



HAL
open science

Implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours des processus de consolidation systémique et d'oubli de la mémoire associative chez le rat

Benjamin Bessieres

► **To cite this version:**

Benjamin Bessieres. Implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours des processus de consolidation systémique et d'oubli de la mémoire associative chez le rat. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Bordeaux, 2016. Français. NNT : 2016BORD0039 . tel-01424152

HAL Id: tel-01424152

<https://theses.hal.science/tel-01424152>

Submitted on 2 Jan 2017

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.

THESE

présentée pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité : Neurosciences

Par **Benjamin BESSIERES**

Implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours
des processus de consolidation systémique et d'oubli de la mémoire
associative chez le rat

Sous la direction du Dr. Olivier NICOLE

Soutenue le 31 Mars 2016

Membres du jury :

N. SANS	D.R. INSERM	Bordeaux	Présidente
S. LAROCHE	D.R. CNRS	Paris	Rapporteur
G. MALLERET	C.R. CNRS	Lyon	Rapporteur
C. FLORIAN	M.C.	Toulouse	Examineur
J. MICHEAU	P.U.	Bordeaux	Examineur
B. BONTEMPI	D.R. CNRS	Bordeaux	Invité
O. NICOLE	C.R. CNRS	Bordeaux	Directeur de thèse

Institut des Maladies Neurodégénératives - CNRS UMR 5293
Bât B2 – 4^e étage
Allée Geoffroy St Hilaire
33615 Pessac cedex

Je veux profiter de cette tribune pour m'adresser à ma génération... Despite some people will dislike what you do, someones will dislike who you are, let's hold on to our dreams... Touching people, making them cry, making them laugh, there is no limit to our ambition except for the ones we build for ourself. En bref, je pense que tout est possible à qui rêve, ose, travaille et n'abandonne jamais.

*Xavier Dolan
24.05.2014*

Carte des remerciements

Merci à tous ceux qui m'ont aidé et soutenu.



LISTE DES ABBREVIATIONS

AL – Amygdale latérale
AMPA – Acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AP2 – Adaptator protein 2
Arc – Activity-regulated cytoskeleton-associated protein
CA – Champs ammoniacaux
Ca²⁺ - Calcium
CaMKII – Calcium/calmoduline-dependent kinase
CCA – Cortex cingulaire antérieur
CK2 - Casein kinase 2
CO – Contrôle olfactif
COF – Cortex orbitofrontal
CPEB - Cytoplasmic polyadenylation element binding protein
CPFm – Cortex préfrontal médian
CREB - cAMP response element-binding protein
CRS – Cortex rétrosplénial
DLA – Domaine de liaison aux agonistes
DLT_{NMDA} – Dépression à long terme dépendante des récepteurs NMDA
DCT – Domaine C-terminal
DNT – Domaine N-terminal
DPS – Densité post-synaptique
DTM – Domaine transmembranaire
Ent – Cortex entorhinal
EP – Evitement passif
ERK – Extracellular signal-regulated kinase
EXP - Expérimentaux
FH – Formation hippocampique
GD – Gyrus denté
GFP – Green fluorescent protein
HDAC - Histone deacetylase
HIV - Human immunodeficiency virus
HPC - Hippocampe
H.M. - Henry Gustav Molaison
K⁺ - Potassium
KO - Knockout
LCSa – Liquide cérospinal artificiel
LTM – Lobe temporal médian
MAGUK – Membrane associated guanylate kinase
MAPK - Mitogen-activated protein kinase
MEK - Mitogen/Extracellular signal-regulated Kinase
Mg²⁺ - Magnésium
MSK1 - Mitogen- and stress-activated protein kinase-1
Na⁺ - Sodium
NMDA – N-méthyl-D-aspartate
NO – Monoxyde d'azote
PAI – Préférence alimentaire innée
PAK – p21-activating kinase
PAR – Cortex pariétal
PKM ζ – Protein kinase Mzeta

PLT_{NMDA} – Potentialisation à long terme dépendante des récepteurs NMDA
PP1 – Protein phosphatase 1
PP2B - Protein phosphatase 2 (=calcineurine)
PSD-95 – postsynaptic density 95
RE – Réticulum endoplasmique
SAP – Synapse-associated protein 102
SNC – Système nerveux central
SRR – Synaptic reentry reinforcement
STC – Synaptic tagging and capture
TARP – Transmembrane AMPA receptor regulatory protein
TAT - Trans-Activator of Transcription
TSPA – Transmission sociale de la préférence alimentaire
TTM – Théorie des traces multiples
Zn²⁺ - Zinc
Zif268 - Zinc finger protein 268 (=EGR-1 : Early growth response protein 1 = NGFI-A : Nerve growth factor-induced protein A)
ZIP – Zeta inhibitory peptide

RESUME

Initialement encodés dans l'hippocampe, les nouveaux souvenirs déclaratifs deviennent progressivement dépendants d'un réseau distribué de neurones corticaux au cours de leur maturation dans le temps. Cependant, les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant la consolidation et le stockage à long terme de ces nouveaux souvenirs au sein des réseaux corticaux restent à élucider. Les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (RNMDA) jouent un rôle essentiel dans l'induction et la régulation des changements synaptiques sous-tendant les processus mnésiques de type associatifs. Sur la base de leurs propriétés biophysiques respectives, nous avons formulé l'hypothèse que la redistribution synaptique des deux formes principales de sous-unités GluN2 exprimées dans le néocortex adulte (GluN2A and GluN2B), pourrait constituer un mécanisme de régulation de la plasticité synaptique supportant l'intégration et la stabilisation progressive des souvenirs au niveau cortical au cours du processus de consolidation mnésique. En combinant, chez le rat adulte, une approche comportementale, biochimique, pharmacologique et des stratégies innovantes consistant à manipuler le trafic de sous-unités des RNMDA à la surface synaptique, nos résultats mettent en évidence un changement cortical dans la composition synaptique en sous-unités GluN2, lequel régule la stabilisation progressive de la mémoire à long terme au sein des réseaux corticaux. Nous avons d'abord établi que les RNMDA contenant la sous-unité GluN2B, via leur interaction spécifique avec une protéine clé de la signalisation synaptique, la CaMKII, sont préférentiellement recrutés lors de la phase d'encodage pour permettre l'allocation des nouveaux souvenirs olfactifs associatifs dans un réseau de neurones corticaux spécifique. Au cours du processus de consolidation, nous avons révélé que la redistribution des RNMDA corticaux contenant les sous-unités GluN2B vers l'extérieur ou l'intérieur de l'espace synaptique suite à l'apprentissage, contrôle respectivement la stabilisation de la mémoire à long terme et son oubli au cours du temps. Enfin, renforcer l'acquisition initiale conduit à une augmentation plus rapide du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B et accélère la cinétique du dialogue hippocampo-cortical, ce qui se traduit par une stabilisation accélérée des souvenirs au sein des réseaux corticaux. Pris dans leur ensemble, nos travaux montrent que le trafic des GluN2B-RNMDA corticaux représente un mécanisme cellulaire majeur conditionnant le devenir des traces mnésiques (i.e. stabilisation versus oubli) et apporte un éclairage nouveau sur la façon dont le cerveau organise les souvenirs récents et anciens.

Mots clés : Consolidation mnésique - Mémoire associative - Récepteur NMDA - Réseaux corticaux - Hippocampe - Plasticité synaptique - Dynamique de surface - Allocation neuronale - Oubli.

Initially encoded in the hippocampus, new declarative memories are thought to become progressively dependent on a broadly distributed cortical network as they mature and consolidate over time. Although we have a good understanding of the mechanisms underlying the formation of new memories in the hippocampus, little is known about the cellular and molecular mechanisms by which recently acquired information is transformed into remote memories at the cortical level. The N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) is widely known to be a key player in many aspects of long-term experience-dependent synaptic changes underlying associative memory processes. Based on their distinct biophysical properties, we postulated that the activity-dependent surface dynamics of the two predominant GluN2 subunits (GluN2A and GluN2B) of NMDARs present in the adult neocortex could provide a metaplastic control of synaptic plasticity supporting the progressive embedding and stabilization of long-lasting associative memories within cortical networks during memory consolidation. By combining, in adult rats, behavioral, biochemical, pharmacological and innovative strategies consisting in manipulating trafficking of NMDAR subunits at the cell membrane, our results identify a cortical switch in the synaptic GluN2-containing NMDAR composition which drives the progressive embedding and stabilization of long-lasting memories within cortical networks. We first established that cortical GluN2B-containing NMDARs and their specific interactions with the synaptic signaling CaMKII protein are preferentially recruited upon encoding of associative olfactory memories to enable neuronal allocation, the process via which a new memory trace is thought to be allocated to a given neuronal network. As these memories are progressively processed and embedded into cortical networks, we observed a learning-induced surface redistribution of cortical GluN2B-containing NMDARs outwards or inwards synapses which respectively drives the progressive stabilization and subsequent forgetting of remote memories over time. Finally, increasing the strength, upon encoding, of the initial memory leads to a faster increase of the cortical GluN2A/GluN2B synaptic ratio and accelerates the kinetics of hippocampal-cortical interactions, which translated into a faster stabilization of memories within cortical networks. Taken together, our results provide evidence that GluN2B-NMDAR surface trafficking controls the fate of remote memories (i.e. stabilization versus forgetting), shedding light on a novel mechanism used by the brain to organize recent and remote memories.

Keywords : Systems-level consolidation - Remote associative memory - NMDA receptor - Cortical network - Hippocampus - Synaptic plasticity - Surface dynamics - Memory allocation – Forgetting.



A.	GENERALITES	84
B.	ALLOCATION NEURONALE ET SYNAPTIQUE	85
1.	<i>Allocation neuronale</i>	86
2.	<i>Allocation synaptique</i>	88
3.	<i>Relation entre allocation neuronale et synaptique</i>	88
C.	LES DIFFERENTES SOUS-UNITES GLUN2 MODULENT LA FONCTION SYNAPTIQUE	89
1.	<i>Impact des différentes sous-unités GluN2 sur les propriétés des récepteurs NMDA</i>	89
a)	Régions cérébrales d'expression.....	89
b)	Localisation cellulaire et subcellulaire	90
c)	Propriétés biophysiques	91
(1)	<i>Perméabilité et propriétés d'ouverture</i>	91
(2)	<i>Propriétés pharmacologiques</i>	93
(3)	<i>Trafic et partenaires intracellulaires</i>	94
2.	<i>La composition en sous-unités GluN2 régule les propriétés associatives des récepteurs NMDA</i>	95
3.	<i>Rôle des récepteurs NMDA dans la métaplasticité</i>	97
a)	L'activité neuronale contrôle la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B	97
(1)	<i>Transcription et traduction</i>	98
(2)	<i>Trafic intracellulaire</i>	98
(3)	<i>Diffusion latérale</i>	99
(4)	<i>Dégradation</i>	100
b)	La composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B module la plasticité synaptique	101
c)	Implication des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les processus de PLT et de DLT.....	103
4.	<i>Implications fonctionnelles des sous-unités GluN2A et GluN2B dans divers processus sensoriels et cognitifs in vivo</i>	104
a)	Continuum	104
b)	Modifications de la composition synaptique en sous-unités GluN2 durant le développement post-natal..	105
c)	Acquisition des capacités d'apprentissage d'une mémoire associative	107
d)	Conséquences de la variation de la composition synaptique en sous-unités GluN2 au cours du vieillissement	108
e)	Contribution fonctionnelle des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les processus mnésiques	110
V.	OBJECTIFS GENERAUX	114
A.	CHAPITRE I : CARACTERISATION ET OPTIMISATION DE LA TACHE DE TRANSMISSION SOCIALE DE PREFERENCE ALIMENTAIRE POUR L'ETUDE DE LA CONSOLIDATION MNESIQUE CHEZ LE RAT	115
B.	CHAPITRE II : EVOLUTION TEMPORELLE DE LA COMPOSITION SYNAPTIQUE EN SOUS-UNITES GLUN2A ET GLUN2B AU SEIN DES RESEAUX CORTICAUX AU COURS DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE ET DU PROCESSUS D'OUBLI	116
C.	CHAPITRE III : IMPLICATION FONCTIONNELLE DE LA REDISTRIBUTION POST-SYNAPTIQUE DES RECEPTEURS CORTICAUX CONTENANT LES SOUS-UNITES GLUN2A ET GLUN2B AU COURS DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE ET DU PROCESSUS D'OUBLI	116
D.	CHAPITRE IV : IMPLICATION FONCTIONNELLE DES SOUS-UNITES GLUN2A ET GLUN2B DANS LE PROCESSUS D'ETIQUETAGE CORTICAL NECESSAIRE A LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	117
E.	CHAPITRE V : EFFETS DE LA MODULATION DU RATIO POST-SYNAPTIQUE GLUN2A/GLUN2B SUR LA CINETIQUE DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL ET LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	118
	CHAPITRE I : CARACTERISATION ET OPTIMISATION DE LA TACHE DE TRANSMISSION SOCIALE DE PREFERENCE ALIMENTAIRE POUR L'ETUDE DE LA CONSOLIDATION MNESIQUE CHEZ LE RAT	122
I.	INTRODUCTION	124
A.	PRINCIPES ETHOLOGIQUES DE LA TACHE DE TSPA.....	124
B.	PERTINENCE DE LA TSPA POUR L'ETUDE DE LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	127
C.	OBJECTIFS	128
II.	CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES.....	128
A.	EXPERIENCE 1 : VALIDATION COMPORTEMENTALE DE LA MEMOIRE OLFACTIVE ASSOCIATIVE INDUITE PAR LA TSPA	128
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	128
a)	Animaux	128
b)	Procédure comportementale de la transmission sociale de préférence alimentaire	129
c)	Plan expérimental	130
d)	Analyses statistiques.....	130
2.	<i>Résultats</i>	131
a)	Evaluation de la préférence alimentaire à court et à long terme (Figure I.2A)	131

