinger, R., K. O'Riordan and C. Burger (2015). Environmental enrichment improves learning and memory and long-term potentiation in young adult rats through a mechanism requiring mGluR5 signaling and sustained activation of p70s6k. *Neurobiol Learn Mem*
- Hultsch, D. F., C. Hertzog, B. J. Small and R. A. Dixon (1999). Use it or lose it: engaged lifestyle as a buffer of cognitive decline in aging? *Psychol Aging* 14(2).
- Hutcheon, B. and Y. Yarom (2000). Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons. *Trends Neurosci* 23(5).
- Huxter, J. R., J. A. Miranda and R. Dias (2012). The hippocampal physiology of approaching middle-age: early indicators of change. *Hippocampus* 22(9).
- Ickes, B. R., T. M. Pham, L. A. Sanders, D. S. Albeck, A. H. Mohammed and A. C. Granholm (2000). Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp Neurol* 164(1).
- Igarashi, K. M., L. Lu, L. L. Colgin, M. B. Moser and E. I. Moser (2014). Coordination of entorhinal-hippocampal ensemble activity during associative learning. *Nature* 510(7503).
- Ihle, A., M. Oris, D. Fagot, M. Baeriswyl, E. Guichard and M. Kliegel (2015). The Association of Leisure Activities in Middle Adulthood with Cognitive Performance in Old Age: The Moderating Role of Educational Level. *Gerontology*
- Ikonen, S., R. McMahan, M. Gallagher, H. Eichenbaum and H. Tanila (2002). Cholinergic system regulation of spatial representation by the hippocampus. *Hippocampus* 12(3).
- Ingram, D. K., E. D. London and M. A. Reynolds (1982). Circadian rhythmicity and sleep: effects of aging in laboratory animals. *Neurobiol Aging* 3(4).

- Inostroza, M., S. Binder and J. Born (2013). Sleep-dependency of episodic-like memory consolidation in rats. *Behav Brain Res* 237
- Iuvone, L., M. C. Geloso and E. Dell'Anna (1996). Changes in open field behavior, spatial memory, and hippocampal parvalbumin immunoreactivity following enrichment in rats exposed to neonatal anoxia. *Exp Neurol* 139(1).
- Jacobs, B., M. Schall and A. B. Scheibel (1993). A quantitative dendritic analysis of Wernicke's area in humans. II. Gender, hemispheric, and environmental factors. *J Comp Neurol* 327(1).
- Jacobson, T. K., M. D. Howe, B. Schmidt, J. R. Hinman, M. A. Escabi and E. J. Markus (2013). Hippocampal theta, gamma, and theta-gamma coupling: effects of aging, environmental change, and cholinergic activation. *J Neurophysiol* 109(7).
- Jasper, H. H. and J. Tessier (1971). Acetylcholine liberation from cerebral cortex during paradoxical (REM) sleep. *Science* 172(3983).
- Jeewajee, A., C. Lever, S. Burton, J. O'Keefe and N. Burgess (2008). Environmental novelty is signaled by reduction of the hippocampal theta frequency. *Hippocampus* 18(4).
- Jenkins, J. G. and K. M. Dallenbach (1924). Obliviscence during Sleep and Waking. *The American Journal of Psychology* 35(4).
- Jensen, O. and J. E. Lisman (2005). Hippocampal sequence-encoding driven by a cortical multi-item working memory buffer. *Trends Neurosci* 28(2).
- Ji, D. and M. A. Wilson (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 10(1).
- Jones, M. W. and M. A. Wilson (2005). Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biol* 3(12).
- Joosten, H., M. E. van Eersel, R. T. Gansevoort, H. J. Bilo, J. P. Slaets and G. J. Izaks (2013). Cardiovascular risk profile and cognitive function in young, middle-aged, and elderly subjects. *Stroke* 44(6).
- Kajiwara, R., F. G. Wouterlood, A. Sah, A. J. Boekel, L. T. Baks-te Bulte and M. P. Witter (2008). Convergence of entorhinal and CA3 inputs onto pyramidal neurons and interneurons in hippocampal area CA1--an anatomical study in the rat. *Hippocampus* 18(3).
- Kang, H., A. A. Welcher, D. Shelton and E. M. Schuman (1997). Neurotrophins and time: different roles for TrkB signaling in hippocampal long-term potentiation. *Neuron* 19(3).
- Kemere, C., M. F. Carr, M. P. Karlsson and L. M. Frank (2013). Rapid and continuous modulation of hippocampal network state during exploration of new places. *PLoS One* 8(9).
- Kempermann, G. (2008). The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for? *Trends Neurosci* 31(4).
- Kempermann, G. and F. H. Gage (1999). Experience-dependent regulation of adult hippocampal neurogenesis: effects of long-term stimulation and stimulus withdrawal. *Hippocampus* 9(3).
- Kempermann, G., D. Gast and F. H. Gage (2002). Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Ann Neurol* 52(2).

Kempermann, G., H. G. Kuhn and F. H. Gage (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386(6624).

Kesse-Guyot, E., V. A. Andreeva, C. Jeandel, M. Ferry, S. Hercberg and P. Galan (2012). A healthy dietary pattern at midlife is associated with subsequent cognitive performance. *J Nutr* 142(5).

Kieft-de Jong, J. C., J. C. Mathers and O. H. Franco (2014). Nutrition and healthy ageing: the key ingredients. *Proc Nutr Soc* 73(2).

Kim, C., N. F. Johnson, S. E. Cilles and B. T. Gold (2011). Common and distinct mechanisms of cognitive flexibility in prefrontal cortex. *J Neurosci* 31(13).

Kirk, I. J. (1998). Frequency modulation of hippocampal theta by the supramammillary nucleus, and other hypothalamo-hippocampal interactions: mechanisms and functional implications. *Neurosci Biobehav Rev* 22(2).

Kirk, I. J. and N. McNaughton (1993). Mapping the differential effects of procaine on frequency and amplitude of reticularly elicited hippocampal rhythmical slow activity. *Hippocampus* 3(4).

Kirov, R. and S. Moyanova (2002). Distinct sleep-wake stages in rats depend differentially on age. *Neurosci Lett* 322(2).

Kiyono, S., M. L. Seo and M. Shibagaki (1981). Effects of rearing environments upon sleep-waking parameters in rats. *Physiol Behav* 26(3).

Klausberger, T. and P. Somogyi (2008). Neuronal Diversity and Temporal Dynamics: The Unity of Hippocampal Circuit Operations. *Science* 321(5885).

Kliegel, M., D. Zimprich and C. Rott (2004). Life-long intellectual activities mediate the predictive effect of early education on cognitive impairment in centenarians: a retrospective study. *Aging Ment Health* 8(5).

Kobayashi, S., Y. Ohashi and S. Ando (2002). Effects of enriched environments with different durations and starting times on learning capacity during aging in rats assessed by a refined procedure of the Hebb-Williams maze task. *Journal of Neuroscience Research* 70(3).

Kocsis, B., A. Bragin and G. Buzsaki (1999). Interdependence of multiple theta generators in the hippocampus: a partial coherence analysis. *J Neurosci* 19(14).

Kocsis, B., S. Li and M. Hajos (2007). Behavior-dependent modulation of hippocampal EEG activity by the selective norepinephrine reuptake inhibitor reboxetine in rats. *Hippocampus* 17(8).

Kohler, C. (1985). Intrinsic projections of the retrohippocampal region in the rat brain. I. The subicular complex. *J Comp Neurol* 236(4).

Kolb, B., R. Gibb and G. Gorny (2003). Experience-dependent changes in dendritic arbor and spine density in neocortex vary qualitatively with age and sex. *Neurobiol Learn Mem* 79(1).

Kouvonen, A., R. De Vogli, M. Stafford, M. J. Shipley, M. G. Marmot, T. Cox, J. Vahtera, A. Vaananen, T. Heponiemi, A. Singh-Manoux and M. Kivimaki (2012). Social support and the likelihood of maintaining and improving levels of physical activity: the Whitehall II Study. *Eur J Public Health* 22(4).