b)	Evaluation de la quantité totale de nourriture consommée (Figure I.2B)	131
3.	<i>Conclusion</i>	132
B.	EXPERIENCE 2 : EFFET DE LA DISSOCIATION DES COMPOSANTES SOCIALE ET OLFACTIVE INHERENTES A LA TACHE DE TSPA SUR LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	133
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	133
a)	Plan expérimental	133
b)	Analyses statistiques	133
2.	<i>Résultats</i>	134
3.	<i>Conclusion</i>	134
C.	EXPERIENCE 3 : EFFETS DE LA MODULATION DES ECHANGES SOCIAUX ENTRE LE RAT OBSERVATEUR ET LE RAT DEMONSTRATEUR SUR LA PERSISTANCE DE LA MEMOIRE OLFACTIVE ASSOCIATIVE AU COURS DU TEMPS	135
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	135
a)	Système de détection vidéo	135
b)	Méthode de modulation des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur	136
c)	Analyses statistiques	136
2.	<i>Résultats</i>	137
a)	Effets de la grille sur le nombre et la durée cumulée des contacts nez-à-nez durant une interaction sociale de 30 min	137
b)	Effets de la grille sur la force initiale de la mémoire olfactive associative et sur sa persistance au cours du temps	138
c)	Evaluation de la corrélation entre le nombre ou la durée des contacts nez-à-nez et les performances mnésiques à long terme	139
D.	EXPERIENCE 4 : EFFETS DE LA RESTRICTION DU NOMBRE OU DE LA DUREE DES CONTACTS NEZ-A-NEZ ENTRE LE RAT OBSERVATEUR ET LE RAT DEMONSTRATEUR SUR LA PERSISTANCE DE LA MEMOIRE OLFACTIVE ASSOCIATIVE	140
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	140
a)	Plan expérimental	140
b)	Analyses statistiques	140
2.	<i>Résultats</i>	141
a)	Effets des 15 min d'interaction avec grille sur le nombre et la durée cumulée des contacts nez-à-nez	141
b)	Effets des 15 min d'interaction avec grille sur la rétention de la mémoire à long terme	141
3.	<i>Conclusion</i>	142
III.	DISCUSSION	142
A.	LA TSPA GENERE UNE MEMOIRE OLFACTIVE ASSOCIATIVE	142
B.	MODULATION DE LA PERSISTANCE DE LA MEMOIRE INDUITE PAR LA TSPA	143
C.	UNE MEILLEURE STANDARDISATION DE LA TSPA POUR UNE PLUS GRANDE FIABILITE DE L'ETUDE DE LA MEMOIRE A LONG TERME	143
CHAPITRE II : EVOLUTION TEMPORELLE DE LA COMPOSITION SYNAPTIQUE EN SOUS-UNITES GLUN2A ET GLUN2B AU SEIN DES RESEAUX CORTICAUX AU COURS DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE ET DU PROCESSUS D'OUBLI		
		144
I. INTRODUCTION		
		146
A.	REGIONS CEREBRALES IMPLIQUEES DANS LE RAPPEL DES MEMOIRES RECENTE ET ANCIENNE INDUITES PAR LA TSPA	146
B.	DECOURS TEMPOREL DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL AU COURS DE LA CONSOLIDATION DE LA MEMOIRE OLFACTIVE ASSOCIATIVE	148
C.	CONTRIBUTION DE L'HPC A LA REORGANISATION DES STRUCTURES CORTICALES AU COURS DU PROCESSUS DE CONSOLIDATION SYSTEMIQUE	149
D.	OBJECTIFS	149
II.	CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES	150
A.	EXPERIENCE 1 : EVOLUTION TEMPORELLE DU RATIO POST-SYNAPTIQUE GLUN2A/GLUN2B AU SEIN DU COF ET DU PAR SUITE A L'ACQUISITION DE LA TACHE DE TSPA	150
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	150
a)	Euthanasie et extraction du tissu cérébral	150
b)	Fractionnement subcellulaire	151
c)	Western blot	153
d)	Immunoblot	153

e)	Quantification	153
f)	Analyses statistiques	154
g)	Plan expérimental	154
2.	<i>Résultats</i>	155
a)	Validation en western blot (WB) du protocole de fractionnement subcellulaire pour isoler les fractions DPS et non-DPS	155
b)	Evolution temporelle du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B dans le COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA	155
c)	Evolution temporelle du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B dans le PAR suite à l'acquisition de la tâche de TSPA	156
B.	EXPERIENCE 2 : EVOLUTION TEMPORELLE DU RATIO POST-SYNAPTIQUE GLUN2A/GLUN2B AU SEIN DU COF SUITE A L'EXPOSITION A L'ODEUR DE CUMIN (SANS INTERACTION SOCIALE)	157
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	157
a)	Plan expérimental	157
2.	<i>Résultats</i>	158
C.	EXPERIENCE 3 : EFFET DE L'INACTIVATION CHRONIQUE PRECOCE OU TARDIVE DE L'HPC DORSAL SUR LES VARIATIONS DU RATIO SYNAPTIQUE GLUN2A/GLUN2B AU SEIN DU COF SUITE A L'ACQUISITION DE LA TACHE DE TSPA	159
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	159
a)	Procédure chirurgicale	159
b)	Substances pharmacologiques	160
c)	Injections intracérébrales	161
d)	Contrôle histologique	161
e)	Analyses statistiques	161
f)	Plan expérimental	162
2.	<i>Résultats</i>	163
3.	<i>Conclusion</i>	163
III.	DISCUSSION	164
A.	UNE AUGMENTATION LENTE DU RATIO POST-SYNAPTIQUE GLUN2A/GLUN2B AU SEIN DU COF AU COURS DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL	164
B.	CORRELATION ENTRE NIVEAU D'ACTIVITE SYNAPTIQUE ET NIVEAU D'EXPRESSION DES SOUS-UNITES GLUN2 AU SEIN DU COF AU COURS DE LA STABILISATION ET DE L'OUBLI DES INFORMATIONS OLFACTIVES ASSOCIATIVES	165
C.	COMMENT SE MAINTIENT LE RATIO GLUN2A/GLUN2B DANS LE COF SUITE AU DESENGAGEMENT HIPPOCAMPIQUE ? ..	165
CHAPITRE III : IMPLICATION FONCTIONNELLE DE LA REDISTRIBUTION POST-SYNAPTIQUE DES RECEPTEURS CORTICAUX CONTENANT LES SOUS-UNITES GLUN2A ET GLUN2B AU COURS DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE ET DU PROCESSUS D'OUBLI		
I.	INTRODUCTION	170
A.	CONTRIBUTION FONCTIONNELLE DE LA REDISTRIBUTION DES RECEPTEURS NMDA CONTENANT LES SOUS-UNITES GLUN2 DANS LES PROCESSUS MNESIQUES	170
B.	OBJECTIFS	172
II.	CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES	172
A.	EXPERIENCE 1 : INACTIVATIONS PHARMACOLOGIQUES CHRONIQUES PRECOCES OU TARDIVES DES GLUN2A-RNMDA OU DES GLUN2B-RNMDA DU COF AU COURS DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE DE LA MEMOIRE A LONG TERME	172
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	172
a)	Procédure chirurgicale	172
b)	Substances pharmacologiques et injections intracérébrales	173
c)	Analyses statistiques	174
d)	Plan expérimental	174
2.	<i>Résultats</i>	176
a)	Effet de l'inactivation chronique précoce ou tardive des récepteurs NMDA du COF sur la préférence alimentaire innée	176
b)	Effet de l'inactivation chronique précoce ou tardive des récepteurs NMDA du COF sur la formation de la mémoire à long terme	177
c)	Vérification de l'effet des inactivations pharmacologiques chroniques des récepteurs NMDA sur les changements d'expression post-synaptiques des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF	178
3.	<i>Conclusion</i>	179

B.	EXPERIENCE 2 : VERIFICATION DES EFFETS REVERSIBLES DES INACTIVATIONS PHARMACOLOGIQUES CHRONIQUES SUR LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	180
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	180
a)	Plan expérimental	180
3.	<i>Conclusion</i>	182
C.	EXPERIENCE 3 : INACTIVATION PHARMACOLOGIQUE DES RECEPTEURS NMDA CORTICAUX LORS DU RAPPEL DES INFORMATIONS RECENTES ET ANCIENNES	183
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	183
a)	Plan expérimental	183
2.	<i>Résultats</i>	184
a)	Effet de l'inactivation transitoire des récepteurs NMDA du COF sur la préférence alimentaire innée	184
b)	Effet de l'inactivation transitoire des récepteurs NMDA du COF sur le rappel de la mémoire récente et ancienne	184
3.	<i>Conclusion</i>	185
D.	EXPERIENCE 4 : BLOCAGE ARTIFICIEL DE LA DIFFUSION LATÉRALE DES GLUN2B-RNMDA ENTRE LES COMPARTIMENTS SYNAPTIQUES ET EXTRA-SYNAPTIQUES AU COURS DU TEMPS : EFFET SUR LA STABILISATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME ET SUR SON OUBLI	185
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	186
a)	« Cross-linking » (x-link) in vivo	186
b)	Analyses statistiques	187
c)	Plan expérimental	187
2.	<i>Résultats</i>	189
a)	Vérification de l'effet du x-link des GluN2B-RNMDA sur les changements d'expression post-synaptiques des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF	189
b)	Effet du x-link des GluN2B-RNMDA dans le COF sur la préférence alimentaire innée	190
c)	Effet du x-link des GluN2B-RNMDA sur la formation de la mémoire à long terme et son oubli au cours du temps 191	
3.	<i>Conclusion</i>	191
E.	EXPERIENCE 5 : BLOCAGE ARTIFICIEL DE LA DIFFUSION LATÉRALE DES GLUN2A-RNMDA : EFFET SUR LA STABILISATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	192
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	192
a)	« Cross-linking » in vivo	192
b)	Analyses statistiques	192
c)	Plan expérimental	193
2.	<i>Résultats</i>	194
a)	Effet du x-link des GluN2A-RNMDA dans le COF sur la préférence alimentaire innée	194
b)	Effet du x-link des GluN2A-RNMDA sur la formation de la mémoire à long terme	194
3.	<i>Conclusion</i>	195
III.	DISCUSSION	195
A.	LA CONSOLIDATION MNESIQUE A L'ECHELLE SYSTEMIQUE NECESSITE LA REACTIVATION DES RECEPTEURS NMDA CORTICAUX 196	
B.	DUALITE DES GLUN2B-RNMDA CORTICAUX DANS LA FORMATION ET L'OUBLI DES TRACES MNESIQUES	197
1.	<i>Implication fonctionnelle des GluN2B-RNMDA corticaux dans la formation de la mémoire à long terme</i>	198
2.	<i>Implication fonctionnelle des GluN2B-RNMDA corticaux dans l'oubli de la mémoire à long terme</i> 199	
CHAPITRE IV : IMPLICATION FONCTIONNELLE DES SOUS-UNITES GLUN2A ET GLUN2B DANS LE PROCESSUS D'ETIQUETAGE CORTICAL NECESSAIRE A LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME		202
I.	INTRODUCTION	204
A.	BASES MOLECULAIRES DU PROCESSUS D'ETIQUETAGE CORTICAL	204
B.	IMPLICATION FONCTIONNELLE DE L'INTERACTION ENTRE LES SOUS-UNITES GLUN2B ET LA CAMKII DANS LES PROCESSUS DE PLASTICITE SYNAPTIQUE	205
C.	OBJECTIFS	208
II.	CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES	210
A.	EXPERIENCE 1 : INACTIVATION PHARMACOLOGIQUE DES GLUN2A-RNMDA ET GLUN2B-RNMDA CORTICAUX LORS DE L'INTERACTION SOCIALE : EFFET SUR LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	210

1.	<i>Matériels et méthodes</i>	210
a)	Analyses statistiques	210
b)	Plan expérimental	210
2.	<i>Résultats</i>	212
3.	<i>Conclusion</i>	213
B.	EXPERIENCE 2 : VERIFICATION DE L'EFFET GENERALISABLE DE L'INACTIVATION DES RECEPTEURS NMDA CORTICAUX SUR LA CONSOLIDATION MNESIQUE A D'AUTRES INFORMATIONS OLFACTIVES	214
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	214
a)	Plan expérimental	214
2.	<i>Résultats</i>	215
3.	<i>Conclusion</i>	216
C.	EXPERIENCE 3 : INACTIVATION PHARMACOLOGIQUE DES GLUN2A-RNMDA ET GLUN2B-RNMDA CORTICAUX LORS DE L'INTERACTION SOCIALE : EFFET SUR L'ACQUISITION DE LA MEMOIRE OLFRACTIVE ASSOCIATIVE	216
1.	<i>1. Matériels et méthodes</i>	216
a)	Analyses statistiques	216
b)	Plan expérimental	216
2.	<i>Résultats</i>	217
3.	<i>Conclusion</i>	218
D.	EXPERIENCE 4 : BLOCAGE DE L'INTERACTION ENTRE LES SOUS-UNITES GLUN2B ET LA CAMKII LORS DE L'INTERACTION SOCIALE : EFFET SUR LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME	219
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	219
a)	Peptides TAT-CN21	219
b)	Analyses statistiques	219
c)	Plan expérimental	220
2.	<i>Résultats</i>	221
E.	EXPERIENCE 5 : BLOCAGE DE L'INTERACTION ENTRE LES SOUS-UNITES GLUN2B ET LA CAMKII LORS DE L'INTERACTION SOCIALE : EFFET SUR L'ACQUISITION DE LA MEMOIRE OLFRACTIVE ASSOCIATIVE	222
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	222
a)	Analyses statistiques	222
b)	Plan expérimental	222
2.	<i>Résultats</i>	223
3.	<i>Conclusion</i>	223
III.	DISCUSSION	224
A.	IMPLICATION FONCTIONNELLE DES GLUN2B-RNMDA CORTICAUX ET DE LEUR INTERACTION AVEC LA CAMKII DANS LE PROCESSUS D'ETIQUETAGE CORTICAL : QUELQUES ETUDES COMPORTEMENTALES CONVERGENTES	225
B.	LES GLUN2B-RNMDA CORTICAUX : UN SUBSTRAT MOLECULAIRE DE L'ALLOCATION SYNAPTIQUE DES NOUVELLES TRACES MNESIQUES AU COURS DU PROCESSUS D'ETIQUETAGE ?	227
1.	<i>Les synapses enrichies en sous-unités GluN2B possèdent-elles un avantage compétitif ?</i>	227
2.	<i>Les traces mnésiques associées au cacao et au cumin recrutent-elles des populations de neurones corticaux différentes ?</i>	228
CHAPITRE V : EFFETS DE LA MODULATION DU RATIO POST-SYNAPTIQUE GLUN2A/GLUN2B SUR LA CINETIQUE DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL ET LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME		232
I.	INTRODUCTION	234
A.	MODULATION DE LA CINETIQUE DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL : AU-DELA DU CONCEPT DE SCHEMA ?	234
B.	OBJECTIFS	235
II.	CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES	236
A.	EXPERIENCE 1 : EFFET DE LA REACTIVATION DE LA TRACE MNESIQUE DURANT L'INTERVALLE DE RETENTION SUR L'OUBLI DE LA MEMOIRE A LONG TERME	236
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	236
a)	Plan expérimental	236
2.	<i>Résultats</i>	237
a)	Effet de la réexposition à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention sur les performances mnésiques testées 60 jours après l'interaction sociale	237
b)	Effet de la réexposition à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention sur le ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B du COF 60 jours après l'interaction sociale	238

3.	<i>Conclusion</i>	238
B.	EXPERIENCE 2 : EFFET DES INTERACTIONS MULTIPLES SUR LE RAPPEL DES INFORMATIONS RECENTES ET ANCIENNES.....	239
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	239
a)	Plan expérimental	239
2.	<i>Résultats</i>	240
a)	Quantification de la dynamique d'interaction sociale entre le rat observateur et les 4 rats démonstrateurs successifs	240
b)	Performance mnésique des rats observateurs suite aux 4 interactions sociales	241
3.	<i>Conclusion</i>	242
C.	EXPERIENCE 3 : EFFET DES INTERACTIONS MULTIPLES SUR L'EVOLUTION TEMPORELLE DU RATIO GLUN2A/GLUN2B DANS LES MEMBRANES POST-SYNAPTIQUES DU COF	242
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	242
a)	Plan expérimental	242
2.	<i>Résultats</i>	243
3.	<i>Conclusion</i>	244
D.	EXPERIENCE 4 : INACTIVATIONS PHARMACOLOGIQUES CHRONIQUES DES GLUN2A-RNMDA ET GLUN2B-RNMDA CORTICAUX DURANT LA PHASE PRECOCE POST-INTERACTIONS MULTIPLES : EFFET SUR LA FORMATION DE LA MEMOIRE A LONG TERME 245	
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	245
a)	Plan expérimental	245
2.	<i>Résultats</i>	246
3.	<i>Conclusion</i>	247
E.	EXPERIENCE 5 : EFFET DES INTERACTIONS MULTIPLES SUR LA CINETIQUE DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE DES INFORMATIONS OLFACTIVES ASSOCIATIVES.....	248
1.	<i>Matériels et méthodes</i>	248
a)	Plan expérimental	248
2.	<i>Résultats</i>	249
a)	Effet de l'inactivation pharmacologique de l'HPC dorsal ou du COF sur le rappel de la mémoire 7 jours après une interaction sociale unique	249
b)	Effet de l'inactivation pharmacologique de l'HPC dorsal ou du COF sur le rappel de la mémoire 4h, 1 jour ou 7 jours après 4 interactions sociales.....	250
3.	<i>Conclusion</i>	251
III.	DISCUSSION	252
A.	LA FORCE DE L'APPRENTISSAGE INFLUENCE LA CINETIQUE DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL	253
B.	LA DYNAMIQUE DES RECEPTEURS NMDA CORTICAUX CONTROLE-T-ELLE LA CINETIQUE DU DIALOGUE HIPPOCAMPO-CORTICAL ?	254
	DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES	258
I.	SYNTHESE DES RESULTATS PRINCIPAUX	261
A.	LE CHOIX DE LA TACHE DE TSPA POUR L'ETUDE DE LA CONSOLIDATION MNESIQUE CHEZ LE RAT	261
B.	SCHEMA DE SYNTHESE : LA REDISTRIBUTION DES GLUN2B-RNMDA CORTICAUX VERS L'EXTERIEUR OU L'INTERIEUR DE L'ESPACE SYNAPTIQUE CONTROLE LA STABILISATION ET L'OUBLI DE LA MEMOIRE A LONG TERME AU COURS DU TEMPS.....	261
1.	<i>L'étiquetage cortical</i>	264
2.	<i>Dialogue hippocampo-cortical</i>	264
3.	<i>Dialogue cortico-cortical</i>	266
4.	<i>L'oubli</i>	266
5.	<i>Augmentation de la force de l'apprentissage</i>	266
6.	<i>Conclusion</i>	267
II.	REFLEXIONS SUR L'IMPLICATION FONCTIONNELLE DES RECEPTEURS NMDA CORTICAUX AU COURS DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE	268
A.	EXTENSION DE L'IMPLICATION FONCTIONNELLE DES GLUN2B-RNMDA CORTICAUX AU PROCESSUS DE RECONSOLIDATION 268	
B.	QUID DE LA MEMOIRE HUMAINE ?	269
C.	DEREGULATIONS PATHOLOGIQUES DU TRAFIC DES RECEPTEURS NMDA ET POTENTIELS THERAPEUTIQUES.....	271
	BIBLIOGRAPHIE	274



I. La mémoire et son engramme

La mémoire se définit comme l'aptitude intellectuelle à conserver et restituer des informations du passé. La plupart de nos connaissances du monde ainsi que nos aptitudes ne sont pas innées mais acquises. L'apprentissage et la mémoire constituent ainsi des fonctions cognitives essentielles en assurant la continuité de notre vie mentale et la construction cohérente de notre identité. Nous sommes ce que nous avons appris et ce dont on se souvient. La mémoire est un processus dynamique désignant à la fois le stock de connaissances et les mécanismes d'utilisation, d'organisation et d'expression de ces connaissances. Les processus mnésiques peuvent être résumés en trois grandes phases consécutives : 1) l'encodage, c'est à dire l'acquisition d'une nouvelle information au cours d'une période d'apprentissage, 2) le stockage ou la rétention, période pendant laquelle l'information précédemment encodée est « assimilée » de façon à être organisée et conservée, et enfin 3) la restitution ou le rappel de cette information (Figure 1).

Où et comment nos souvenirs se forment et sont conservés dans le cerveau reste une question fondamentale des neurosciences contemporaines. Dès lors, ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre des études visant à préciser les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la formation et la stabilisation à long terme de la mémoire. Autrement dit, par l'intermédiaire de quel(s) processus neuronaux construisons-nous notre « bibliothèque » de souvenirs anciens ? Bien que cette question soit très complexe et soumise à d'intenses débats, il apparaît évident aujourd'hui que la formation et le stockage d'un souvenir repose sur des modifications physiques et biochimiques durables induites au sein du cerveau par son apprentissage. Ces modifications sont rassemblées sous le terme d'« engramme » ou trace mnésique (Josselyn et al., 2015).

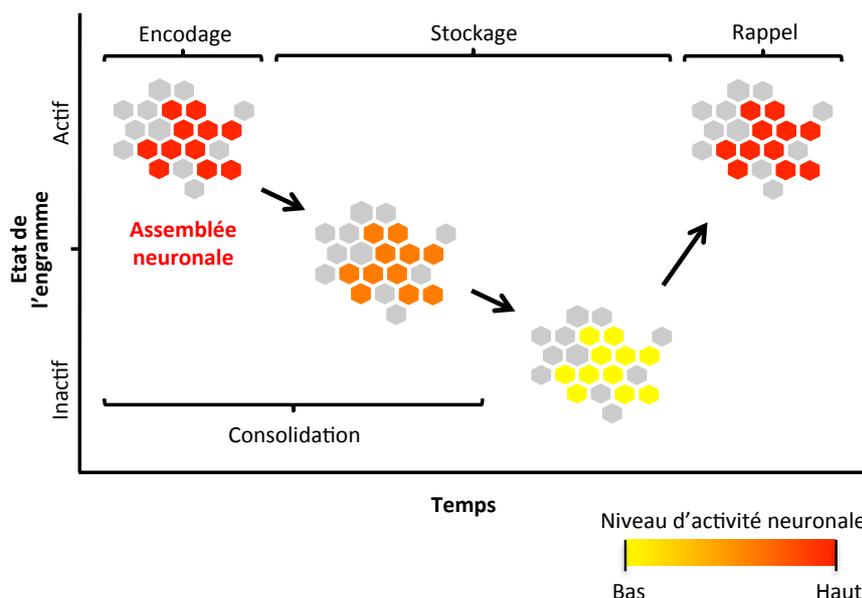


Figure 1 : La vie de l'engramme. L'encodage de la mémoire implique des modifications physiques et biochimiques (l'engramme) au sein des neurones actifs durant l'apprentissage. L'engramme peut se caractériser par un renforcement de la connectivité entre ces neurones, ce qui participe à la formation d'une assemblée neuronale supportant ainsi le stockage de la mémoire. Durant le processus de consolidation mnésique, l'engramme initialement labile est stabilisé avant d'entrer dans un état inactif. Il retourne ensuite dans un état actif et à nouveau transitoirement labile au moment du rappel mnésique. Bien que non illustré ci-dessus, le rappel peut s'opérer durant le processus de consolidation et être suivi d'un processus de reconsolidation au cours duquel l'engramme peut être stabilisé à nouveau et ainsi retourner dans un état inactif. Adapté de Josselyn et al., 2015.

A. La théorie de Semon

Au début du 20^{ième} siècle, le biologiste allemand Richard Semon (1859-1918) fut le premier à proposer la « théorie de l'engramme », pour éclairer le fonctionnement de la mémoire humaine (Semon, 1923). Semon bâtit sa théorie sur deux grands postulats appelés la « Loi de l'Engraphie » et la « Loi de l'Ecphorie », chacun d'eux faisant respectivement référence au stockage de la mémoire et à son rappel (Semon, 1923).

Bien que longtemps ignorée, la proposition de Semon sur les processus mnésiques était très novatrice dans le contexte scientifique de l'époque et remarquablement prédictive des concepts contemporains sur le stockage et le rappel de la mémoire. Par exemple, la vision de Semon concernant le rappel mnésique est ré-intégrative dans le sens où seulement une partie de l'expérience ou de l'événement original a besoin d'être présent pour permettre le rappel du souvenir dans son intégralité (Schacter et al., 1978). La madeleine de Proust fait alors son apparition ! Pour la petite histoire, dans l'une des premières versions de son manuscrit *À la recherche du temps perdu* -

Du côté de chez Swann (1906-1922), Marcel Proust, hésitant entre diverses pâtisseries, avait initialement choisi une biscotte et non une madeleine (*Dictionnaire amoureux de Marcel Proust*, Jean-Paul Enthoven et Raphaël Enthoven, Plon). Un coup dur pour tous les fétichistes littéraires. Au-delà de cette anecdote, la prédiction de Semon fait directement écho au concept de « pattern completion » théorisé (Marr, 1970) et démontré empiriquement plusieurs décennies plus tard (Leutgeb et al., 2004).

Cependant, probablement limité dans sa réflexion par les contraintes techniques de l'époque, Semon n'émet aucune hypothèse quant aux bases biologiques de sa théorie. Un demi-siècle après que Semon ait publié ses premiers travaux, le psychologue américain Karl Lashley (1890-1959) effectua les premières recherches empiriques visant à localiser l'engramme à l'échelle systémique dans le cerveau de rongeurs. Sa méthode consista à effectuer des lésions de tailles variables dans le cortex cérébral afin de « trouver » la trace mnésique générée par une tâche spatiale. Lashley montra que la mémoire était altérée chez la plupart de ces animaux et que la sévérité du déficit mnésique était proportionnelle à la taille de la lésion. Sur la base de ces résultats, Lashley conclura que la trace mnésique est étendue à tout le cortex cérébral sans localisation bien définie (Lashley 1950). Bien que partiellement fautive, la conclusion devenue célèbre de Lashley selon laquelle « l'engramme est insaisissable » est restée très influente durant plusieurs années (Bruce, 2001; Dudai and Eisenberg, 2004). Suite aux travaux de Lashley, de nombreuses études ont été menées dans l'objectif de localiser et caractériser l'engramme chez l'Homme et l'animal grâce à plusieurs approches expérimentales (électrophysiologiques, lésionnelles, en neuro-imagerie fonctionnelle,...), corrélatives ou invasives, combinées à une large variété de paradigmes comportementaux (pour revue (Josselyn et al., 2015).

B. Un siècle après Semon

En tirant avantage de l'existence de gènes de réponse précoce (tel que c-Fos, Zif268 ou Arc) dont l'expression est induite par l'activité neuronale (Flavell and Greenberg, 2008), couplée à plusieurs techniques invasives (dont pharmacologique, pharmacogénétique et optogénétique), il est aujourd'hui possible d'identifier et de manipuler les neurones constituant une trace mnésique spécifique. Grâce à ces avancées technologiques, plusieurs résultats importants ont été apportés récemment chez le rongeur visant à comprendre les propriétés de l'engramme, essentiellement dans l'hippocampe (HPC), l'amygdale et le cortex suite à un conditionnement pavlovien. Ces études démontrent premièrement que chaque souvenir recrute une population spécifique de neurones

actifs durant l'encodage et réactivée au moment du rappel du souvenir dans l'amygdale (Han et al., 2007; Reijmers et al., 2007), l'HPC (Deng et al., 2013; Tayler et al., 2013) et le cortex (Tayler et al., 2013; Xie et al., 2014; Zelikowsky et al., 2014). Comme nous le verrons par la suite, il est important de noter que l'engramme associé à un souvenir n'a pas nécessairement qu'une seule localisation anatomique mais peut être distribué sous la forme d'un réseau neuronal étendu à plusieurs régions cérébrales. Ceci pourrait expliquer la difficulté de Lashley à localiser l'engramme avec les outils d'investigation utilisés à l'époque. Deuxièmement, inhiber de façon réversible ou irréversible ces neurones dans l'amygdale (Han et al., 2009; Zhou et al., 2009) ou dans l'HPC (Denny et al., 2014; Matsuo, 2015; Tanaka et al., 2014) altère le rappel de la mémoire acquise dans une tâche de conditionnement de peur. Des résultats similaires ont été obtenus concernant une mémoire spatiale suite à la l'inhibition de la trace mnésique dans le cortex rétrosplénial (Czajkowski et al., 2014). Troisièmement, réactiver artificiellement les neurones constituant l'engramme est suffisant pour déclencher l'expression comportementale de la mémoire habituellement induite par des stimuli naturels (Cowansage et al., 2014; Liu et al., 2012; Nabavi et al., 2014; Ryan et al., 2015). L'ensemble de ces études a apporté la démonstration que ces neurones constituent la base cellulaire de la trace mnésique. Quatrièmement, l'activation artificielle de ces neurones rend la mémoire labile et capable d'incorporer de nouvelles informations afin de former une nouvelle mémoire (Choi et al., 2011; Garner et al., 2012; Johansen et al., 2012; Kwon et al., 2014; Ohkawa et al., 2015; Ramirez et al., 2013; Redondo et al., 2014). Cette capacité de la trace mnésique à pouvoir être modifiée et actualisée au moment de sa réactivation pourrait constituer un mécanisme potentiel de formation des faux souvenirs chez l'Homme et l'animal.

Sur la base de ces principaux résultats et en incorporant les connaissances actuelles sur le fonctionnement des neurones, des connexions synaptiques et des circuits neuronaux, plusieurs auteurs contemporains de Semon et Lashley ont proposé une reformulation de la notion d'engramme (Josselyn et al., 2015; Tonegawa et al., 2015). En voici la substance : lorsqu'un individu est soumis à une nouvelle expérience, un ensemble de stimuli spécifiques constituant cette expérience active une population de neurones afin d'induire un renforcement de leur connectivité, conduisant à la formation d'une assemblée neuronale en charge du stockage mnésique. Par la suite, lorsque l'individu est réexposé à au moins une partie des stimuli originaux, l'assemblée neuronale portant l'engramme est réactivée afin d'induire le rappel cohérent de l'expérience originale. L'engramme peut ainsi exister dans un état « dormant » entre deux états actifs correspondant à l'encodage et au rappel (Figure 1). De plus, il se distingue de la mémoire proprement dite par le fait que le premier fournit seulement le substrat neuronal nécessaire à l'expression de la seconde. Enfin, bien que la formation et la maintenance de la trace mnésique implique la reconfiguration des

connexions synaptiques entre les neurones actifs durant l'encodage, elle recouvre également d'autres processus cellulaires mesurables à différentes échelles d'analyse incluant des variations de l'excitabilité neuronale ou des modifications épigénétiques.

Malgré l'apport de résultats récents très enthousiasmants, le fait de pouvoir enfin localiser et manipuler l'engramme ne signifie pas que les mécanismes sous-tendant sa formation, son stockage et son évolution au cours du temps sont pleinement compris. De nombreuses expériences restent à effectuer pour atteindre cet objectif.