- Kramer, A. F., S. Hahn, N. J. Cohen, M. T. Banich, E. McAuley, C. R. Harrison, J. Chason, E. Vakil, L. Bardell, R. A. Boileau and A. Colcombe (1999). Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature* 400(6743).
- Krzywkowski, P., F. De Bilbao, M. C. Senut and Y. Lamour (1995). Age-related changes in parvalbumin- and GABA-immunoreactive cells in the rat septum. *Neurobiol Aging* 16(1).
- Kuhn, H. G., H. Dickinson-Anson and F. H. Gage (1996). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 16(6).
- Kumar, A. and T. Foster (2007). Environmental enrichment decreases the afterhyperpolarization in senescent rats. *Brain Research* 1130(0).
- Kumar, A., A. Rani, O. Tchigranova, W.-H. Lee and T. C. Foster (2012). Influence of late-life exposure to environmental enrichment or exercise on hippocampal function and CA1 senescent physiology. *Neurobiology of Aging* 33(4).
- Kumaran, D. and E. A. Maguire (2007). Which computational mechanisms operate in the hippocampus during novelty detection? *Hippocampus* 17(9).
- Kuo, T. B., J. Y. Li, S. S. Hsieh, J. J. Chen, C. Y. Tsai and C. C. Yang (2010). Effect of aging on treadmill exercise induced theta power in the rat. *Age (Dordr)* 32(3).
- Larkin, M. C., C. Lykken, L. D. Tye, J. G. Wickelgren and L. M. Frank (2014). Hippocampal output area CA1 broadcasts a generalized novelty signal during an object-place recognition task. *Hippocampus* 24(7).
- Larson, J., D. Wong and G. Lynch (1986). Patterned stimulation at the theta frequency is optimal for the induction of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res* 368(2).
- Lasztoczi, B. and T. Klausberger (2014). Layer-specific GABAergic control of distinct gamma oscillations in the CA1 hippocampus. *Neuron* 81(5).
- Leal-Galicia, P., M. Castañeda-Bueno, R. Quiroz-Baez and C. Arias (2008). Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging. *Neurobiology of Learning and Memory* 90(3).
- Lecourtier, L., A. P. de Vasconcelos, E. Leroux, B. Cosquer, K. Geiger, S. Lithfous and J. C. Cassel (2011). Septohippocampal pathways contribute to system consolidation of a spatial memory: sequential implication of GABAergic and cholinergic neurons. *Hippocampus* 21(12).
- Lee, A. S., J. M. Andre and C. Pittenger (2014). Lesions of the dorsomedial striatum delay spatial learning and render cue-based navigation inflexible in a water maze task in mice. *Front Behav Neurosci* 8
- Lee, I., M. R. Hunsaker and R. P. Kesner (2005). The role of hippocampal subregions in detecting spatial novelty. *Behav Neurosci* 119(1).
- Lee, M. G., J. J. Chrobak, A. Sik, R. G. Wiley and G. Buzsaki (1994). Hippocampal theta activity following selective lesion of the septal cholinergic system. *Neuroscience* 62(4).
- LeFevre, J. and M. K. McClintock (1988). Reproductive senescence in female rats: a longitudinal study of individual differences in estrous cycles and behavior. *Biology of Reproduction* 38(4).

- Leger, M., E. Paizanis, K. Dzahini, A. Quiedeville, V. Bouet, J. C. Cassel, T. Freret, P. Schumann-Bard and M. Boulouard (2014). Environmental Enrichment Duration Differentially Affects Behavior and Neuroplasticity in Adult Mice. *Cereb Cortex*
- Leggio, M. G., L. Mandolesi, F. Federico, F. Spirito, B. Ricci, F. Gelfo and L. Petrosini (2005). Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behav Brain Res* 163(1).
- Leranth, C., D. Carpi, G. Buzsaki and J. Kiss (1999). The entorhino-septo-supramammillary nucleus connection in the rat: morphological basis of a feedback mechanism regulating hippocampal theta rhythm. *Neuroscience* 88(3).
- Leranth, C., T. Deller and G. Buzsaki (1992). Intraseptal connections redefined: lack of a lateral septum to medial septum path. *Brain Res* 583(1-2).
- Leranth, C. and M. Frotscher (1989). Organization of the septal region in the rat brain: cholinergic-GABAergic interconnections and the termination of hippocampo-septal fibers. *J Comp Neurol* 289(2).
- Leung, L. S. and H. W. Yu (1998). Theta-frequency resonance in hippocampal CA1 neurons in vitro demonstrated by sinusoidal current injection. *J Neurophysiol* 79(3).
- Leung, L. W. and C. Y. Yim (1991). Intrinsic membrane potential oscillations in hippocampal neurons in vitro. *Brain Res* 553(2).
- Lever, C., S. Burton, A. Jeewajee, J. O'Keefe and N. Burgess (2009). Boundary vector cells in the subiculum of the hippocampal formation. *J Neurosci* 29(31).
- Lindenberger, U. and P. B. Baltes (1994). Sensory functioning and intelligence in old age: a strong connection. *Psychol Aging* 9(3).
- Lindner, M. D. (1997). Reliability, distribution, and validity of age-related cognitive deficits in the Morris water maze. *Neurobiol Learn Mem* 68(3).
- Lindner, M. D., A. H. Balch and C. P. VanderMaelen (1992). Short forms of the "reference-" and "working-memory" Morris water maze for assessing age-related deficits. *Behav Neural Biol* 58(2).
- Lisman, J. E. and M. A. Idiart (1995). Storage of 7 +/- 2 short-term memories in oscillatory subcycles. *Science* 267(5203).
- Llinas, R. R. (1988). The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science* 242(4886).
- Lolova, I. and M. Davidoff (1992). Age-related morphological and morphometrical changes in parvalbumin- and calbindin-immunoreactive neurons in the rat hippocampal formation. *Mech Ageing Dev* 66(2).
- Lopez, J., A. P. de Vasconcelos and J. C. Cassel (2008). Environmental cue saliency influences the vividness of a remote spatial memory in rats. *Neurobiol Learn Mem* 90(1).
- Lopez, M. E., S. Aurteneixe, E. Pereda, P. Cuesta, N. P. Castellanos, R. Bruna, G. Niso, F. Maestu and R. Bajo (2014). Cognitive reserve is associated with the functional organization of the brain in healthy aging: a MEG study. *Front Aging Neurosci* 6
- Lores-Arnaiz, S., J. Bustamante, M. Arismendi, S. Vilas, N. Paglia, N. Basso, F. Capani, H. Coirini, J. J. Costa and M. R. Arnaiz (2006). Extensive enriched environments protect old rats from the aging

dependent impairment of spatial cognition, synaptic plasticity and nitric oxide production. *Behav Brain Res* 169(2).

Louie, K. and M. A. Wilson (2001). Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron* 29(1).

Loureiro, M., L. Lecourtier, M. Engeln, J. Lopez, B. Cosquer, K. Geiger, C. Kelche, J. C. Cassel and A. Pereira de Vasconcelos (2012). The ventral hippocampus is necessary for expressing a spatial memory. *Brain Struct Funct* 217(1).

Lu, B. and W. Gottschalk (2000). Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. *Prog Brain Res* 128

Luik, A. I., L. A. Zuurbier, A. Hofman, E. J. Van Someren and H. Tiemeier (2013). Stability and fragmentation of the activity rhythm across the sleep-wake cycle: the importance of age, lifestyle, and mental health. *Chronobiol Int* 30(10).

Luiten, P. G., R. P. Gaykema, J. Traber and D. G. Spencer, Jr. (1987). Cortical projection patterns of magnocellular basal nucleus subdivisions as revealed by anterogradely transported *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Brain Res* 413(2).

Lustig, C., C. P. May and L. Hasher (2001). Working memory span and the role of proactive interference. *J Exp Psychol Gen* 130(2).

Lynch, M. A. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84(1).

Maasberg, D. W., L. E. Shelley and P. E. Gilbert (2012). Age-related changes in detection of spatial novelty. *Behavioural Brain Research* 228(2).

Madhusudan, A., C. Sidler and I. Knuesel (2009). Accumulation of reelin-positive plaques is accompanied by a decline in basal forebrain projection neurons during normal aging. *Eur J Neurosci* 30(6).

Malik, R. and S. Chattarji (2012). Enhanced intrinsic excitability and EPSP-spike coupling accompany enriched environment-induced facilitation of LTP in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 107(5).

Manns, I. D., L. Mainville and B. E. Jones (2001). Evidence for glutamate, in addition to acetylcholine and GABA, neurotransmitter synthesis in basal forebrain neurons projecting to the entorhinal cortex. *Neuroscience* 107(2).

Manns, J. R., E. A. Zilli, K. C. Ong, M. E. Hasselmo and H. Eichenbaum (2007). Hippocampal CA1 spiking during encoding and retrieval: relation to theta phase. *Neurobiol Learn Mem* 87(1).

Manseau, F., R. Goutagny, M. Danik and S. Williams (2008). The hippocamptoseptal pathway generates rhythmic firing of GABAergic neurons in the medial septum and diagonal bands: an investigation using a complete septohippocampal preparation in vitro. *J Neurosci* 28(15).

Mantyla, T. and L. Backman (1990). Encoding variability and age-related retrieval failures. *Psychol Aging* 5(4).

Marchi, M., P. Bocchieri, L. Garbarino and M. Raiteri (1989). Muscarinic inhibition of endogenous glutamate release from rat hippocampus synaptosomes. *Neurosci Lett* 96(2).