C. L'engramme : une cible dynamique

L'engramme peut être considéré comme un objet dynamique dans le temps et dans l'espace. C'est une cible à la fois « changeante » dans sa nature cellulaire et moléculaire et « mouvante » au sein des différentes régions cérébrales impliquées dans le traitement de l'information mnésique au cours du temps. Ces deux types de réorganisation, à l'échelle synaptique et systémique, font référence au processus de consolidation mnésique, lequel permet la formation d'une mémoire à long terme stabilisée et durable. Ce processus complexe de par les mécanismes cellulaires et moléculaires qu'il engendre, constitue le sujet central de ce travail de thèse. La suite de cette introduction générale s'articulera donc principalement autour des mécanismes systémiques d'une part et synaptiques d'autre part, tous deux participant à la consolidation des souvenirs.

II. La mémoire déclarative

La mémoire est un concept général qui se décline en différentes formes bien distinctes de par leur fonctionnement et qui reposeraient en partie sur des circuits cérébraux (ou systèmes de mémoire) différents. Cette idée, loin d'être nouvelle, a mûri dans l'esprit des psychologues et des philosophes depuis plus de deux siècles, mais a trouvé ses premiers arguments expérimentaux grâce aux études menées sur les patients amnésiques. La célèbre étude du cas H.M., rapportée par William Scoville et Brenda Milner à partir de 1957, a fourni des informations majeures quant aux aspects neurobiologiques de la mémoire.

A. Henry Gustav Molaison (1926 - 2008), alias le patient H.M.

H.M. souffrait de fortes crises d'épilepsie suite à un accident de vélo dans sa jeunesse. En 1953, afin de supprimer ces crises, Scoville effectua l'ablation bilatérale d'une large portion du lobe

temporal médian (LTM) incluant l'HPC et les régions adjacentes de son patient. Bien que cette intervention ait permis de supprimer les manifestations épileptiques, H.M. présentait des déficits mnésiques importants : il souffrait notamment d'amnésie antérograde, c'est-à-dire qu'il était incapable de former de nouveaux souvenirs (Scoville and Milner, 1957). H.M. pouvait cependant retenir une information pendant plusieurs minutes en utilisant des stratégies mnémotechniques et en maintenant activement et continuellement l'information en mémoire. Mais après un certain laps de temps et dès que son attention était redirigée, il perdait l'information et ne se souvenait absolument pas de l'exercice qu'il venait de réaliser. Cependant, malgré cette forte amnésie antérograde, H.M. était capable de retenir certaines informations en raison de leur caractère répétitif ou familier (comme le fait qu'il ait des problèmes de mémoire ou le plan de sa nouvelle maison) ou à charge émotionnelle forte (comme le fait que ses parents soient décédés ou que le président J.F. Kennedy ait été assassiné). L'émotion et la répétition feraient appel à d'autres structures cérébrales que le LTM afin de mémoriser ces informations, comme le système limbique. Initialement, Brenda Milner avait cru que le déficit mnésique de H.M. était total, mais en 1962, elle démontra qu'il était capable de développer une sorte de mémoire inconsciente (pour revue (Tulving, 1972). En effet, il pouvait exécuter un certain nombre de tâches qui relevaient de la mémoire à long terme, mais qui ne faisaient pas appel explicitement et consciemment aux informations acquises. Par exemple, il réussissait à apprendre et à progresser dans la tâche du dessin en miroir, et ce sans jamais se rappeler qu'il l'avait déjà dessiné les jours précédents. Ainsi, les travaux de Brenda Miller ont révélé plusieurs principes fondamentaux:

(1) Des lésions du LTM n'ont pas d'effet ni sur le quotient intellectuel, ni sur les aptitudes perceptives et cognitives globales, mais affectent tout particulièrement le processus cognitif de formation de la mémoire.

(2) Il existe une dissociation d'un point de vue systémique et anatomique entre mémoire à court terme et mémoire à long terme : le patient H.M. avait une mémoire à court terme équivalente à celle de sujets sains. Ainsi, les structures du LTM ne seraient pas nécessaires pour la mémoire à court terme.

(3) Il existe plusieurs formes de mémoire à long terme, et les structures cérébrales sous-tendant ces types de mémoire peuvent être différentes. L'amnésie secondaire aux lésions du LTM ne concerne que la mémoire des faits et des événements, cette mémoire est appelée « mémoire déclarative ».

B. Les systèmes de mémoire à long terme : taxonomie et généralités

De nos jours, il existe encore des incertitudes sur le nombre exact de systèmes mnésiques et les critères qui permettent de les distinguer. Néanmoins, les neurosciences cognitives s'accordent sur un consensus concernant les principaux systèmes et les régions cérébrales qui les sous-tendent. A l'heure actuelle, l'une des classifications les plus utilisées est celle proposée par Larry Squire en 2004 (Figure 2). Le critère de distinction majeur repose sur le niveau de conscience qu'engage le rappel des souvenirs : la capacité de retrouver des faits ou des événements de façon explicite/consciente ou implicite/non consciente définit ainsi la différence entre mémoires déclaratives et non déclaratives (Squire, 2004).

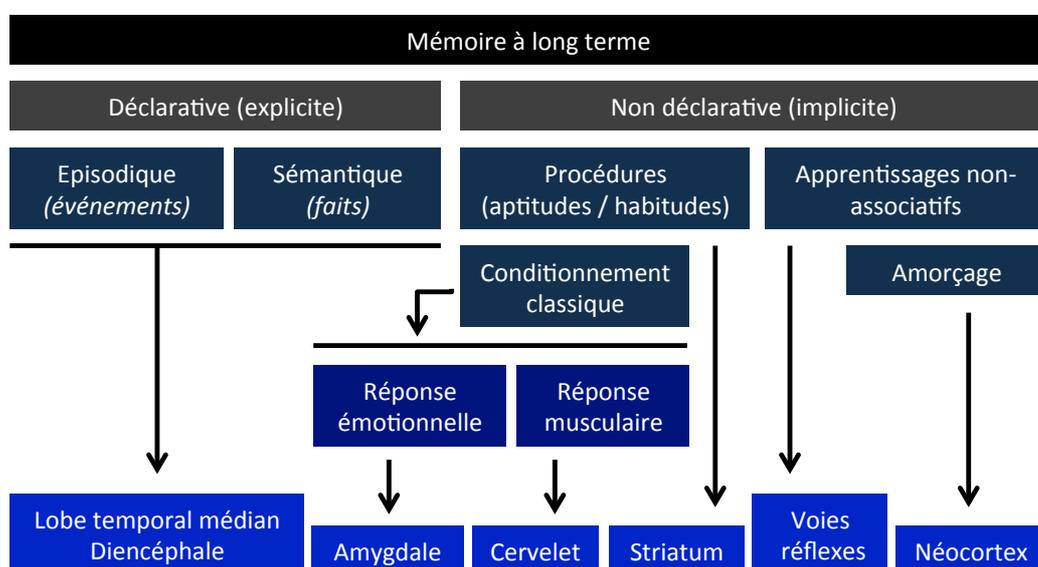


Figure 2 : Taxonomie des systèmes de mémoire à long terme. D'après Squire et al., 2004.

La mémoire déclarative est subdivisée en mémoire des faits et mémoire des événements. Cette distinction fut proposée par Endel Tulving (Tulving, 1972). Les « faits » regroupent l'ensemble des connaissances générales que nous avons du monde : les concepts, les définitions,... Cette mémoire, appelée sémantique, se distingue de la mémoire des événements, ou mémoire épisodique (aussi appelée autobiographique), définie comme l'ensemble des événements personnels ayant eu lieu au cours de la vie de l'individu. La notion d'« épisodique » intègre dans sa définition le contexte spatio-temporel dans lequel ces événements se sont produits. Toutefois, la mémoire épisodique ne se limite pas à l'enregistrement d'informations factuelles, situées dans leur contexte temporel et spatial. Le souvenir épisodique est aussi associé à un état de conscience dit « auto-néotique » qui

donne la possibilité à l'individu de prendre conscience de sa propre identité, de se représenter les événements passés et de les intégrer à des perspectives futures (Wheeler et al., 1997). Ainsi, lors de la récupération d'un souvenir épisodique, la conscience autoéotique permet la reviviscence et une impression subjective du souvenir (Tulving, 1985; Wheeler et al., 1997). Cet état de conscience propre à la mémoire épisodique est opposé à la conscience noétique, caractéristique de la mémoire sémantique.

A l'inverse, la mémoire non déclarative résulte de l'expérience et s'exprime au travers d'une action. Ainsi, elle n'est pas restituée sous la forme d'un rappel conscient. Elle recouvre un grand nombre de capacités mnésiques : motrices et perceptives, apprentissages émotionnels, habitude... Toutes partagent la même caractéristique : la mémoire s'exprime dans la performance.

D'un point de vue biologique, chaque système de mémoire est défini par un réseau de structures qui opèrent sur le même type d'information et participent au stockage de celle-ci (Sporns et al., 2000). Traditionnellement, l'étude expérimentale de la mémoire investit les systèmes de mémoire de façon individuelle comme des entités psychologiques et biologiques isolées. Cette attitude reste encore pertinente car cette démarche est nécessaire et utile pour identifier les substrats anatomiques, physiologiques et moléculaires de la mémoire considérée. Toutefois, il faut toujours garder à l'esprit que ces systèmes interagissent, et que chaque situation rencontrée va créer entre ces systèmes des relations dynamiques d'indépendance, de synergie ou de compétition (Kim and Baxter, 2001). De nombreuses études montrent notamment que lors de l'acquisition, de multiples systèmes sont mobilisés et encodent différents aspects de la situation (McDonald et al., 2004a; Poldrack and Packard, 2003; Thompson and Kim, 1996).

Dans cette taxonomie, le système défini anatomiquement par le LTM, constitué de l'HPC et des structures corticales adjacentes, est reconnu comme nécessaire pour la formation de la mémoire déclarative.

C. Le lobe temporal médian : une description neuroanatomique

Le système du LTM (Figure 3) est constitué d'une structure centrale appelée « formation hippocampique » (FH) comprenant l'HPC lui-même (les champs amoniques (CA), le gyrus denté (GD) et le subiculum), ainsi que les cortex entorhinaux, périrhinaux et parahippocampiques (Amaral and Witter, 1989). Les cortex périrhinaux et parahippocampiques reçoivent des afférences unimodales et polymodales des aires d'association des lobes frontaux, temporaux et pariétaux. Ces cortex sont en connexions réciproques avec le cortex entorhinal (Ent), principale voie d'entrée des

afférences corticales dans l'HPC. L'organisation neuroanatomique de l'HPC diffère peu selon les espèces. Cette stabilité phylogénétique suggère un rôle crucial dans le fonctionnement du système nerveux central. Nous décrivons principalement ici la cytoarchitecture de la formation hippocampique.

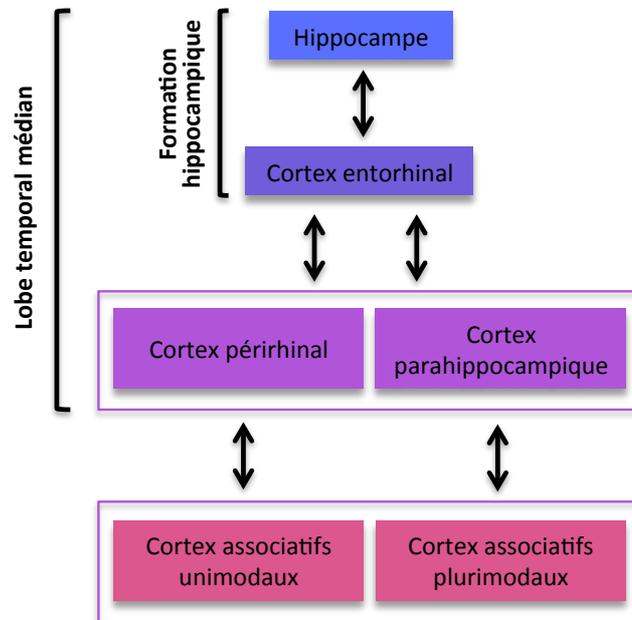


Figure 3 : Schéma du lobe temporal médian. D'après Lavenex and Amaral, 2000.

1. Organisation cytoarchitectonique de la formation hippocampique

Chez les mammifères, la formation hippocampique est constituée principalement par deux couches cellulaires distinctes en forme de C (Figure 4) qui s'imbriquent l'une dans l'autre. La couche des cellules granulaires du GD constitue le premier des deux champs cellulaires. Le second champ est constitué par le subiculum et la couche des cellules pyramidales des champs ammoniques, qui forment l'HPC proprement dit. Les champs ammoniques sont au nombre de quatre : CA1, CA2, CA3 et CA4. Au niveau de l'HPC dorsal, CA1 constitue la région supérieure tandis que CA2, CA3 et CA4 forment la région inférieure. Il est à noter que la plupart des auteurs ne distinguent pas CA2 de CA3 du fait de sa très faible extension et considèrent plutôt CA2 comme la partie distale de CA3.

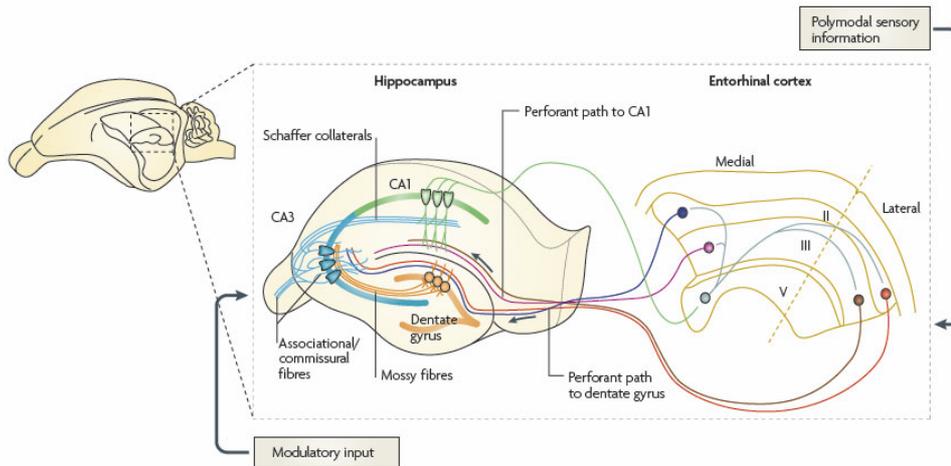


Figure 4 : Schéma du circuit tri-synaptique hippocampique et de ses connexions avec le cortex entorhinal. La voie d'entrée principale de la formation hippocampique est la voie perforante véhiculant des informations sensorielles polymodales en provenance des neurones de la couche II du cortex entorhinal et se projetant sur les cellules granulaires du gyrus denté. Ceux-ci, via les fibres moussues projettent sur la couche pyramidale du champ CA3, qui, via la collatérale de Schaffer projettent sur les cellules pyramidales du champ CA1 ipsilatéral et sur les cellules pyramidales des champs CA3 et CA1 controlatéraux via les connexions commissurales. Les cellules pyramidales de CA3 et CA1 reçoivent aussi des afférences en provenance directe de la couche II et III du cortex entorhinal, respectivement. L'HPC reçoit aussi des afférences modulatrices importantes. La voie de sortie du circuit est le subiculum (non indiqué). D'après Neves et al., 2008.