- Marchi, M., P. Sanguineti and M. Raiteri (1990). Muscarinic receptors mediate direct inhibition of GABA release from rat striatal nerve terminals. *Neurosci Lett* 116(3).
- Markowska, A. L. (1999). Sex dimorphisms in the rate of age-related decline in spatial memory: relevance to alterations in the estrous cycle. *J Neurosci* 19(18).
- Markowska, A. L., W. S. Stone, D. K. Ingram, J. Reynolds, P. E. Gold, L. H. Conti, M. J. Pontecorvo, G. L. Wenk and D. S. Olton (1989). Individual differences in aging: behavioral and neurobiological correlates. *Neurobiol Aging* 10(1).
- Mavroudis, I., F. Petrides, M. Manani, C. Theocharides, A. Ciobica, M. Padurariu, M. Kiourexidou, S. Njau, V. Costa and S. Baloyannis (2012). Dendritic and spinal alterations of the spiny stellate cells of the human visual cortex during normal aging. *Folia Neuropathol* 50(3).
- Maxson, P. J., S. Berg and G. McClearn (1997). Multidimensional patterns of aging: a cluster-analytic approach. *Exp Aging Res* 23(1).
- McClearn, G. E., B. Johansson, S. Berg, N. L. Pedersen, F. Ahern, S. A. Petrill and R. Plomin (1997). Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science* 276(5318).
- McCoy, J. G., M. A. Christie, Y. Kim, R. Brennan, D. L. Poeta, R. W. McCarley and R. E. Strecker (2013). Chronic sleep restriction impairs spatial memory in rats. *Neuroreport* 24(2).
- McNaughton, N., M. Ruan and M. A. Woodnorth (2006). Restoring theta-like rhythmicity in rats restores initial learning in the Morris water maze. *Hippocampus* 16(12).
- McOmish, C. E., E. Burrows, M. Howard, E. Scarr, D. Kim, H. S. Shin, B. Dean, M. van den Buuse and A. J. Hannan (2008). Phospholipase C-beta1 knockout mice exhibit endophenotypes modeling schizophrenia which are rescued by environmental enrichment and clozapine administration. *Mol Psychiatry* 13(7).
- McQuail, J. A., C. J. Frazier and J. L. Bizon (2015). Molecular aspects of age-related cognitive decline: the role of GABA signaling. *Trends Mol Med* 21(7).
- Meibach, R. C. and A. Siegel (1977). Efferent connections of the septal area in the rat: an analysis utilizing retrograde and anterograde transport methods. *Brain Res* 119(1).
- Melzer, S., M. Michael, A. Caputi, M. Eliava, E. C. Fuchs, M. A. Whittington and H. Monyer (2012). Long-range-projecting GABAergic neurons modulate inhibition in hippocampus and entorhinal cortex. *Science* 335(6075).
- Menard, C., R. Quirion, E. Vigneault, S. Bouchard, G. Ferland, S. El Mestikawy and P. Gaudreau (2015). Glutamate presynaptic vesicular transporter and postsynaptic receptor levels correlate with spatial memory status in aging rat models. *Neurobiol Aging* 36(3).
- Merrill, D. A., A. A. Chiba and M. H. Tuszynski (2001). Conservation of neuronal number and size in the entorhinal cortex of behaviorally characterized aged rats. *J Comp Neurol* 438(4).
- Meshi, D., M. R. Drew, M. Saxe, M. S. Ansorge, D. David, L. Santarelli, C. Malapani, H. Moore and R. Hen (2006). Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat Neurosci* 9(6).
- Mesulam, M. M., E. J. Mufson, B. H. Wainer and A. I. Levey (1983). Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 10(4).

- Metzler-Baddeley, C., D. K. Jones, B. Belaroussi, J. P. Aggleton and M. J. O'Sullivan (2011). Frontotemporal connections in episodic memory and aging: a diffusion MRI tractography study. *J Neurosci* 31(37).
- Miettinen, R., J. Sirvio, P. Riekkinen, Sr., M. P. Laakso, M. Riekkinen and P. Riekkinen, Jr. (1993). Neocortical, hippocampal and septal parvalbumin- and somatostatin-containing neurons in young and aged rats: correlation with passive avoidance and water maze performance. *Neuroscience* 53(2).
- Miles, R. and R. K. Wong (1983). Single neurones can initiate synchronized population discharge in the hippocampus. *Nature* 306(5941).
- Miller, A. M., L. C. Vedder, L. M. Law and D. M. Smith (2014). Cues, context, and long-term memory: the role of the retrosplenial cortex in spatial cognition. *Front Hum Neurosci* 8
- Mirmiran, M., H. van den Dungen and H. B. Uylings (1982). Sleep patterns during rearing under different environmental conditions in juvenile rats. *Brain Res* 233(2).
- Mitchell, D. J., N. McNaughton, D. Flanagan and I. J. Kirk (2008). Frontal-midline theta from the perspective of hippocampal "theta". *Prog Neurobiol* 86(3).
- Mitchell, S. J. and J. B. Ranck, Jr. (1980). Generation of theta rhythm in medial entorhinal cortex of freely moving rats. *Brain Res* 189(1).
- Mitchell, S. J., J. N. Rawlins, O. Steward and D. S. Olton (1982). Medial septal area lesions disrupt theta rhythm and cholinergic staining in medial entorhinal cortex and produce impaired radial arm maze behavior in rats. *J Neurosci* 2(3).
- Miyake, A., N. P. Friedman, M. J. Emerson, A. H. Witzki, A. Howerter and T. D. Wager (2000). The unity and diversity of executive functions and their contributions to complex "Frontal Lobe" tasks: a latent variable analysis. *Cogn Psychol* 41(1).
- Mizuseki, K., A. Sirota, E. Pastalkova and G. Buzsaki (2009). Theta oscillations provide temporal windows for local circuit computation in the entorhinal-hippocampal loop. *Neuron* 64(2).
- Mlynarik, M., B. B. Johansson and D. Jezova (2004). Enriched environment influences adrenocortical response to immune challenge and glutamate receptor gene expression in rat hippocampus. *Ann N Y Acad Sci* 1018
- Moffat, S. D. and S. M. Resnick (2002). Effects of age on virtual environment place navigation and allocentric cognitive mapping. *Behav Neurosci* 116(5).
- Montgomery, S. M. and G. Buzsaki (2007). Gamma oscillations dynamically couple hippocampal CA3 and CA1 regions during memory task performance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(36).
- Montoya, C. P. and R. S. Sainsbury (1985). The effects of entorhinal cortex lesions on type 1 and type 2 theta. *Physiol Behav* 35(1).
- Moore, C. I., M. D. Browning and G. M. Rose (1993). Hippocampal plasticity induced by primed burst, but not long-term potentiation, stimulation is impaired in area CA1 of aged Fischer 344 rats. *Hippocampus* 3(1).
- Mora-Gallegos, A., M. Rojas-Carvajal, S. Salas, A. Saborio-Arce, J. Fornaguera-Trias and J. C. Brenes (2015). Age-dependent effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry. *Neurobiol Learn Mem* 118

- Morley-Fletcher, S., M. Rea, S. Maccari and G. Laviola (2003). Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *Eur J Neurosci* 18(12).
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11(1).
- Morris, R. G., P. Garrud, J. N. Rawlins and J. O'Keefe (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297(5868).
- Morse, S. J., A. A. Butler, R. L. Davis, I. J. Soller and F. D. Lubin (2015). Environmental enrichment reverses histone methylation changes in the aged hippocampus and restores age-related memory deficits. *Biology (Basel)* 4(2).
- Moser, E., M. B. Moser and P. Andersen (1993). Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci* 13(9).
- Moser, E. I., E. Kropff and M. B. Moser (2008). Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annu Rev Neurosci* 31
- Moser, M. B. and E. I. Moser (1998). Distributed encoding and retrieval of spatial memory in the hippocampus. *J Neurosci* 18(18).
- Mu, J. S., W. P. Li, Z. B. Yao and X. F. Zhou (1999). Deprivation of endogenous brain-derived neurotrophic factor results in impairment of spatial learning and memory in adult rats. *Brain Res* 835(2).
- Muir, G. M. and D. K. Bilkey (1998). Synchronous modulation of perirhinal cortex neuronal activity during cholinergically mediated (type II) hippocampal theta. *Hippocampus* 8(5).
- Muller, C. and S. Remy (2014). Dendritic inhibition mediated by O-LM and bistratified interneurons in the hippocampus. *Front Synaptic Neurosci* 6
- Murchison, D., A. N. McDermott, C. L. Lasarge, K. A. Peebles, J. L. Bizon and W. H. Griffith (2009). Enhanced calcium buffering in F344 rat cholinergic basal forebrain neurons is associated with age-related cognitive impairment. *J Neurophysiol* 102(4).
- Muzzio, I. A., C. Kentros and E. Kandel (2009). What is remembered? Role of attention on the encoding and retrieval of hippocampal representations. *J Physiol* 587(Pt 12).
- Nadel, L. and M. Moscovitch (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology* 7(2).
- Nakamura, H., S. Kobayashi, Y. Ohashi and S. Ando (1999). Age-changes of brain synapses and synaptic plasticity in response to an enriched environment. *J Neurosci Res* 56(3).
- Nakamura, S., I. Akiguchi, M. Kameyama and N. Mizuno (1985). Age-related changes of pyramidal cell basal dendrites in layers III and V of human motor cortex: a quantitative Golgi study. *Acta Neuropathol* 65(3-4).
- Nakashiba, T., D. L. Buhl, T. J. McHugh and S. Tonegawa (2009). Hippocampal CA3 output is crucial for ripple-associated reactivation and consolidation of memory. *Neuron* 62(6).

- Naylor, E., P. D. Penev, L. Orbeta, I. Janssen, R. Ortiz, E. F. Colecchia, M. Keng, S. Finkel and P. C. Zee (2000). Daily social and physical activity increases slow-wave sleep and daytime neuropsychological performance in the elderly. *Sleep* 23(1).
- Nerad, L. and N. McNaughton (2006). The septal EEG suggests a distributed organization of the pacemaker of hippocampal theta in the rat. *Eur J Neurosci* 24(1).
- Nicholson, D. A., R. Yoshida, R. W. Berry, M. Gallagher and Y. Geinisman (2004). Reduction in size of perforated postsynaptic densities in hippocampal axospinous synapses and age-related spatial learning impairments. *J Neurosci* 24(35).
- Nilsson, L. G. (2003). Memory function in normal aging. *Acta Neurol Scand Suppl* 179
- Nishida, H., M. Takahashi and J. Lauwereyns (2014). Within-session dynamics of theta-gamma coupling and high-frequency oscillations during spatial alternation in rat hippocampal area CA1. *Cogn Neurodyn* 8(5).
- Nithianantharajah, J. and A. J. Hannan (2009). The neurobiology of brain and cognitive reserve: Mental and physical activity as modulators of brain disorders. *Progress in Neurobiology* 89(4).
- Nithianantharajah, J., H. Levis and M. Murphy (2004). Environmental enrichment results in cortical and subcortical changes in levels of synaptophysin and PSD-95 proteins. *Neurobiol Learn Mem* 81(3).
- Noble, K. G., S. M. Grieve, M. S. Korgaonkar, L. E. Engelhardt, E. Y. Griffith, L. M. Williams and A. M. Brickman (2012). Hippocampal volume varies with educational attainment across the life-span. *Front Hum Neurosci* 6
- Novkovic, T., T. Mittmann and D. Manahan-Vaughan (2015). BDNF contributes to the facilitation of hippocampal synaptic plasticity and learning enabled by environmental enrichment. *Hippocampus* 25(1).
- Nyberg, L., M. Lövdén, K. Riklund, U. Lindenberger and L. Bäckman (2012). Memory aging and brain maintenance. *Trends in Cognitive Sciences* 16(5).
- Nyberg, L., J. Persson, R. Habib, E. Tulving, A. R. McIntosh, R. Cabeza and S. Houle (2000). Large scale neurocognitive networks underlying episodic memory. *J Cogn Neurosci* 12(1).
- O'Keefe, J. and N. Burgess (1999). Theta activity, virtual navigation and the human hippocampus. *Trends Cogn Sci* 3(11).
- O'Keefe, J. and J. Dostrovsky (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34(1).
- O'Keefe, J. and M. L. Recce (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus* 3(3).
- Ohayon, M. M., M. A. Carskadon, C. Guilleminault and M. V. Vitiello (2004). Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep* 27(7).
- Okada, K. and H. Okaichi (2010). Functional cooperation between the hippocampal subregions and the medial septum in unreinforced and reinforced spatial memory tasks. *Behav Brain Res* 209(2).
- Oler, J. A. and E. J. Markus (1998). Age-related deficits on the radial maze and in fear conditioning: hippocampal processing and consolidation. *Hippocampus* 8(4).

- Oosterman, J. M., E. J. van Someren, R. L. Vogels, B. Van Harten and E. J. Scherder (2009). Fragmentation of the rest-activity rhythm correlates with age-related cognitive deficits. *J Sleep Res* 18(1).
- Ozawa, T., K. Yamada and Y. Ichitani (2011). Long-term object location memory in rats: effects of sample phase and delay length in spontaneous place recognition test. *Neurosci Lett* 497(1).
- Pakkenberg, B. and H. J. Gundersen (1997). Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. *J Comp Neurol* 384(2).
- Pang, K. C., R. Nocera, A. J. Secor and R. M. Yoder (2001). GABAergic septohippocampal neurons are not necessary for spatial memory. *Hippocampus* 11(6).
- Pang, T. Y. and A. J. Hannan (2013). Enhancement of cognitive function in models of brain disease through environmental enrichment and physical activity. *Neuropharmacology* 64
- Parisi, J. M., G. W. Rebok, Q. L. Xue, L. P. Fried, T. E. Seeman, E. K. Tanner, T. L. Gruenewald, K. D. Frick and M. C. Carlson (2012). The role of education and intellectual activity on cognition. *J Aging Res* 2012
- Park, D. C., A. D. Smith, G. Lautenschlager, J. L. Earles, D. Frieske, M. Zwahr and C. L. Gaines (1996). Mediators of long-term memory performance across the life span. *Psychol Aging* 11(4).
- Park, G. A., B. A. Pappas, S. M. Murtha and A. Ally (1992). Enriched environment primes forebrain choline acetyltransferase activity to respond to learning experience. *Neurosci Lett* 143(1-2).
- Parron, C. and E. Save (2004). Comparison of the effects of entorhinal and retrosplenial cortical lesions on habituation, reaction to spatial and non-spatial changes during object exploration in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 82(1).
- Paxinos, G. and C. Watson (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press.
- Paylor, R., S. K. Morrison, J. W. Rudy, L. T. Waltrip and J. M. Wehner (1992). Brief exposure to an enriched environment improves performance on the Morris water task and increases hippocampal cytosolic protein kinase C activity in young rats. *Behav Brain Res* 52(1).
- Pena, Y., M. Prunell, D. Rotllant, A. Armario and R. M. Escorihuela (2009). Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology* 34(9).
- Peng, M. T., M. J. Jiang and H. K. Hsu (1980). Changes in running-wheel activity, eating and drinking and their day/night distributions throughout the life span of the rat. *J Gerontol* 35(3).
- Penley, S. C., J. R. Hinman, L. L. Long, E. J. Markus, M. A. Escabi and J. J. Chrobak (2013). Novel space alters theta and gamma synchrony across the longitudinal axis of the hippocampus. *Front Syst Neurosci* 7
- Penttonen, M., A. Kamondi, L. Acsady and G. Buzsaki (1998). Gamma frequency oscillation in the hippocampus of the rat: intracellular analysis in vivo. *Eur J Neurosci* 10(2).
- Petsche, H., C. Stumpf and G. Gogolak (1962). [The significance of the rabbit's septum as a relay station between the midbrain and the hippocampus. I. The control of hippocampus arousal activity by the septum cells]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 14

Pike, F. G., R. S. Goddard, J. M. Suckling, P. Ganter, N. Kasthuri and O. Paulsen (2000). Distinct frequency preferences of different types of rat hippocampal neurones in response to oscillatory input currents. *J Physiol* 529 Pt 1

Poe, G. R., D. A. Nitz, B. L. McNaughton and C. A. Barnes (2000). Experience-dependent phase-reversal of hippocampal neuron firing during REM sleep. *Brain Res* 855(1).

Popescu, A. T., D. Popa and D. Pare (2009). Coherent gamma oscillations couple the amygdala and striatum during learning. *Nat Neurosci* 12(6).

Por, S. B., E. L. Bennett and S. C. Bondy (1982). Environmental enrichment and neurotransmitter receptors. *Behav Neural Biol* 34(2).

Potier, B., A. Jouvenceau, J. Epelbaum and P. Dutar (2006). Age-related alterations of GABAergic input to CA1 pyramidal neurons and its control by nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampus. *Neuroscience* 142(1).

Potier, B., P. Krzywkowski, Y. Lamour and P. Dutar (1994). Loss of calbindin-immunoreactivity in CA1 hippocampal stratum radiatum and stratum lacunosum-moleculare interneurons in the aged rat. *Brain Res* 661(1-2).

Poucet, B. (1989). Object exploration, habituation, and response to a spatial change in rats following septal or medial frontal cortical damage. *Behav Neurosci* 103(5).

Prusky, G. T., K. T. Harker, R. M. Douglas and I. Q. Whishaw (2002). Variation in visual acuity within pigmented, and between pigmented and albino rat strains. *Behav Brain Res* 136(2).

Quirion, R., A. Wilson, W. Rowe, I. Aubert, J. Richard, H. Doods, A. Parent, N. White and M. J. Meaney (1995). Facilitation of acetylcholine release and cognitive performance by an M(2)-muscarinic receptor antagonist in aged memory-impaired. *J Neurosci* 15(2).