Les couches cellulaires de l'HPC sont étroitement interconnectées. L'une des caractéristiques majeures de l'HPC est son organisation cytoarchitectonique formant un circuit tri-synaptique (Ent - GD - CA3 - CA1) unidirectionnel et principalement glutamatergique (Amaral and Witter, 1989). Les cellules granulaires du GD projettent massivement leurs axones sur l'arborisation dendritique des cellules pyramidales de CA3, via les fibres moussues. Ces cellules envoient à leur tour leurs prolongements axoniques (collatérales de Schaffer) sur les cellules pyramidales de CA1 selon une topographie extrêmement précise (Figure 4). Longtemps décrite comme l'unique organisation interne de l'HPC, cette organisation lamellaire n'est cependant pas la seule. Ainsi, par exemple, les cellules de CA3 envoient de nombreuses projections sur les autres cellules pyramidales de CA3 par des collatérales axoniques. L'existence de ce circuit récurrent (système collatéral récurrent) fait de CA3 une région très fortement interconnectée de l'HPC. Cette structure est, de ce fait, importante dans l'acquisition rapide d'informations (Rolls and Kesner, 2006), ce qui contraste beaucoup avec l'organisation de CA1 où les cellules pyramidales ne sont que faiblement interconnectées. De plus, il existe des projections directes du cortex entorhinal (couche III) sur CA3 et CA1. CA1 projette d'ailleurs en retour sur le cortex entorhinal via le subiculum (Figure 4). A cette organisation architecturale interne complexe, il faut ajouter les relations diverses que l'HPC entretient avec les autres structures environnantes, en particulier corticales.

2. Les afférences corticales de l'HPC

La majorité des afférences hippocampiques proviennent du cortex entorhinal (via la voie perforante), lequel reçoit de nombreuses informations en provenance de diverses aires néocorticales. Les projections qui arrivent sur les couches superficielles (couches II et III) proviennent des régions du bulbe olfactif et du cortex périrhinal. Les couches profondes du cortex entorhinal reçoivent des afférences du cortex insulaire, cortex préfrontal médian (CPFm), cingulaire antérieur (CCA), ainsi que du cortex rétrosplénial (Amaral and Witter, 1989). Plus récemment, Rajasethupathy et al. (Rajasethupathy et al., 2015) ont mis en évidence chez la souris l'existence de projections monosynaptiques du CCA sur les régions CA3 et CA1 hippocampiques.

3. Les efférences corticales de l'HPC

L'HPC envoie lui-même de nombreuses projections. Les cellules pyramidales de CA1 se projettent selon une organisation bien précise sur le subiculum (Amaral et al., 1991), qui constitue la principale voie de sortie de l'HPC et innerve la plupart des structures extrahippocampiques telles que le cortex rétrosplénial, le cortex orbitofrontal (COF), les aires préfrontales médianes et le cortex entorhinal. Il faut également mentionner que CA1 projette directement sur les cortex périrhinal, rétrosplénial et prélimbique (Burette et al., 1997; Jay et al., 1995, 1996).

D. Lobe temporal médian et amnésies

1. Chez l'Homme

a) Amnésie antérograde

Comme déjà illustré précédemment avec le cas H.M., les patients atteints de lésions du LTM présentent tous une amnésie de type antérograde, à savoir une incapacité à former et à stabiliser de nouveaux souvenirs déclaratifs dans le temps. Cette incapacité à former de nouvelles traces mnésiques est valable quelle que soit la modalité sensorielle dans laquelle l'information est présentée (Levy et al., 2003; Squire et al., 2001). Cette observation est cohérente avec le fait que les structures du LTM représentent un site important de convergence de signaux d'origine corticale, signaux qui concernent toutes les modalités sensorielles (Lavenex and Amaral, 2000).

Il apparaît que la sévérité de l'amnésie antérograde est positivement corrélée à l'étendue des lésions cérébrales au sein du LTM (Squire and Zola, 1996). Dans le cas d'atteintes bilatérales étendues du LTM, l'amnésie est sévère. Ainsi chez le patient E.P. (Stefanacci et al., 2000), présentant une atteinte bilatérale de toutes les structures du LTM à la suite d'une encéphalite virale, la mémoire immédiate et la mémoire non déclarative sont intactes. Cependant, il souffre de dommages plus importants que H.M. et présente une amnésie antérograde plus profonde, avec des performances extrêmement altérées dans une grande variété de tâches de mémoire déclarative de type verbal et non-verbal (Stefanacci et al., 2000). Par contraste, le patient R.B., dont les lésions sont limitées au champ CA1 de l'HPC, ne présente qu'une amnésie antérograde modérée (Stefanacci et al., 2000) .

b) Amnésie rétrograde

Les lésions du LTM s'accompagnent également d'une amnésie dite rétrograde, qui se caractérise par l'incapacité à se remémorer des informations acquises avant l'apparition des dommages cérébraux. Tout comme l'amnésie antérograde, la sévérité de l'amnésie rétrograde semble positivement corrélée à l'étendue des dommages subis (Squire and Zola, 1996). Cependant, il s'avère que dans la majorité des cas, cette amnésie est temporellement graduée, autrement dit que les souvenirs les plus récents sont inaccessibles alors que les informations acquises plus anciennement restent largement préservées. Ainsi, l'amnésie rétrograde de H.M. et E.P. couvrait une période de 11 et 15 ans (Corkin, 2002; Squire, 2009), période au-delà de laquelle la mémoire semblait intacte. D'autres patients avec des lésions plus étendues du LTM incluant par exemple le cortex entorhinal, périrhinal et parahippocampique, présentaient une amnésie rétrograde couvrant plusieurs décennies. Ainsi des patients avec des lésions limitées au LTM ont la capacité de se rappeler d'événements anciens, cependant cette capacité tend à diminuer quand les dommages sont étendus au néocortex (Squire et al., 2015). En effet, certains patients produisent peu de détails à propos des événements passés, même remontant à l'enfance. Une explication possible est que certaines lésions extérieures au LTM contribuent au déficit mnésique observé chez ces patients. Par exemple, dans l'une des études reportant un gradient d'amnésie rétrograde plat (Rosenbaum et al., 2005), les quatre patients présentent des lésions du cortex temporal postérieur, bien que le déficit ait été attribué à des lésions hippocampiques. De ce point de vue, des amnésies rétrogrades sans gradient temporel ne seraient obtenues que dans le cas de dommages additionnels de structures néocorticales (Kirwan et al., 2008) reconnues comme étant les sites de stockage à long terme des traces mnésiques (Frankland and Bontempi, 2005).

Par ailleurs, d'autres positions théoriques stipulent que l'étendue et la sévérité de l'amnésie rétrograde dépendent non seulement du type de lésion mais également du type de mémoire déclarative qui doit être rappelée. Ainsi, quel que soit l'âge du souvenir, la mémoire épisodique dépendrait toujours de l'intégrité du LTM, et de l'HPC en particulier, alors que la mémoire sémantique, dépendante de l'HPC pour une période limitée après l'acquisition, pourrait progressivement devenir indépendante de cette région (Nadel and Moscovitch, 1997). Si cette hypothèse est vraie, des lésions hippocampiques devraient réduire le nombre de détails contextuels (dans le temps et dans l'espace) capable d'être rappelés et ainsi résulter en un rappel essentiellement sémantique de l'information. Dans ce sens, trois patients avec des lésions du LTM : le patient K.C. (Rosenbaum et al., 2005), le patient G.T. (Bayley et al., 2005) ou le patient A.D. (Gilboa et al., 2006) présentent une perte de mémoire autobiographique résultant en une connaissance impersonnelle du passé. Toutefois, il serait possible que cette amnésie rétrograde non graduelle, typiquement de nature épisodique, s'explique par des modifications significatives (réduction du volume/altération) des lobes frontaux également impliqués dans le rappel des événements autobiographiques (Bayley et al., 2003, 2005).

2. Modèles de l'amnésie chez l'animal

Les études chez l'animal, et particulièrement chez le singe, ont contribué à mieux cerner l'implication du LTM dans les déficits de mémoire de type déclaratif. Bien que l'absence de langage rende plus difficile la caractérisation de la mémoire déclarative, de nombreuses recherches ont tenté de développer un modèle animal de l'amnésie humaine en observant les effets de lésions spécifiques de différentes régions de la formation hippocampique, ou plus largement du LTM, sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation (McDonald et al., 2004b). Le système du LTM est relativement préservé entre les espèces, et l'utilisation du modèle animal offre l'avantage de pouvoir contrôler l'étendue et la localisation des lésions.

Ainsi, Zola-Morgan et al. ont publié en 1994 (Zola-Morgan et al., 1994) des travaux dans lesquels ils ont étudié, chez le singe, la relation entre l'étendue des dommages dans le LTM et la sévérité des déficits mnésiques. Leurs travaux ont révélé que la sévérité du déficit mnésique dépendait de l'étendue des dommages subis : les dommages limités à l'HPC suffisent à produire un déficit mnésique (Zola-Morgan et al., 1994). De plus, il est possible d'observer des déficits plus sévères avec des lésions additionnelles des cortex entorhinal et parahippocampique, et enfin des déficits encore plus importants après lésion du cortex périrhinal.

Par ailleurs, chez l'Homme, une des limites à l'étude de l'amnésie rétrograde repose sur la difficulté à étudier les souvenirs de façon rétrospective et à former des groupes homogènes de participants. En conséquence, outre la possibilité de cibler l'atteinte des régions cérébrales, l'avantage des modèles animaux est aussi de pouvoir contrôler l'âge des souvenirs et le type d'information acquise. Dès lors, de nombreuses études ont su confirmer l'existence d'une amnésie rétrograde temporellement graduée après lésion ou inactivation de l'HPC chez un grand nombre de modèles animaux et au cours de diverses tâches cognitives (Squire et al., 2015). Ainsi dans une autre étude, Zola-Morgan et Squire (1990) soumettent des singes à une tâche de discrimination d'objet à cinq intervalles différents précédant la lésion de l'HPC. Après lésion, les animaux ont une meilleure mémoire des problèmes appris 12 semaines avant la lésion que de ceux appris juste avant la lésion (Zola-Morgan and Squire, 1990). La même année, Winocur publie une étude utilisant une tâche de transmission sociale de la préférence alimentaire (TSPA) chez le rat, et démontre aussi un gradient d'amnésie rétrograde suite à la lésion de l'HPC dorsal (Winocur, 1990). En conditionnement de peur au contexte, des rats soumis à une lésion hippocampique 28 jours après leur conditionnement fournissent une réponse de peur au moment de leur réexposition au contexte, contrairement aux rats lésés un jour après l'apprentissage (Kim and Fanselow, 1992). De façon similaire, Anagnostaras et al., démontrent que des rats expriment une réponse de peur au contexte 50 jours avant la lésion hippocampique mais pas dans un contexte différent pour lequel le conditionnement de peur a été établi un jour avant la lésion (Anagnostaras et al., 1999). Ainsi, chez l'animal, des lésions réalisées dans les mêmes régions que celles observées chez l'Homme produisent des effets similaires.

Cependant, comme chez l'Homme, cette contribution de l'HPC limitée dans le temps n'est pas toujours observée expérimentalement chez l'animal. Par exemple, suite à un conditionnement de peur au contexte, le groupe de R.J. Sutherland a successivement échoué à montrer une amnésie rétrograde temporellement graduée (Lehmann et al., 2007; Sparks et al., 2011; Sutherland and Lehmann, 2011; Sutherland et al., 2008). De façon similaire, le groupe de L.R. Squire n'est pas parvenu à démontrer un désengagement hippocampique dans ce même paradigme, même en modulant un grand nombre de paramètres tels que le protocole de conditionnement, l'intervalle entre le conditionnement et la lésion de l'HPC, la taille de la lésion, et la méthode lésionnelle utilisée (Broadbent and Clark, 2013). Enfin, des résultats semblables ont été obtenus en piscine de Morris (Bolhuis et al., 1994; Broadbent et al., 2006; Clark et al., 2005; Martin et al., 2005; Sutherland et al., 2001; Teixeira et al., 2006). Ainsi, il semblerait que dans certains cas, la trace mnésique reste dépendante de l'HPC pour un délai de rétention très étendu, voire de façon permanente. Pour certains auteurs, l'HPC pourrait être toujours requis pour des aspects liés à la réalisation de la tâche, sans lien direct avec le processus de consolidation. Dans ce cas, avec le passage du temps, la trace

mnésique serait bel et bien disponible ailleurs que dans l'HPC, mais quel qu'en soit le délai, la réalisation du test lui-même nécessiterait l'implication de l'HPC (Squire and Bayley, 2007; Sutherland et al., 2001). Pour complexifier l'analyse, une étude récente apporte un intrigant résultat en montrant chez le même animal, l'existence d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde associé au souvenir contextuel généré lors d'un conditionnement de peur au contexte mais pas au souvenir spatial généré en piscine de Morris (Winocur et al., 2013). Pourquoi le gradient temporel d'amnésie rétrograde est généré dans un paradigme comportemental et pas dans l'autre reste une question très débattue.

Bien que dans ces différentes études il existe des variations notables entre les stimuli présentés ou le type de mémoire étudié (par exemple spatiale vs non spatiale), chacun des paradigmes utilisés partage des caractéristiques comparables à la mémoire déclarative chez l'Homme. En effet, la réalisation de ces tâches demande à l'animal d'exprimer de façon comportementale, le souvenir d'associations complexes entre divers stimuli et/ou l'intégration des aspects contextuels, spatiaux ou temporels de l'information, et d'utiliser de façon flexible ces divers aspects (Eichenbaum, 2000, 2004). Il est clair que le débat sur l'implication du LTM dans la mémoire déclarative persiste tant pour l'explication des amnésies antérogrades que pour les amnésies rétrogrades. Les points de litige concernent le type de mémoire déclarative (épisodique et sémantique) et l'existence ou non d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde.

E. Conclusions

La formation de la mémoire déclarative nécessite l'intégrité du LTM. Cependant, dans le cas d'atteintes du LTM, la mémoire immédiate est préservée. Il semblerait donc que l'information soit initialement détenue par le néocortex. Cependant, dès que l'on impose un délai de rétention plus important, l'information n'est plus disponible, indiquant que bien que le néocortex soit intact, il ne suffit pas à transformer cette trace mnésique en représentation permanente. Ainsi, la mémoire à long-terme a besoin, pour devenir stable, de subir une maturation graduelle durant la période qui suit l'apprentissage, processus appelé consolidation mnésique (Dudai, 2004). Les données de l'amnésie rétrograde temporellement graduée semblent indiquer qu'avec le temps, le rappel des souvenirs déclaratifs devient moins sensible aux lésions du LTM, et pourrait être supporté par le néocortex indépendamment du LTM. Ainsi, les neuroscientifiques ont postulé l'existence d'une interaction entre le LTM et le néocortex favorisant la stabilisation de la trace mnésique au niveau cortical. Cependant les mécanismes corticaux sous-tendant ce processus restent mal connus.

III. La consolidation mnésique

A. Historique et révision du concept

La première référence connue du concept de consolidation mnésique provient de Quintilien (en latin Marcus Fabius Quintilianus) un pédagogue romain et professeur de rhétorique du 1er siècle après J.C. Il attira l'attention de ces lecteurs sur « le fait curieux ... que l'intervalle d'une nuit augmente la force de la mémoire », et souleva la possibilité que « le pouvoir de restitution ... subit un processus de maturation durant cet intervalle » (*Institutio Oratoria* 11.2.43). Cette idée resurgit à plusieurs reprises à travers l'Histoire (notamment au Moyen Age), et ce avant même la naissance de la psychologie expérimentale (pour revue (Dudai et al., 2015)).