Rapp, P. R., P. S. Deroche, Y. Mao and R. D. Burwell (2002). Neuron number in the parahippocampal region is preserved in aged rats with spatial learning deficits. *Cereb Cortex* 12(11).

Rapp, P. R. and M. Gallagher (1996). Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(18).

Rapp, P. R., R. A. Rosenberg and M. Gallagher (1987). An evaluation of spatial information processing in aged rats. *Behav Neurosci* 101(1).

Rasch, B. and J. Born (2013). About sleep's role in memory. *Physiol Rev* 93(2).

Rasmussen, T., T. Schliemann, J. C. Sorensen, J. Zimmer and M. J. West (1996). Memory impaired aged rats: no loss of principal hippocampal and subicular neurons. *Neurobiol Aging* 17(1).

Ravassard, P., A. M. Hamieh, G. Malleret and P. A. Salin (2015). Paradoxical sleep: A vigilance state to gate long-term brain plasticity? *Neurobiol Learn Mem* 122

Raz, N., U. Lindenberger, K. M. Rodrigue, K. M. Kennedy, D. Head, A. Williamson, C. Dahle, D. Gerstorf and J. D. Acker (2005). Regional brain changes in aging healthy adults: general trends, individual differences and modifiers. *Cereb Cortex* 15(11).

Reed, B. R., M. Dowling, S. Tomaszewski Farias, J. Sonnen, M. Strauss, J. A. Schneider, D. A. Bennett and D. Mungas (2011). Cognitive activities during adulthood are more important than education in building reserve. *J Int Neuropsychol Soc* 17(4).

- Richards, M., R. Hardy and M. E. Wadsworth (2003). Does active leisure protect cognition? Evidence from a national birth cohort. *Soc Sci Med* 56(4).
- Robinson, T. E., R. C. Kramis and C. H. Vanderwolf (1977). Two types of cerebral activation during active sleep: relations to behavior. *Brain Res* 124(3).
- Rodgers, M. K., J. A. Sindone, 3rd and S. D. Moffat (2012). Effects of age on navigation strategy. *Neurobiol Aging* 33(1).
- Rogers, J. L. and R. P. Kesner (2003). Cholinergic modulation of the hippocampus during encoding and retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 80(3).
- Rosenberg, R. S., H. Zepelin and A. Rechtschaffen (1979). Sleep in young and old rats. *J Gerontol* 34(4).
- Rosenzweig, M. R., E. L. Bennett, M. Hebert and H. Morimoto (1978). Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments. *Brain Res* 153(3).
- Roumis, D. K. and L. M. Frank (2015). Hippocampal sharp-wave ripples in waking and sleeping states. *Curr Opin Neurobiol* 35
- Rowe, J. W. and R. L. Kahn (1987). Human aging: usual and successful. *Science* 237(4811).
- Ruediger, S., D. Spirig, F. Donato and P. Caroni (2012). Goal-oriented searching mediated by ventral hippocampus early in trial-and-error learning. *Nat Neurosci* 15(11).
- Rutz, S., M. Majchrzak, V. Siedschlag, A. Barbelivien, H. Harati, A. K. Rothmaier, T. J. Feuerstein, R. Jackisch and J. C. Cassel (2009). The modulation of striatal dopamine release correlates with water-maze performance in aged rats. *Neurobiol Aging* 30(6).
- Rye, D. B., B. H. Wainer, M. M. Mesulam, E. J. Mufson and C. B. Saper (1984). Cortical projections arising from the basal forebrain: a study of cholinergic and noncholinergic components employing combined retrograde tracing and immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. *Neuroscience* 13(3).
- Sainsbury, R. S. and C. P. Montoya (1984). The relationship between type 2 theta and behavior. *Physiol Behav* 33(4).
- Sairanen, M., G. Lucas, P. Ernfors, M. Castren and E. Castren (2005). Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 25(5).
- Saito, S., S. Kobayashi, Y. Ohashi, M. Igarashi, Y. Komiya and S. Ando (1994). Decreased synaptic density in aged brains and its prevention by rearing under enriched environment as revealed by synaptophysin contents. *J Neurosci Res* 39(1).
- Salari, M., V. Sheibani, H. Saadati, A. Pourrahimi, M. Khaksarihadad, K. Esmaeelpour and M. Khodamoradi (2015). The compensatory effect of regular exercise on long-term memory impairment in sleep deprived female rats. *Behav Processes* 119
- Salat, D. H., D. S. Tuch, D. N. Greve, A. J. van der Kouwe, N. D. Hevelone, A. K. Zaleta, B. R. Rosen, B. Fischl, S. Corkin, H. D. Rosas and A. M. Dale (2005). Age-related alterations in white matter microstructure measured by diffusion tensor imaging. *Neurobiol Aging* 26(8).

- Sale, A., N. Berardi and L. Maffei (2014). Environment and brain plasticity: towards an endogenous pharmacotherapy. *Physiol Rev* 94(1).
- Salthouse, T. A. (1991). *Theoretical perspectives on cognitive aging.*, Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Salthouse, T. A. (1996). The processing-speed theory of adult age differences in cognition. *Psychol Rev* 103(3).
- Salthouse, T. A. (2003). Memory aging from 18 to 80. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 17(3).
- Sambeth, A., M. Meeter and A. Blokland (2009). Hippocampal theta frequency and novelty. *Hippocampus* 19(4).
- Sampedro-Piquero, P., A. Begega, C. Zancada-Menendez, M. Cuesta and J. L. Arias (2013). Age-dependent effects of environmental enrichment on brain networks and spatial memory in Wistar rats. *Neuroscience* 248
- Saper, C. B. (1984). Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Magnocellular basal nucleus. *J Comp Neurol* 222(3).
- Sargolini, F., M. Fyhn, T. Hafting, B. L. McNaughton, M. P. Witter, M. B. Moser and E. I. Moser (2006). Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. *Science* 312(5774).
- Satz, P. (1993). Brain reserve capacity on symptom onset after brain injury: A formulation and review of evidence for threshold theory. *Neuropsychology* 7
- Saucier, D., E. L. Hargreaves, F. Boon, C. H. Vanderwolf and D. P. Cain (1996). Detailed behavioral analysis of water maze acquisition under systemic NMDA or muscarinic antagonism: nonspatial pretraining eliminates spatial learning deficits. *Behav Neurosci* 110(1).
- Save, E., B. Poucet, N. Foreman and M. C. Buhot (1992). Object exploration and reactions to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behav Neurosci* 106(3).
- Schank, J. C. (2001). Do Norway rats (*Rattus norvegicus*) synchronize their estrous cycles? *Physiology & Behavior* 72(1–2).
- Schomburg, E. W., A. Fernandez-Ruiz, K. Mizuseki, A. Berenyi, C. A. Anastassiou, C. Koch and G. Buzsaki (2014). Theta phase segregation of input-specific gamma patterns in entorhinal-hippocampal networks. *Neuron* 84(2).
- Schrijver, N. C., N. I. Bahr, I. C. Weiss and H. Wurbel (2002). Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 73(1).
- Schulz, D., C. Kouri and J. P. Huston (2007). Behavior on the water maze platform: relationship to learning and open field exploration in aged and adult rats. *Brain Res Bull* 74(4).
- Scullin, M. K. and D. L. Bliwise (2015). Sleep, cognition, and normal aging: integrating a half century of multidisciplinary research. *Perspect Psychol Sci* 10(1).
- Sederberg, P. B., A. Schulze-Bonhage, J. R. Madsen, E. B. Bromfield, D. C. McCarthy, A. Brandt, M. S. Tully and M. J. Kahana (2007). Hippocampal and neocortical gamma oscillations predict memory formation in humans. *Cereb Cortex* 17(5).

- Segovia, G., A. Porras, A. Del Arco and F. Mora (2001). Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. *Mech Ageing Dev* 122(1).
- Segovia, G., A. G. Yague, J. M. Garcia-Verdugo and F. Mora (2006). Environmental enrichment promotes neurogenesis and changes the extracellular concentrations of glutamate and GABA in the hippocampus of aged rats. *Brain Res Bull* 70(1).
- Seidenbecher, T., T. R. Laxmi, O. Stork and H. C. Pape (2003). Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science* 301(5634).
- Sforza, E. and F. Roche (2012). Sleep apnea syndrome and cognition. *Front Neurol* 3
- Shen, J. and C. A. Barnes (1996). Age-related decrease in cholinergic synaptic transmission in three hippocampal subfields. *Neurobiol Aging* 17(3).
- Shen, J., C. A. Barnes, B. L. McNaughton, W. E. Skaggs and K. L. Weaver (1997). The effect of aging on experience-dependent plasticity of hippocampal place cells. *J Neurosci* 17(17).
- Shetty, A. K. and D. A. Turner (1998). Hippocampal interneurons expressing glutamic acid decarboxylase and calcium-binding proteins decrease with aging in Fischer 344 rats. *J Comp Neurol* 394(2).
- Shinohara, Y., A. Hosoya and H. Hirase (2013). Experience enhances gamma oscillations and interhemispheric asymmetry in the hippocampus. *Nat Commun* 4
- Shirakawa, K. and Y. Ichitani (2004). Prolonged initiation latency in Morris water maze learning in rats with ibotenic acid lesions to medial striatum: effects of systemic and intranigral muscimol administration. *Brain Res* 1030(2).
- Shirota, A., H. Tanaka, H. Nittono, M. Hayashi, S. Shirakawa and T. Hori (2002). Volitional lifestyle in healthy elderly: its relevance to rest-activity cycle, nocturnal sleep, and daytime napping. *Percept Mot Skills* 95(1).
- Shors, T. J., G. Miesegaes, A. Beylin, M. Zhao, T. Rydel and E. Gould (2001). Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 410(6826).
- Shukitt-Hale, B., G. Casadesus, I. Cantuti-Castelvetri and J. A. Joseph (2001). Effect of age on object exploration, habituation, and response to spatial and nonspatial change. *Behav Neurosci* 115(5).
- Shukitt-Hale, B., G. Mouzakis and J. A. Joseph (1998). Psychomotor and spatial memory performance in aging male Fischer 344 rats. *Exp Gerontol* 33(6).
- Simon, A. P., F. Poindessous-Jazat, P. Dutar, J. Epelbaum and M. H. Bassant (2006). Firing properties of anatomically identified neurons in the medial septum of anesthetized and unanesthetized restrained rats. *J Neurosci* 26(35).
- Simpson, J. and J. P. Kelly (2011). The impact of environmental enrichment in laboratory rats—Behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research* 222(1).
- Singer, W. (1993). Synchronization of cortical activity and its putative role in information processing and learning. *Annu Rev Physiol* 55
- Sirota, A., S. Montgomery, S. Fujisawa, Y. Isomura, M. Zugaro and G. Buzsaki (2008). Entrainment of neocortical neurons and gamma oscillations by the hippocampal theta rhythm. *Neuron* 60(4).

- Slawinska, U. and S. Kasicki (1995). Theta-like rhythm in depth EEG activity of hypothalamic areas during spontaneous or electrically induced locomotion in the rat. *Brain Res* 678(1-2).
- Small, B. J., R. A. Dixon, J. J. McArdle and K. J. Grimm (2012). Do changes in lifestyle engagement moderate cognitive decline in normal aging? Evidence from the Victoria Longitudinal Study. *Neuropsychology* 26(2).
- Small, S. A. (2001). Age-related memory decline: Current concepts and future directions. *Archives of Neurology* 58(3).
- Smart, E. L., A. J. Gow and I. J. Deary (2014). Occupational complexity and lifetime cognitive abilities. *Neurology* 83(24).
- Smith, M. A. and G. Cizza (1996). Stress-induced changes in brain-derived neurotrophic factor expression are attenuated in aged Fischer 344/N rats. *Neurobiol Aging* 17(6).
- Smith, T. D., M. M. Adams, M. Gallagher, J. H. Morrison and P. R. Rapp (2000). Circuit-specific alterations in hippocampal synaptophysin immunoreactivity predict spatial learning impairment in aged rats. *J Neurosci* 20(17).
- Soffie, M., M. C. Buhot and B. Poucet (1992). Cognitive and noncognitive processes involved in selective object exploration: comparison between young adult and old rats. *Physiol Behav* 52(5).
- Soffié, M., K. Hahn, E. Terao and F. Eclancher (1999). Behavioural and glial changes in old rats following environmental enrichment. *Behavioural Brain Research* 101(1).
- Sole-Padulles, C., D. Bartres-Faz, C. Junque, P. Vendrell, L. Rami, I. C. Clemente, B. Bosch, A. Villar, N. Bargallo, M. A. Jurado, M. Barrios and J. L. Molinuevo (2009). Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 30(7).
- Solinas, M., N. Thiriet, C. Chauvet and M. Jaber (2010). Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Prog Neurobiol* 92(4).
- Solstad, T., C. N. Boccara, E. Kropff, M. B. Moser and E. I. Moser (2008). Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science* 322(5909).
- Somogyi, J., A. Baude, Y. Omori, H. Shimizu, S. El Mestikawy, M. Fukaya, R. Shigemoto, M. Watanabe and P. Somogyi (2004). GABAergic basket cells expressing cholecystokinin contain vesicular glutamate transporter type 3 (VGLUT3) in their synaptic terminals in hippocampus and isocortex of the rat. *Eur J Neurosci* 19(3).
- Sorel, O. and V. Pennequin (2008). Aging of the planning process: the role of executive functioning. *Brain Cogn* 66(2).
- Speisman, R. B., A. Kumar, A. Rani, J. M. Pastoriza, J. E. Severance, T. C. Foster and B. K. Ormerod (2013). Environmental enrichment restores neurogenesis and rapid acquisition in aged rats. *Neurobiol Aging* 34(1).
- Spencer, R. L., W. K. O'Steen and B. S. McEwen (1995). Water maze performance of aged Sprague-Dawley rats in relation to retinal morphologic measures. *Behav Brain Res* 68(2).
- Spencer, W. D. and N. Raz (1995). Differential effects of aging on memory for content and context: a meta-analysis. *Psychol Aging* 10(4).

- Stanley, E. M., J. R. Fadel and D. D. Mott (2012). Interneuron loss reduces dendritic inhibition and GABA release in hippocampus of aged rats. *Neurobiol Aging* 33(2).
- Staubli, U. and G. Lynch (1987). Stable hippocampal long-term potentiation elicited by 'theta' pattern stimulation. *Brain Res* 435(1-2).
- Stemmelin, J., J. C. Cassel, B. Will and C. Kelche (1999). Sensitivity to cholinergic drug treatments of aged rats with variable degrees of spatial memory impairment. *Behav Brain Res* 98(1).
- Stemmelin, J., C. Lazarus, S. Cassel, C. Kelche and J. C. Cassel (2000). Immunohistochemical and neurochemical correlates of learning deficits in aged rats. *Neuroscience* 96(2).
- Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society* 8(03).
- Stern, Y. (2009). Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 47(10).
- Steward, O. and S. A. Scoville (1976). Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *J Comp Neurol* 169(3).
- Stewart, M. and S. E. Fox (1990). Do septal neurons pace the hippocampal theta rhythm? *Trends Neurosci* 13(5).
- Stone, W. S., H. J. Altman, R. F. Berman, D. F. Caldwell and M. M. Kilbey (1989). Association of sleep parameters and memory in intact old rats and young rats with lesions in the nucleus basalis magnocellularis. *Behav Neurosci* 103(4).
- Strata, F. (1998). Intrinsic oscillations in CA3 hippocampal pyramids: physiological relevance to theta rhythm generation. *Hippocampus* 8(6).
- Stumpf, C. (1965). THE FAST COMPONENT IN THE ELECTRICAL ACTIVITY OF RABBIT'S HIPPOCAMPUS. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 18
- Sugaya, K., R. Greene, D. Personett, M. Robbins, C. Kent, D. Bryan, E. Skiba, M. Gallagher and M. McKinney (1998). Septo-hippocampal cholinergic and neurotrophin markers in age-induced cognitive decline. *Neurobiol Aging* 19(4).
- Sun, Y., A. Q. Nguyen, J. P. Nguyen, L. Le, D. Saur, J. Choi, E. M. Callaway and X. Xu (2014). Cell-type-specific circuit connectivity of hippocampal CA1 revealed through Cre-dependent rabies tracing. *Cell Rep* 7(1).
- Sutcliffe, J. S., K. M. Marshall and J. C. Neill (2007). Influence of gender on working and spatial memory in the novel object recognition task in the rat. *Behavioural Brain Research* 177(1).
- Swanson, L. W. and W. M. Cowan (1979). The connections of the septal region in the rat. *J Comp Neurol* 186(4).
- Tang, X., J. Xiao, B. S. Parris, J. Fang and L. D. Sanford (2005). Differential effects of two types of environmental novelty on activity and sleep in BALB/cJ and C57BL/6J mice. *Physiol Behav* 85(4).
- Tanti, A., W.-P. Westphal, V. Girault, B. Brizard, S. Devers, A.-M. Leguisquet, A. Surget and C. Belzung (2013). Region-dependent and stage-specific effects of stress, environmental enrichment, and antidepressant treatment on hippocampal neurogenesis. *Hippocampus* 23(9).