A la fin du 19^{ième} siècle, Théodule Ribot, psychologue français, fut le premier à remarquer qu'« il y a quelques choses de différents entre la mémoire à court terme et la mémoire à long terme » (Ribot, 1881). Il décrit l'existence d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde suite à des dommages cérébraux : les informations acquises récemment étaient préférentiellement perdues, alors que des informations plus anciennes restaient disponibles. Cet effet, connu sous le nom de « loi de régression de Ribot » ou « gradient de Ribot » (Ribot, 1881), reflète l'existence d'un processus dynamique de réorganisation progressive des circuits neuronaux qui sous-tendent la mémoire pour que cette dernière puisse devenir stable dans le temps.

Le terme de « consolidation » est attribué à Müller & Pilzecker (1900) suite à l'observation d'un phénomène d'interférences rétroactives : la présentation de distracteurs durant les premières minutes suivant l'apprentissage d'une information nouvelle, empêchait le rappel correct de ce souvenir. Ainsi, l'information récemment encodée, pour résister à l'oubli immédiat et aux interférences, doit subir un processus de stabilisation, permettant sa transformation en une représentation mentale stable (pour revue (Lechner et al., 1999)).

Ces deux observations (celle de Ribot puis celle de Müller & Pilzecker), tout en mettant en évidence l'existence du phénomène de consolidation mnésique, font référence à deux aspects bien distincts de ce processus : la consolidation synaptique et systémique.

La vision la plus traditionnelle conçoit que la consolidation synaptique et systémique s'opèrent en série et donc à des échelles temporelles différentes (Figure 5).

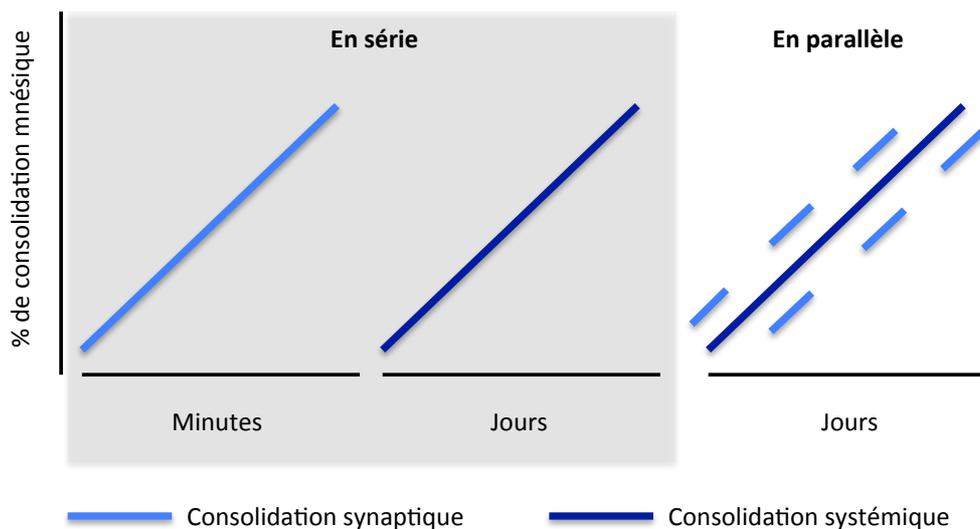


Figure 5 : Schéma illustrant le déroulé temporel de la consolidation synaptique et systémique selon une vision sérielle ou parallèle.

La consolidation synaptique est un processus rapide, accompli dans les premières minutes ou heures qui suivent l'encodage et conduisant à la stabilisation des changements synaptiques induits par l'apprentissage. Ces changements peuvent être l'apparition de nouvelles connexions synaptiques ou la restructuration de synapses existantes (Dudai, 2012; Squire et al., 2015). Toute perturbation de la consolidation synaptique va bloquer le processus mnésique. En revanche, les mêmes traitements appliqués au-delà de cette période n'auront aucun effet sur la formation de la mémoire. Le déroulé temporel de la consolidation synaptique dépend des voies de signalisation étudiées, des structures cérébrales ciblées ou des épreuves comportementales utilisées, mais il est généralement considéré que la fin de ces événements moléculaires – dans les heures qui suivent l'apprentissage - marque la fin de la phase de consolidation synaptique.

D'autre part, la consolidation systémique est un processus plus lent, s'opérant durant plusieurs semaines chez le rongeur et jusqu'à plusieurs années chez l'Homme, bien que la cinétique dépende grandement du type de mémoire (déclarative ou non déclarative) et de la nature de la tâche. Elle se caractérise par une réorganisation des circuits cérébraux, ou systèmes participant à la formation de la mémoire à long terme au cours du temps (Frankland and Bontempi, 2005; Squire and Alvarez, 1995).

Une vision plus moderne et plus réaliste du processus de consolidation conçoit que les aspects synaptiques et systémiques s'opèrent en parallèle (Figure 5) (Dudai, 2012; Dudai and Morris, 2013; Dudai et al., 2015; Takeuchi et al., 2014).

Comme mentionné précédent et développé plus en détails par la suite, au sein d'un SNC complexe à l'image de celui des mammifères, la trace mnésique peut être initialement encodée au sein d'une ou plusieurs régions cérébrales distinctes telles que l'HPC et le néocortex concernant les souvenirs de type déclaratifs. Au cours du processus de consolidation mnésique, la trace mnésique deviendrait progressivement moins dépendante de l'HPC, au profit du néocortex (McClelland et al., 1995). Cette réorganisation de la trace mnésique à l'échelle systémique serait dépendante de mécanismes synaptiques permettant sa stabilisation au niveau cortical. Ainsi la consolidation synaptique peut être considérée comme un mécanisme élémentaire via lequel la consolidation systémique se met en place. La trace mnésique serait ainsi encodée et consolidée au cours du temps à l'échelle systémique grâce aux mécanismes inhérents à la consolidation synaptique. Ainsi, la consolidation systémique impliquerait des vagues successives de consolidation synaptique au sein des circuits locaux recrutés pour prendre en charge les nouvelles informations. Dès lors, la notion de consolidation synaptique telle qu'elle a pu être conceptualisée initialement est plus assimilée à une « consolidation initiale » (Takeuchi et al., 2014). Par exemple, certains changements cellulaires et synaptiques sont nécessaires pour la stabilisation initiale des souvenirs au sein des circuits hippocampiques.

B. La consolidation systémique

La consolidation systémique de la mémoire de type déclarative peut être définie comme le processus par lequel l'HPC orchestre de façon cohérente la réorganisation progressive de la trace mnésique au sein du néocortex de telle sorte que le stockage et le rappel à long-terme de la mémoire deviennent indépendant de l'HPC (Alvarez and Squire, 1994; McClelland et al., 1995; Sutherland and McNaughton, 2000). Ainsi, initialement tributaire de l'HPC, l'engramme deviendrait progressivement dépendant d'un réseau distribué de neurones néocorticaux. L'idée n'est pas que l'engramme est littéralement « transféré » d'un réseau hippocampique vers un réseau néocortical. La trace mnésique serait encodée aussi bien dans l'HPC que dans le néocortex au moment de l'apprentissage puis sa consolidation serait initiée au travers d'interactions récurrentes mais temporaires entre ces deux structures occasionnant un renforcement de la connectivité synaptique au sein du réseau cortico-cortical recruté pour la formation et le stockage d'une mémoire corticale stable et persistante (Wiltgen et al., 2004; Wittenberg and Tsien, 2002; Wittenberg et al., 2002).

Par ailleurs, les résultats récents soulignent la nature dynamique du processus de consolidation systémique (Dudai and Morris, 2013). Comme nous le verrons plus en détails par la suite, la cinétique de la consolidation peut être modulée par différents facteurs tels que la complexité des souvenirs à

consolider ou par leur degré de similarité avec des souvenirs précédemment stabilisés (van Kesteren et al., 2012).

1. Le néocortex : un « slow learner » ?

Marr a été le premier à proposer un modèle qui rende compte d'un dialogue hippocampo-cortical dans la période qui suit l'apprentissage (Marr, 1970, 1971). Il a suggéré que l'HPC stocke rapidement les traces mnésiques qui sont ensuite transférées et réorganisées progressivement dans le cortex afin d'y être stockées de façon permanente. Mais pour quelles raisons observe-t-on ces différences de recrutement entre la région hippocampique et les structures néocorticales au cours du temps ? D'après les modèles computationnels de la consolidation systémique, l'HPC serait bien adapté pour encoder rapidement l'information (McClelland et al., 1995; O'Reilly and Norman, 2002). Parallèlement, bien que les mécanismes sous-tendant la plasticité corticale ne soient pas nécessairement moins rapides que ceux de l'HPC, le réseau néocortical intégrerait l'information de façon plus lente. Une des premières raisons pouvant expliquer cette différence de cinétique est qu'au moment de l'acquisition, les caractéristiques de l'évènement seraient traitées séparément au sein d'un vaste réseau néocortical. Initialement, les informations pouvant être simplement perceptuelles, mais également complexes telles que des règles cognitives ou des concepts, sont traitées dans plusieurs aires corticales dédiées (Miller, 1999). Cependant la plupart de ces traitements ont une durée de vie limitée dans le temps, et les représentations qui en sont issues ne peuvent rester à un niveau conscient au-delà de quelques secondes. La région hippocampique qui reçoit un faisceau d'informations des aires néocorticales associatives et qui envoie en retour des projections à toutes ces aires, semble orchestrer le remodelage progressif de la connectivité entre les différentes régions néocorticales activées au moment de l'apprentissage et encodant les différentes composantes de l'expérience originale. Ainsi, au cours du dialogue hippocampo-cortical, les modifications survenant dans le néocortex pourraient bénéficier de la persistance des représentations dans la région hippocampique pour assurer progressivement la création d'associations complexes entre les éléments de l'évènement qui ont pourtant été traitées séparément dans différentes régions corticales, ou qui sont apparus dans un ordre temporel différent au sein de la même aire (Manns and Eichenbaum, 2006).

McClelland et ses collègues ont développé cette idée dans leur modèle computationnel en proposant que l'intégration lente de nouvelles informations au niveau néocortical offrirait un certain nombre d'avantages : 1) une meilleure structuration de la nouvelle information acquise, 2)

éviter l'assimilation redondante de connaissances déjà présentes au niveau cortical, 3) une intégration efficace des nouvelles informations aux souvenirs déjà existants sans induire d'oubli ou d'altération du stockage de ces souvenirs, et éventuellement 4) le remaniement des informations déjà stockées. Cette idée expliquerait pourquoi le processus de consolidation systémique est aussi lent, et pourquoi il requiert, dans les premiers temps, que l'HPC serve de lien entre les différents modules corticaux (McClelland et al., 1995).

Par ailleurs, se basant sur des résultats expérimentaux plus récents, McClelland complexifia son modèle initial en proposant que la cinétique du traitement cortical des souvenirs serait dépendante de la nature des souvenirs précédemment intégrés au niveau cortical (McClelland, 2013). Si les nouveaux souvenirs sont de nature similaire à celle de souvenirs plus anciens déjà consolidés et formant un réseau d'associations appelé « schéma cortical », l'intégration corticale des nouveaux souvenirs à ce schéma pourrait s'opérer rapidement, sans créer d'interférences (van Kesteren et al., 2012; McClelland, 2013; Tse et al., 2007).

2. Index hippocampique et étiquetage cortical

Le processus de consolidation systémique nécessite une communication prolongée, mais transitoire, entre l'HPC et le néocortex, pour l'établissement d'une mémoire à long terme stabilisée au niveau cortical (Marr, 1971 ; Alvarez & Squire, 1994 , Squire & Alvarez, 1995 ; Wiltgen et al., 2004 ; Wang et al., 2006 ; Lesburgères et al., 2011). Au cours de ce dialogue, les réactivations récurrentes du réseau hippocampo-cortical entraîneraient le renforcement des synapses néocorticales préalablement recrutées au moment de l'apprentissage pour stocker les nouveaux souvenirs. Cependant une question essentielle est de comprendre comment l'HPC parvient-il à induire les changements synaptiques au sein du réseau de neurones corticaux adéquat au cours de son dialogue avec le néocortex. En d'autres termes, comment l'HPC reconnaît-il les adresses corticales d'une trace mnésique spécifique ?

Du fait que les changements synaptiques semblent émerger plus lentement au niveau cortical en comparaison de l'HPC, un mécanisme de marquage temporaire induit au moment de l'encodage serait nécessaire pour « étiqueter » les traces mnésiques corticales nouvellement formées et assurer ainsi leur réactivation cohérente par l'HPC (Wiltgen et al., 2004). Autrement dit, l'acquisition serait à l'origine de modifications synaptiques précoces et simultanées au niveau de l'HPC et du néocortex qui vont conditionner l'initiation et la coordination des interactions futures entre ces deux structures pour permettre la consolidation de la mémoire à long terme et son rappel cohérent.

a) Index hippocampique

Un évènement est composé d'un ensemble de caractéristiques (temporelles, spatiales, sémiotiques...) et d'un ensemble de modalités sensorielles. Ainsi l'encodage d'un évènement serait par essence associatif. Le circuit neuronal qui sous-tend l'acquisition de cet évènement doit nécessairement présenter des qualités telles que des capacités de traitement et d'encodage rapides des caractéristiques de l'évènement, et être également capable de former des associations entre ces diverses caractéristiques. Or, au cours de l'acquisition initiale, les divers modules néocorticaux activés auraient une connectivité trop éparse pour supporter le stockage complet de l'évènement et également le maintien de l'association arbitraire entre les différents éléments qui composent l'évènement (Morris, 2006). Chez les mammifères, l'HPC est une structure particulièrement bien indiquée pour cette capacité associative (Eichenbaum, 2000), de par ses nombreuses connexions réciproques avec une grande diversité d'aires néocorticales (Amaral and Witter, 1989). La nature de ces connexions a des implications importantes dans les modèles d'interaction hippocampo-corticales pour la consolidation de la mémoire à long terme puisqu'elles indiquent notamment que l'HPC est un point de convergence anatomique qui confère à l'information reçue un niveau d'intégration et d'abstraction très élevé (Lavenex and Amaral, 2000). Ces qualités propres à sa position hiérarchique et à sa composition anatomique particulières, en font une structure idéale pour l'encodage au moment de l'acquisition, non seulement des informations en provenance des divers modules néocorticaux, mais également pour l'encodage de l'association entre les différents éléments d'information.