- Tartar, J. L., C. P. Ward, J. T. McKenna, M. Thakkar, E. Arrigoni, R. W. McCarley, R. E. Brown and R. E. Strecker (2006). Hippocampal synaptic plasticity and spatial learning are impaired in a rat model of sleep fragmentation. *Eur J Neurosci* 23(10).
- Taube, J. S. (2007). The head direction signal: origins and sensory-motor integration. *Annu Rev Neurosci* 30
- Taube, J. S., R. U. Muller and J. B. Ranck, Jr. (1990). Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J Neurosci* 10(2).
- Teber, I., R. Kohling, E. J. Speckmann, A. Barnekow and J. Kremerskothen (2004). Muscarinic acetylcholine receptor stimulation induces expression of the activity-regulated cytoskeleton-associated gene (ARC). *Brain Res Mol Brain Res* 121(1-2).
- Tees, R. C. (1999). The influences of sex, rearing environment, and neonatal choline dietary supplementation on spatial and nonspatial learning and memory in adult rats. *Dev Psychobiol* 35(4).
- Terry, R. D., R. DeTeresa and L. A. Hansen (1987). Neocortical cell counts in normal human adult aging. *Ann Neurol* 21(6).
- Thibault, O. and P. W. Landfield (1996). Increase in single L-type calcium channels in hippocampal neurons during aging. *Science* 272(5264).
- Thompson, G. and D. Foth (2005). Cognitive-Training Programs for Older Adults: What Are they and Can they Enhance Mental Fitness? *Educational Gerontology* 31(8).
- Tombaugh, G. C., W. B. Rowe and G. M. Rose (2005). The slow afterhyperpolarization in hippocampal CA1 neurons covaries with spatial learning ability in aged Fisher 344 rats. *J Neurosci* 25(10).
- Tort, A. B., R. Komorowski, H. Eichenbaum and N. Kopell (2010). Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. *J Neurophysiol* 104(2).
- Tort, A. B., R. W. Komorowski, J. R. Manns, N. J. Kopell and H. Eichenbaum (2009). Theta-gamma coupling increases during the learning of item-context associations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(49).
- Tort, A. B., M. A. Kramer, C. Thorn, D. J. Gibson, Y. Kubota, A. M. Graybiel and N. J. Kopell (2008). Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(51).
- Toth, K., Z. Borhegyi and T. F. Freund (1993). Postsynaptic targets of GABAergic hippocampal neurons in the medial septum-diagonal band of Broca complex. *J Neurosci* 13(9).
- Trachsel, L., I. Tobler, P. Achermann and A. A. Borbély (1991). Sleep continuity and the REM-nonREM cycle in the rat under baseline conditions and after sleep deprivation. *Physiol Behav* 49(3).
- Tranter, L. J. and W. Koutstaal (2008). Age and flexible thinking: an experimental demonstration of the beneficial effects of increased cognitively stimulating activity on fluid intelligence in healthy older adults. *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn* 15(2).
- Treves, A. and E. T. Rolls (1994). Computational analysis of the role of the hippocampus in memory. *Hippocampus* 4(3).

- Trossbach, S. V., M. A. de Souza Silva, J. P. Huston, C. Korth and C. Mattern (2014). Intranasal dopamine treatment reinstates object-place memory in aged rats. *Neurobiol Learn Mem* 114
- Trulson, M. E. and B. L. Jacobs (1979). Raphe unit activity in freely moving cats: correlation with level of behavioral arousal. *Brain Res* 163(1).
- Tucker, A. M. and Y. Stern (2011). Cognitive reserve in aging. *Curr Alzheimer Res* 8(4).
- Turner, A. M. and W. T. Greenough (1985). Differential rearing effects on rat visual cortex synapses. I. Synaptic and neuronal density and synapses per neuron. *Brain Res* 329(1-2).
- Turturro, A., W. W. Witt, S. Lewis, B. S. Hass, R. D. Lipman and R. W. Hart (1999). Growth curves and survival characteristics of the animals used in the Biomarkers of Aging Program. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 54(11).
- Umbriaco, D., S. Garcia, C. Beaulieu and L. Descarries (1995). Relational features of acetylcholine, noradrenaline, serotonin and GABA axon terminals in the stratum radiatum of adult rat hippocampus (CA1). *Hippocampus* 5(6).
- Uttl, B. and P. Graf (1993). Episodic spatial memory in adulthood. *Psychol Aging* 8(2).
- Valenzuela, M. J., P. Sachdev, W. Wen, X. Chen and H. Brodaty (2008). Lifespan mental activity predicts diminished rate of hippocampal atrophy. *PLoS One* 3(7).
- Valero-Aracama, M. J., M. M. Sauvage and M. Yoshida (2015). Environmental enrichment modulates intrinsic cellular excitability of hippocampal CA1 pyramidal cells in a housing duration and anatomical location-dependent manner. *Behav Brain Res* 292
- Van Cauter, T., J. Camon, A. Alvernhe, C. Elduayen, F. Sargolini and E. Save (2013). Distinct Roles of Medial and Lateral Entorhinal Cortex in Spatial Cognition. *Cerebral Cortex* 23(2).
- van den Heuvel, O. A., H. J. Groenewegen, F. Barkhof, R. H. Lazeron, R. van Dyck and D. J. Veltman (2003). Frontostriatal system in planning complexity: a parametric functional magnetic resonance version of Tower of London task. *Neuroimage* 18(2).
- Van der Linden, M., S. Bredart and A. Beerten (1994). Age-related differences in updating working memory. *Br J Psychol* 85 (Pt 1)
- Van Gool, W. A. and M. Mirmiran (1983). Age-related changes in the sleep pattern of male adult rats. *Brain Res* 279(1-2).
- van Gool, W. A. and M. Mirmiran (1986). Effects of aging and housing in an enriched environment on sleep-wake patterns in rats. *Sleep* 9(2).
- van Groen, T., I. Kadish and J. M. Wyss (2002). Old rats remember old tricks; memories of the water maze persist for 12 months. *Behav Brain Res* 136(1).
- Van Loo, P. L., L. F. Van Zutphen and V. Baumans (2003). Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice. *Lab Anim* 37(4).
- van Praag, H., G. Kempermann and F. H. Gage (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* 1(3).
- van Praag, H., A. F. Schinder, B. R. Christie, N. Toni, T. D. Palmer and F. H. Gage (2002). Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415(6875).

- van Strien, N. M., N. L. Cappaert and M. P. Witter (2009). The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nat Rev Neurosci* 10(4).
- Van Waas, M. and M. Soffié (1996). Differential environmental modulations on locomotor activity, exploration and spatial behaviour in young and old rats. *Physiology & Behavior* 59(2).
- Vandecasteele, M., V. Varga, A. Berenyi, E. Papp, P. Bartho, L. Venance, T. F. Freund and G. Buzsaki (2014). Optogenetic activation of septal cholinergic neurons suppresses sharp wave ripples and enhances theta oscillations in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111(37).
- Vanderwolf, C. H. (1969). Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26(4).
- Veazey, R. B., D. G. Amaral and W. M. Cowan (1982). The morphology and connections of the posterior hypothalamus in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). II. Efferent connections. *J Comp Neurol* 207(2).
- Vela, J., A. Gutierrez, J. Vitorica and D. Ruano (2003). Rat hippocampal GABAergic molecular markers are differentially affected by ageing. *J Neurochem* 85(2).
- Vemuri, P., T. G. Lesnick, S. A. Przybelski, M. Machulda, D. S. Knopman, M. M. Mielke, R. O. Roberts, Y. E. Geda, W. A. Rocca, R. C. Petersen and C. R. Jack, Jr. (2014). Association of lifetime intellectual enrichment with cognitive decline in the older population. *JAMA Neurol* 71(8).
- Vertes, R. P. (1977). Selective firing of rat pontine gigantocellular neurons during movement and REM sleep. *Brain Research* 128
- Vertes, R. P. and B. Kocsis (1997). Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 81(4).
- Vertes, R. P. and G. F. Martin (1988). Autoradiographic analysis of ascending projections from the pontine and mesencephalic reticular formation and the median raphe nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 275(4).
- Vizi, E. S. and J. P. Kiss (1998). Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus* 8(6).
- von Stein, A. and J. Sarnthein (2000). Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. *Int J Psychophysiol* 38(3).
- Vorhees, C. V. and M. T. Williams (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 1(2).
- Warburton, E. C., A. L. Baird and J. P. Aggleton (1997). Assessing the magnitude of the allocentric spatial deficit associated with complete loss of the anterior thalamic nuclei in rats. *Behav Brain Res* 87(2).
- Warburton, E. C. and M. W. Brown (2015). Neural circuitry for rat recognition memory. *Behav Brain Res* 285
- Warren, S. G. and J. M. Juraska (1997). Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behav Neurosci* 111(2).