S'appuyant sur les propriétés anatomo-fonctionnelles de l'HPC, la théorie de l'index hippocampique, proposée par Teyler et DiScenna (Teyler and DiScenna, 1986), suggère qu'au moment de l'acquisition, l'encodage des différents éléments sensoriels d'un évènement va induire des activations spécifiques de diverses régions corticales, et ce pattern d'activité va être encodé conjointement par l'HPC sous forme d'un index topographique contenant l'ensemble des adresses corticales de l'évènement en cours de traitement. Ainsi, l'information détenue dans l'HPC représenterait à la fois les patterns d'activation des divers modules néocorticaux activés, mais également la co-occurrence de ces patterns induits par l'acquisition (Teyler and DiScenna, 1986; Teyler and Rudy, 2007). La capacité associative de l'HPC et le stockage des indexes hippocampiques permettraient alors de restituer une représentation mnésique unifiée et cohérente de l'évènement en utilisant les adresses néocorticales au moment du rappel. De plus, au cours du rappel ou lors des phénomènes de récapitulation durant le sommeil, en utilisant ses adresses des sites néocorticaux, l'HPC participerait ainsi au renforcement des connexions cortico-corticales pour l'établissement de la

mémoire à long terme, en réactivant les divers modules néocorticaux concernés. Ainsi, une fois la connectivité du circuit néocortical renforcée, ce dernier pourrait prendre le relai en assurant le rappel unifié de la représentation mnésique sans la contribution de l'HPC.

***b) La réciproque du concept d'index hippocampique :
l'étiquetage cortical***

Comme mentionné précédemment, il est aujourd'hui admis que le rappel des souvenirs déclaratifs implique la réactivation des assemblées neuronales hippocampiques et/ou corticales recrutées au moment de l'apprentissage (pour revue (Tonegawa et al., 2015)). Ce consensus a principalement résulté de la création de souris transgéniques offrant la possibilité de marquer de façon persistante (mais temporaire) une population de neurones spécifiques activés au moment de l'acquisition d'une tâche et évaluer leur recrutement au moment du processus de rappel, quelques jours après l'apprentissage (Reijmers et al., 2007). Cependant, il n'était pas possible jusqu'à récemment d'évaluer si ces mêmes neurones sont réactivés durant le rappel de la mémoire plusieurs semaines après l'encodage. Afin de répondre à cette question, Tayler et al. (Tayler et al., 2013) ont utilisé une forme de GFP (H2B-GFP) dont l'expression est stable et inductible (sous le contrôle du promoteur c-fos et du système tTA/tetO) afin de marquer de façon permanente les neurones activés au cours d'un conditionnement de peur au contexte. Ils ont pu démontrer qu'une large population de neurones de l'HPC, de l'amygdale et du néocortex active durant le conditionnement est réactivée au moment du rappel 2 jours plus tard dans le même contexte mais pas dans un contexte différent. En revanche, quand la mémoire est rappelée 2 semaines après l'encodage, la population de neurones réactivés dans l'HPC et l'amygdale est réduite alors qu'elle reste inchangée dans le cortex. Ces résultats appuient ainsi l'idée d'un désengagement hippocampique au cours du processus de consolidation mnésique et suggèrent que les assemblées neuronales corticales recrutées au moment de l'acquisition sont également celles assurant le stockage et le rappel de la mémoire à long terme. Ainsi, l'identification des neurones corticaux activés au moment de l'acquisition peut fournir un corrélat neuronal stable de la mémoire formée.

A l'appui de ces résultats, Lesburguères et al. (2011) montrent que dès l'acquisition d'une tâche de transmission sociale de la préférence alimentaire (TSPA) chez le rat, le recrutement des neurones du cortex orbitofrontal (COF) est crucial pour la stabilisation à long terme de la mémoire. En effet, l'inactivation pharmacologique de l'activité des neurones du COF au moment de l'acquisition empêche la réorganisation progressive de l'architecture des neurones du COF (révélée par quantification des épines dendritiques) et bloque le rappel à long terme d'une mémoire

spécifique (testée 30 jours après l'acquisition). Ainsi, l' « étiquetage » du COF au moment de l'acquisition apparaît comme un prérequis nécessaire pour initier le dialogue hippocampo-cortical, et donc à la stabilisation à long terme d'une mémoire olfactive associative. De façon intéressante, Lesburguères et al. indiquent que le blocage de la transmission synaptique des neurones du COF au moment de l'apprentissage n'empêche pas l'acquisition de la mémoire associative et son maintien à court terme (testée 7 jours après l'acquisition) mais affecte plus spécifiquement sa consolidation et son rappel à long terme. Ces résultats indiquent que le COF n'est pas encore suffisamment mature au moment de l'acquisition pour assurer à lui seul la récupération de la trace mnésique. L'existence du dialogue hippocampo-cortical dans la période qui suit l'étiquetage est alors cruciale : au travers d'interactions répétées avec l'HPC (durant des périodes de sommeil notamment), le COF serait au centre d'un phénomène de réactivation des synapses activées au moment de l'acquisition, conduisant au renforcement progressif des connexions entre les différents sites dépositaires des éléments éparses de la trace. A terme, ce dialogue permettrait au COF de participer au stockage de la trace mnésique, indépendamment de l'HPC.

Ainsi, ces données ont permis de mettre en évidence la nécessité d'un étiquetage précoce des assemblées neuronales corticales permettant leur réactivation ultérieure par l'HPC afin d'assurer le renforcement de leur connectivité et donc la stabilisation de la mémoire à long terme au niveau cortical. Au-delà de la TSPA, il semble que ce processus soit généralisable à d'autres systèmes de mémoire ou d'autres paradigmes comportementaux (Sierra-Mercado et al., 2015). Les bases cellulaires et moléculaires de l'étiquetage cortical sont encore peu connues et ont fait l'objet de mon travail de thèse.

Le phénomène d'amnésie rétrograde chez l'Homme et chez l'animal suite à des lésions ou des inactivations de l'HPC constitue la clé de voûte du concept de consolidation mnésique. Cependant, comme décrit précédemment, l'hétérogénéité des résultats apportés concernant l'implication de l'HPC au cours du rappel des souvenirs anciens a favorisé l'émergence de plusieurs modèles théoriques de la consolidation systémique (Figure 6).

3. Les différentes conceptions de la consolidation systémique

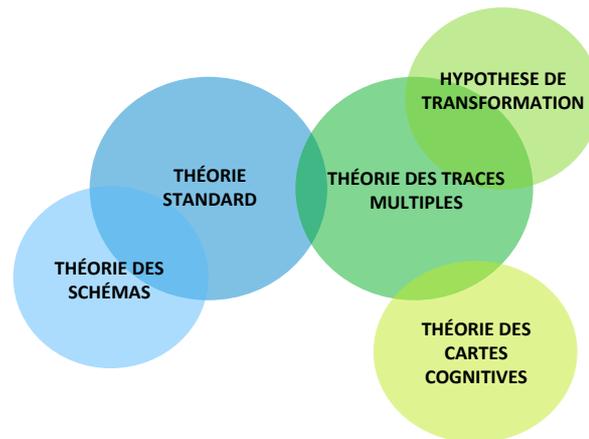


Figure 6 : Les différentes conceptions de la consolidation mnésique à l'échelle systémique. Sont présentées en bleu les théories s'appuyant sur un gradient d'amnésie rétrograde temporellement gradué indiquant une participation transitoire de l'HPC dans la formation des souvenirs. En vert figurent les théories considérant l'existence d'un gradient plat d'amnésie rétrograde signe d'une implication fonctionnelle de l'HPC dans le rappel quel que soit l'âge des souvenirs.

a) Le modèle standard

La théorie standard de la consolidation s'appuie sur l'existence d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde observé après des dommages de l'HPC. Cette structure ne serait qu'un site de stockage temporaire de la trace mnésique, les structures néocorticales jouant le rôle de site de stockage permanent. D'un point de vue fonctionnel, le rappel des informations récentes requiert la contribution de l'HPC (et des régions adjacentes) jusqu'à ce que le réseau néocortical soit capable à long terme de supporter seul le stockage et le rappel du souvenir (Figure 7).

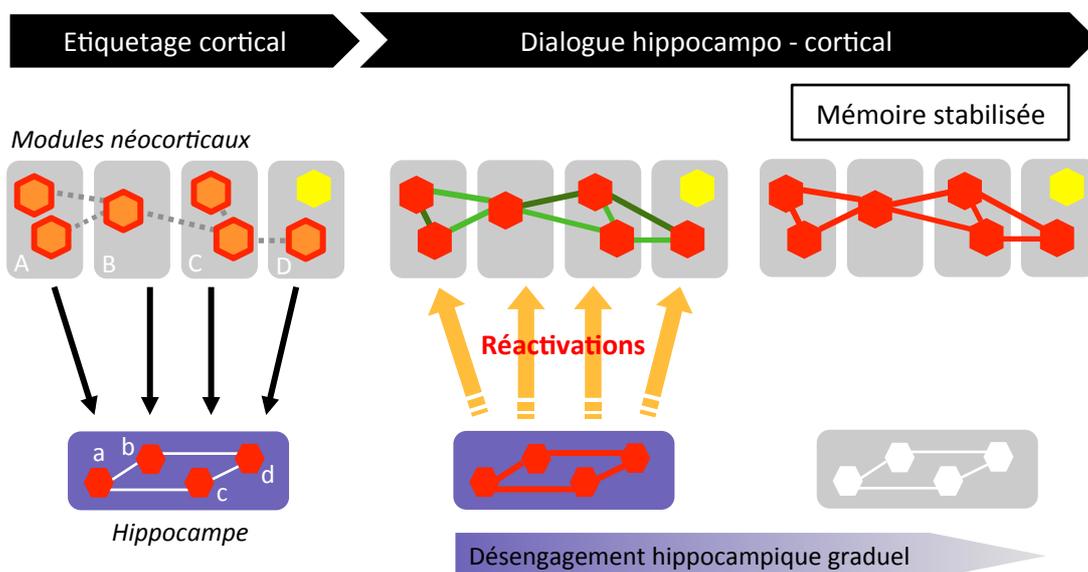


Figure 7 : *Modèle standard de la consolidation systémique. L'information serait initialement encodée dans différentes aires primaires corticales et associatives via le processus d'étiquetage (hexagones entourés de rouge). L'HPC, en générant un « index » (hexagones rouges pleins) va rapidement intégrer et fusionner les différents aspects de l'information portés par chacun de ces modules néocorticaux de façon à maintenir une trace mnésique cohérente. Des réactivations successives du réseau hippocampo-cortical vont permettre un renforcement progressif des connexions cortico-corticales (vert clair) et la création de nouvelles connexions (vert foncé) entre ces modules, stabilisant l'information au niveau cortical. Les modifications des connexions à l'intérieur du réseau hippocampique sont rapides et transitoires alors que celles qui se produisent à l'intérieur du réseau néocortical prennent du temps et perdurent (en rouge). La stabilisation de l'information au niveau cortical s'accompagne d'un désengagement progressif de l'hippocampe, laissant le réseau cortical capable à lui seul d'assurer le rappel des informations anciennes. Voir texte pour détails. D'après Frankland et Bontempi, 2005 ; Lesburguères et al., 2011.*

Pendant la phase d'acquisition :

L'information est traitée et encodée au sein de divers sites néocorticaux. Des assemblées neuronales corticales spécifiques sont « étiquetées ». Les patrons d'activation de ces assemblées corticales vont être rapidement indexés au sein de l'HPC qui, grâce à des modifications synaptiques rapides et à sa forte capacité associative, va ainsi encoder les adresses de ces diverses assemblées sous la forme d'un index hippocampique et être capable de les relier de façon à permettre une représentation cohérente et unifiée de l'évènement en cours de traitement.

Pendant le dialogue hippocampo-cortical :

Dans les premiers jours qui suivent l'acquisition, la réactivation répétée de l'index hippocampique (au cours de phases de veille active ou de sommeil) va entraîner la réactivation synchrone des modules néocorticaux préalablement étiquetés dès l'acquisition. Cette réactivation simultanée des assemblées neuronales corticales initialement disparates va permettre la création et/ou le renforcement des connexions cortico-corticales existantes de façon à donner à la trace corticale une forme cohérente. Une fois ces connexions cortico-corticales renforcées, la mémoire est stabilisée (consolidée) et son rappel peut être assuré par le cortex sans l'assistance de l'HPC.

A l'appui de ce modèle, outre les études invasives (mentionnées précédemment) révélant une amnésie rétrograde temporellement graduée après lésion ou inactivation de l'HPC (pour revue (Winocur et al., 2010), de nombreux travaux menés chez l'Homme utilisant une approche d'imagerie cérébrale ont montré que le rappel des souvenirs déclaratifs est corrélé à une réduction progressive de l'activité hippocampique associée à une augmentation de l'activité corticale au cours du temps (Smith and Squire, 2009; Smith et al., 2010; Takashima et al., 2006, 2009). Chez l'animal, des résultats similaires ont été obtenus grâce à la cartographie neuroanatomique des changements de l'activité métabolique (utilisation du $(^{14}\text{C})^2$ -désoxyglucose) ou neuronale (mesure de l'expression des gènes c-Fos, Arc ou Zif268) au cours du temps après l'encodage (Bontempi et al., 1999; Frankland et al., 2004;

Hall et al., 2001; Lesburguères et al., 2011; Maviel et al., 2004; Ross and Eichenbaum, 2006; Takehara et al., 2003; Takehara-Nishiuchi and McNaughton, 2008; Wheeler et al., 2013). Par l'utilisation de divers paradigmes comportementaux, ces études ont démontré que l'HPC est plus activé lors du rappel d'informations récentes que lors de celui d'informations anciennes. En revanche, on observe un pattern d'activation inverse dans certaines régions cérébrales corticales telles que le cortex préfrontal médian (CPFm), le cortex temporal et le cortex cingulaire antérieur (CCA), qui sont plus activés lors du rappel de traces mnésiques anciennes (Bontempi et al., 1999; Lesburguères et al., 2011; Maviel et al., 2004).

Les données d'imagerie cérébrale sur l'activité néocorticale ont également appuyé l'idée que cette prise en charge corticale s'accompagne d'une réorganisation de l'architecture des neurones corticaux, en accord avec les prédictions des modèles connexionnistes qui postulent l'existence d'une augmentation de la complexité des réseaux corticaux au cours du processus de consolidation (McClelland et al., 1995). Ainsi, la stabilisation de traces mnésiques anciennes est accompagnée d'une augmentation de la densité des épines dendritiques au niveau du CCA lors de la consolidation d'un souvenir de peur conditionnée au contexte (Restivo et al., 2009) et au niveau du COF lors de la corticalisation d'informations acquises dans la tâche de TSPA (Lesburguères et al., 2011). Dans le même ordre d'idée, dans une tâche de discrimination spatiale, Maviel et collaborateurs révèlent une augmentation de l'expression de la protéine pré-synaptique GAP-43 (growth-associated protein), utilisée comme marqueur de la formation de nouvelles synapses (synaptogénèse), dans le CCA entre les délais de rétention de 1 jour et de 30 jours. Lesburguères et al., 2011 révèlent des résultats similaires concernant la synaptophysine dans le COF. Ainsi ce remodelage structural au niveau pré- et post-synaptique au sein des neurones corticaux refléterait une augmentation graduelle de l'activité synaptique et de la complexité des connexions cortico-corticales des réseaux neuronaux impliqués dans les processus de rappel et de stockage de l'information à long terme et constituerait donc un corrélat morphologique de la stabilisation de la mémoire au cours du temps.