- West, M. J. (1993). Regionally specific loss of neurons in the aging human hippocampus. *Neurobiol Aging* 14(4).
- Whittington, M. A., R. D. Traub and J. G. Jefferys (1995). Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation. *Nature* 373(6515).
- Wiescholleck, V., M. A. Emma Andre and D. Manahan-Vaughan (2013). Early age-dependent impairments of context-dependent extinction learning, object recognition, and object-place learning occur in rats. *Hippocampus*
- Willis, S. L., S. L. Tennstedt, M. Marsiske, K. Ball, J. Elias, K. M. Koepke, J. N. Morris, G. W. Rebok, F. W. Unverzagt, A. M. Stoddard and E. Wright (2006). Long-term effects of cognitive training on everyday functional outcomes in older adults. *Jama* 296(23).
- Wilson, D. I., S. Watanabe, H. Milner and J. A. Ainge (2013a). Lateral entorhinal cortex is necessary for associative but not nonassociative recognition memory. *Hippocampus* 23(12).
- Wilson, I. A., S. Ikonen, M. Gallagher, H. Eichenbaum and H. Tanila (2005a). Age-associated alterations of hippocampal place cells are subregion specific. *J Neurosci* 25(29).
- Wilson, I. A., S. Ikonen, R. W. McMahan, M. Gallagher, H. Eichenbaum and H. Tanila (2003). Place cell rigidity correlates with impaired spatial learning in aged rats. *Neurobiol Aging* 24(2).
- Wilson, M. A. and B. L. McNaughton (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265(5172).
- Wilson, N. R., J. Kang, E. V. Hueske, T. Leung, H. Varoqui, J. G. Murnick, J. D. Erickson and G. Liu (2005b). Presynaptic regulation of quantal size by the vesicular glutamate transporter VGLUT1. *J Neurosci* 25(26).
- Wilson, R. S., P. A. Boyle, L. Yu, L. L. Barnes, J. A. Schneider and D. A. Bennett (2013b). Life-span cognitive activity, neuropathologic burden, and cognitive aging. *Neurology* 81(4).
- Winocur, G. (1998). Environmental influences on cognitive decline in aged rats. *Neurobiol Aging* 19(6).
- Winson, J. (1978). Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. *Science* 201(4351).
- Witting, W., M. Mirmiran, N. P. Bos and D. F. Swaab (1993). Effect of light intensity on diurnal sleep-wake distribution in young and old rats. *Brain Res Bull* 30(1-2).
- Womelsdorf, T., J. M. Schoffelen, R. Oostenveld, W. Singer, R. Desimone, A. K. Engel and P. Fries (2007). Modulation of neuronal interactions through neuronal synchronization. *Science* 316(5831).
- Wolf, N. J. (1991). Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog Neurobiol* 37(6).
- Wouterlood, F. G., E. Saldana and M. P. Witter (1990). Projection from the nucleus reuniens thalami to the hippocampal region: light and electron microscopic tracing study in the rat with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 296(2).
- Wright, R. O., S. W. Tsaih, J. Schwartz, A. Spiro, 3rd, K. McDonald, S. T. Weiss and H. Hu (2003). Lead exposure biomarkers and mini-mental status exam scores in older men. *Epidemiology* 14(6).

- Wulff, P., A. A. Ponomarenko, M. Bartos, T. M. Korotkova, E. C. Fuchs, F. Bahner, M. Both, A. B. Tort, N. J. Kopell, W. Wisden and H. Monyer (2009). Hippocampal theta rhythm and its coupling with gamma oscillations require fast inhibition onto parvalbumin-positive interneurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(9).
- Wyss, J. M., B. D. Chambless, I. Kadish and T. van Groen (2000). Age-related decline in water maze learning and memory in rats: strain differences. *Neurobiol Aging* 21(5).
- Xie, H., Y. Wu, J. Jia, G. Liu, Q. Zhang, K. Yu, Z. Guo, L. Shen and R. Hu (2013). Enrichment-induced exercise to quantify the effect of different housing conditions: a tool to standardize enriched environment protocols. *Behav Brain Res* 249
- Yaffe, K., D. Barnes, M. Nevitt, L. Y. Lui and K. Covinsky (2001). A prospective study of physical activity and cognitive decline in elderly women: women who walk. *Arch Intern Med* 161(14).
- Yassa, M. A. and C. E. Stark (2011). Pattern separation in the hippocampus. *Trends Neurosci* 34(10).
- Ypsilanti, A. R., M. T. Girao da Cruz, A. Burgess and I. Aubert (2008). The length of hippocampal cholinergic fibers is reduced in the aging brain. *Neurobiol Aging* 29(11).
- Zagaar, M., I. Alhaider, A. Dao, A. Levine, A. Alkarawi, M. Alzubaidy and K. Alkadhi (2012). The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiol Dis* 45(3).
- Zahodne, L. B., M. M. Glymour, C. Sparks, D. Bontempo, R. A. Dixon, S. W. MacDonald and J. J. Manly (2011). Education does not slow cognitive decline with aging: 12-year evidence from the victoria longitudinal study. *J Int Neuropsychol Soc* 17(6).
- Zanto, T. P. and A. Gazzaley (2014). Attention and Aging. *The Oxford Handbook of Attention*. A. C. a. K. Nobre, S. (Eds). Oxford, UK, Oxford University Press: 927-971.
- Zec, R. F., S. J. Markwell, N. R. Burkett and D. L. Larsen (2005). A longitudinal study of confrontation naming in the "normal" elderly. *J Int Neuropsychol Soc* 11(6).
- Zelinski, E. M. and K. P. Burnight (1997). Sixteen-year longitudinal and time lag changes in memory and cognition in older adults. *Psychol Aging* 12(3).
- Zemankovics, R., J. M. Veres, I. Oren and N. Hajos (2013). Feedforward inhibition underlies the propagation of cholinergically induced gamma oscillations from hippocampal CA3 to CA1. *J Neurosci* 33(30).
- Zepelin, H., W. E. Whitehead and A. Rechtschaffen (1972). Aging and sleep in the albino rat. *Behav Biol* 7(7).
- Zhang, B. and F. Sannajust (2000). Diurnal rhythms of blood pressure, heart rate, and locomotor activity in adult and old male Wistar rats. *Physiol Behav* 70(3-4).
- Zhang, S. J., J. Ye, J. J. Couey, M. Witter, E. I. Moser and M. B. Moser (2014). Functional connectivity of the entorhinal-hippocampal space circuit. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369(1635).
- Zimmermann, A., M. Stauffacher, W. Langhans and H. Wurbel (2001). Enrichment-dependent differences in novelty exploration in rats can be explained by habituation. *Behav Brain Res* 121(1-2).

Impact des conditions d'hébergement sur le vieillissement cognitif chez le Rat : études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques.

Résumé

Cette thèse avait pour but d'étudier dans quelle mesure l'enrichissement des conditions d'hébergement jusqu'à- ou à partir d'-un âge auquel les déficits cognitifs sont déjà présents contribue au maintien de la mémoire spatiale observé chez des rats âgés hébergés toute leur vie en environnement enrichi (EE), et d'étudier certains mécanismes neurobiologiques susceptibles de contribuer à cette préservation. Nous avons montré que l'hébergement en EE n'a pas besoin d'être maintenu jusqu'à la fin de la vie pour permettre la préservation des fonctions cognitives chez le Rat âgé. De plus, un enrichissement tardif ne permet pas de récupérer des capacités déjà altérées mais permet la préservation de certaines fonctions d'altérations subséquentes. Ce maintien de la mémoire spatiale ne semble pas être dû à la modification par l'enrichissement du cycle veille-sommeil. Par contre, cet enrichissement induit une modification de l'activité oscillatoire hippocampique, et pourrait, en favorisant une synchronisation neuronale locale, promouvoir un traitement de l'information au sein de réseaux plus spécialisés. Enfin, l'exposition à un EE pendant toute la vie permet la préservation de l'innervation cholinergique de différentes aires cérébrales, un effet pouvant contribuer au maintien des fonctions cognitives chez les animaux âgés hébergés toute leur vie en EE.

Mots-clés : vieillissement – enrichissement de l'environnement – mémoire spatiale – hippocampe – cycle veille-sommeil – activité oscillatoire – acétylcholine

Summary

This thesis aimed to investigate in which extent environmental enrichment (EE) until or from an age at which cognitive decline is already apparent contributes to the maintenance of spatial memory observed in aged rats housed all their life in EE, and to study some neurobiological mechanisms likely underlying this preservation. We showed that housing in EE does not need to be maintained until the end of life to allow the preservation of cognitive function in aged rats. Moreover, late EE does not permit the recovery from already altered capabilities, but enables the preservation of some functions of subsequent alterations. The maintenance of spatial memory does not seem to be due to EE-related modification of sleep-wake cycle. But, exposure to EE induces a modification of hippocampal oscillatory activity, and could, by supporting local neuronal synchronization, promote information processing in more specialized networks. Finally, EE preserves the cholinergic system from age-related alteration in different cerebral areas, a mechanism that could participate to the maintenance of cognitive function in aged rats housed all their life in EE.

Key-words: aging – environmental enrichment – spatial memory – hippocampus – sleep-wake cycle – oscillatory activity - acetylcholine