Les approches lésionnelles ou d'inactivations temporaires confirment l'importance de structures néocorticales au moment du rappel des traces mnésiques anciennes. Comme dans d'autres tâches hippocampo-dépendantes, la consolidation des informations acquises dans la tâche de conditionnement de la membrane nictitante, nécessite une contribution de l'HPC limitée dans le temps, celui-ci étant impliqué dans le rappel de la mémoire récente mais pas de la mémoire ancienne (Kim et al., 1995; Takehara et al., 2003). En revanche, dans ce même paradigme expérimental, la lésion du CPFm va affecter plus sévèrement la mémoire ancienne. Ces données indiquent que le CPFm est plus impliqué dans la rétention des informations anciennes que récentes.

Le rôle du CPFm s'exerce donc avec une importance graduelle dans le temps, inverse à celle de l'HPC. De façon similaire, l'inactivation pharmacologique du CCA va spécifiquement perturber l'expression des souvenirs anciens, et non récents, dans des tâches de conditionnement de peur au contexte (Frankland et al., 2004), de discrimination spatiale dans le labyrinthe à 5 bras (Maviel et al., 2004) et en piscine de Morris (Teixeira et al., 2006). Cette prise en charge néocorticale du rappel d'informations anciennes apparaît même en l'absence d'un désengagement hippocampique (Teixeira et al., 2006). En accord avec le modèle standard, ces données ont permis de mettre en évidence l'importance croissante de régions néocorticales pour la représentation et l'expression de la mémoire à long terme. Elles confirment ainsi l'idée que la mémoire ancienne requiert l'implication de structures extrahippocampiques (Teng and Squire, 1999 ; Rosenbaum et al., 2000), comme le suggèrent également chez l'Homme les démences sémantiques, secondaires à des dommages du cortex inférotemporal et caractérisées par une perte spécifique des traces mnésiques anciennes (Moscovitch and Nadel, 1998 ; Levy et al., 2004).

b) La théorie des schémas

Chacun a pu faire un jour le constat qu'il est plus facile d'apprendre et se rappeler de nouvelles choses si elles sont en relation avec ce que nous connaissons déjà (Bartlett, 1932 ; Bransford, 1979). C'est par exemple sur ce constat de base que sont créées la plupart des séries télévisées. Bien que la complexité de l'histoire croît au cours des semaines de diffusion, le téléspectateur est capable de garder en mémoire le fil de la narration car chaque nouvel épisode, s'il est cohérent avec les précédents, est intégré à un schéma facilitant son assimilation au fur et à mesure que la série avance et que donc le schéma se construit.

En 1932, le psychologue britannique Frederic Bartlett développa le concept de « schéma » pour faire référence à un réseau structuré de connaissances au sein duquel vont être intégrées de nouvelles informations (Ghosh and Gilboa, 2014). Bien que ce concept soit fondamental dans l'étude psychologique de la mémoire humaine, il est resté longtemps inexploité dans le cadre de l'étude neurobiologique de la mémoire. Récemment, Tse et al. ont pu démontrer chez le rat la pertinence de ce concept pour la compréhension des mécanismes corticaux impliqués dans la consolidation mnésique (Tse et al., 2007, 2011). Comme mentionné précédemment, la corticalisation des nouveaux souvenirs déclaratifs s'opère progressivement durant plusieurs semaines chez les rongeurs, jusqu'à plusieurs années chez l'Homme. Ce processus d'assimilation de nouvelles informations au niveau cortical serait lent afin de réduire le risque d'interférer avec le stockage de

souvenirs plus anciens générés lors d'expériences antérieures (McClelland et al., 1995). Cependant, les animaux chez lesquels ces observations ont été effectuées sont élevés dans un environnement assez appauvri et sont généralement naïfs au moment de l'apprentissage. Ces conditions expérimentales modélisent assez peu la situation observée chez l'animal vivant dans son environnement naturel où chaque nouvel apprentissage s'ajoute à un ensemble complexe de connaissances précédemment acquises. D'autre part, chacun peut témoigner d'un grand nombre d'expériences au cours de sa vie précédant aussi chaque nouvel apprentissage.

Les études de Tse et al. (2007, 2011) ont démontré que le gradient d'amnésie rétrograde observé après lésion hippocampique n'est pas une entité rigide mais peut faire preuve d'une grande flexibilité en fournissant pour la première fois chez le rongeur la démonstration que de nouvelles informations peuvent être incorporées rapidement au niveau cortical si ces informations sont similaires à la représentation corticale (ou schéma) d'un environnement spatial complexe préalablement établi. Dans ces études, des rats apprennent à associer six odeurs à six emplacements au sein d'une arène (« event arena ») formant un environnement spatial complexe. Pour commencer le rat est exposé à une odeur avant son entrée dans l'arène puis doit rejoindre le bon emplacement associé à cette odeur afin d'être récompensé avec la nourriture dont il a précédemment senti l'odeur. A différents moments du processus d'apprentissage, les performances mnésiques des rats sont testées ce qui a permis de révéler que les animaux apprennent lentement (en six semaines) les six associations odeur/localisation, chaque paire étant présentée une fois par session et trois sessions étant planifiées par semaine. Suite à l'apprentissage de ces différentes paires, les rats non-lésés étaient capables d'apprendre deux nouvelles associations odeur/localisation en une seule session et de s'en rappeler durant au moins deux semaines. Ces résultats furent le premier indice suggérant la formation d'un schéma cortical formé par les six premières associations et auquel ont été rapidement incorporées les nouvelles associations. Le résultat le plus saisissant témoignant de l'existence d'un schéma cortical, a été de mettre en évidence que l'ablation bilatérale de l'HPC seulement 48h après l'apprentissage des deux nouvelles associations n'altère pas leur rappel, démontrant leur corticalisation très rapide. Un point important a été de montrer que l'apprentissage de ces deux dernières associations reste hippocampo-dépendant puisque l'ablation de l'HPC 3h après l'apprentissage supprime la mémoire de ces associations. Par ailleurs, des résultats complémentaires démontrent que la présentation des deux nouvelles associations dans un environnement familier induit un apprentissage rapide et l'expression de gènes de réponse précoce (Zif268, Arc) dans différentes régions corticales (dont le CPFm). En revanche, la présentation des deux nouvelles associations dans un nouvel environnement n'est pas suffisante pour induire un apprentissage et l'expression de ces gènes corticaux (Tse et al., 2011). Ces résultats renforcent l'idée que des

changements importants s'opèrent au sein des neurones corticaux suite à l'exposition de nouvelles associations similaires au schéma précédemment établi mais pas après la réexposition d'informations déjà connues ou suite à la présentation de nouvelles paires en l'absence d'un schéma préétabli.

Ainsi, ces études ont révélé que le cortex n'est pas obligatoirement un « slow learner » puisque dans certaines circonstances il est capable d'intégrer rapidement de nouvelles informations. L'accélération du processus de consolidation mnésique peut s'expliquer par l'existence d'un schéma cortical précédemment établi et permettant l'intégration rapide d'informations similaires ou compatibles, sans générer d'interférence (Wang and Morris, 2010 ; McClelland, 2013).

Par ailleurs, les résultats précédents démontrent que le stockage et le rappel de la mémoire spatiale générée dans l'« event arena » peuvent s'opérer indépendamment de l'HPC, contrairement aux prédictions typiquement avancées par le modèle des traces multiples/hypothèse de transformation (Winocur and Moscovitch, 2011) et à l'idée que l'HPC est le site de stockage des cartes spatiales (O'Keefe and Nadel, 1978) (voir ci-dessous). En accord avec la théorie des schémas, le niveau élevé de familiarité de l'environnement dans lequel la mémoire se construit peut permettre à celle-ci, pourtant riche en détails spatiaux et contextuels, de devenir hippocampo-indépendante. Winocur et al. (2005) montrent ainsi que si des rats sont habitués de façon durable à un environnement complexe appelé « le village » contenant de multiples voies d'accès à l'eau et à la nourriture dans divers compartiments, ils n'expriment pas de déficit de mémoire spatiale suite à des lésions hippocampiques. Ces résultats suggèrent ainsi que la familiarité de l'environnement spatial peut permettre de maintenir au moins certains aspects de la mémoire spatiale, sans contribution de l'HPC mais grâce à l'établissement d'une carte cognitive corticale de l'environnement spatial (Rosenbaum et al., 2000 ; Rosenbaum et al., 2001 ; Moscovitch et al., 2005).

Le modèle standard (auquel est aussi associée la théorie des schémas) est largement étayé par diverses études expérimentales ayant utilisé des approches invasives (lésions/inactivations transitoires) ou non invasives (imagerie cérébrale) chez le rongeur et le primate, dans des tâches de mémoire spatiale ou non spatiale (Dudai, 2004 ; Wang and Morris, 2010 ; Squire et al., 2015). Cependant ce modèle présente quelques limites et ne rend pas compte, par exemple, du phénomène d'amnésie rétrograde avec un gradient plat observé dans certaines études (voir ci-dessus). En effet, la corticalisation à terme de toutes les formes de mémoire déclarative, postulée par le modèle standard, est un aspect qui reste très débattu. Les limites du modèle standard ont poussé d'autres auteurs à formuler des modèles alternatifs de la consolidation. Nous présenterons ici

trois modèles principaux, à savoir, la théorie des cartes cognitives, la théorie des traces multiples et une évolution récente de cette dernière, l'hypothèse de transformation.

c) *La théorie des cartes cognitives*

En 1971, des enregistrements électrophysiologiques effectués dans l'HPC de rats en cours d'exploration d'un environnement spatial révèlent que certains neurones de la région CA1 de l'HPC sont capables d'enregistrer des informations spatiales relatives à la position de l'animal dans son environnement (O'Keefe and Dostrovsky, 1971). Ces neurones, baptisés « cellules de lieu », déchargent sélectivement quand l'animal entre dans une zone précise de son environnement spatial. Sur la base de ces résultats, O'Keefe et Nadel (1978) ont suggéré que l'HPC serait capable de construire une « carte cognitive » (ou carte spatiale) de l'environnement externe, carte que l'animal peut alors utiliser de façon flexible pour se repérer dans l'espace. De plus, l'ensemble des cellules de lieu recrutées est spécifique de l'environnement que l'animal est en train d'explorer mais cette spécificité requiert un certain temps pour se mettre en place, suggérant des modifications au sein du réseau neuronal recruté durant l'exploration spatiale. Contrairement à l'organisation topographique qui caractérise le cortex primaire sensoriel ou le cortex moteur, l'HPC présente une organisation aléatoire de ces cellules de lieu de telle sorte que des cellules de lieu voisines ne représentent pas nécessairement des régions voisines dans l'environnement spatial. Ainsi, le même environnement spatial peut recruter différentes populations de neurones chez différents individus et le même individu peut représenter différents environnements avec différentes sous-populations de neurones (Dombeck et al., 2010). Ces travaux ont ainsi permis d'affiner la contribution de l'HPC dans le traitement des informations déclaratives en démontrant son rôle essentiel d'intégrateur multimodal nécessaire à la navigation spatiale. Bien que la création de cartes cognitives soit une propriété majeure du réseau hippocampique, les études lésionnelles chez l'Homme et de nombreux travaux chez le rongeurs suggèrent que l'HPC a une fonction plus large d'intégrateur de nouvelles informations associatives qu'elles soient spatiales ou non spatiales (Squire et al., 2004).

d) *Le modèle des traces multiples*

Ce modèle dérive de certaines observations faites chez l'Homme, incompatibles avec le modèle standard. Par exemple, des lésions du LTM semblent affecter avec une plus grande gravité la composante épisodique de la mémoire en comparaison de sa composante sémantique. Par ailleurs, les lésions du LTM conduisent parfois à un gradient plat d'amnésie rétrograde, seuls les souvenirs

épisodiques acquis plusieurs décennies avant la lésion étant préservés. Sur la base de ces observations, la théorie des traces multiples (TTM) propose que 1) la formation initiale de la mémoire déclarative requiert systématiquement l'implication de la formation hippocampique, 2) la trace mnésique soit encodée au sein d'un réseau hippocampo-cortical étendu, 3) les caractéristiques de l'information encodée soient distribuées au sein de diverses assemblées neuronales corticales, 4) ces caractéristiques puissent être alors unies au contexte spatio-temporel traité par l'HPC, 5) ce dernier détiendrait les divers index des assemblées neuronales corticales et serait ainsi capable de créer et de rappeler une représentation cohérente et unifiée de l'information initiale (Nadel and Moscovitch, 1997 ; Moscovitch and Nadel, 1998). Les défenseurs de la théorie des traces multiples considèrent que le rappel d'un souvenir épisodique, qui est défini notamment par un contexte spatio-temporel précis, serait toujours tributaire de la contribution de l'HPC quel que soit l'âge du souvenir (Eldridge et al., 2000 ; Moscovitch et al., 2005) (Figure 8).

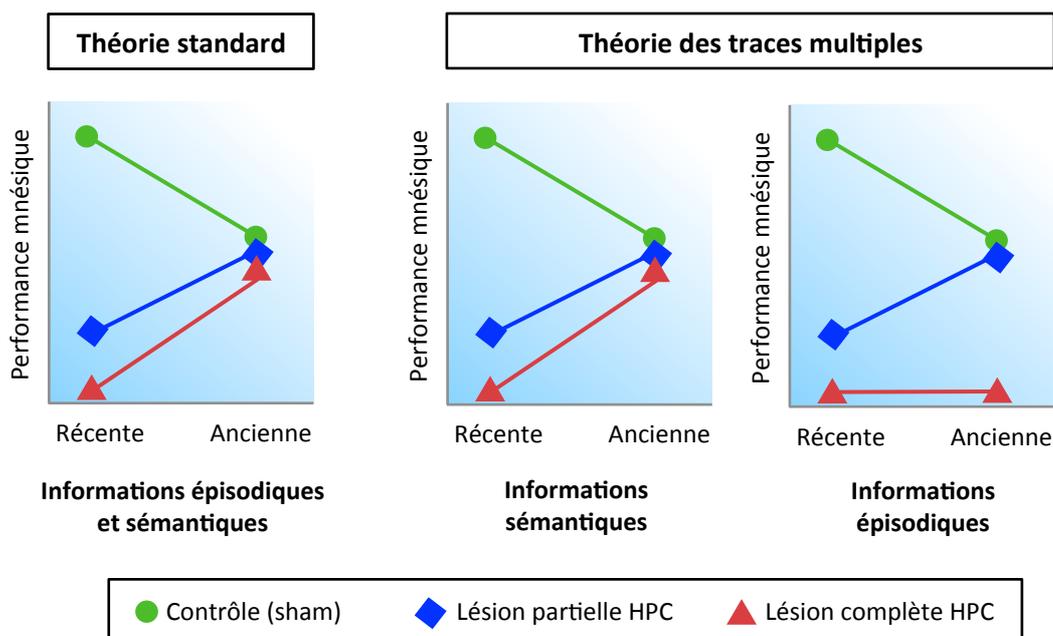


Figure 8 : Prédiction du modèle standard de la consolidation mnésique et de la théorie des traces multiples concernant les performances mnésiques en cas d'atteintes hippocampiques. D'après Frankland et Bontempi, 2005.

Par ailleurs, selon la TTM, à chaque fois qu'une mémoire épisodique est rappelée, elle est ré-encodée. En effet, en considérant que la formation hippocampique encode obligatoirement toute information consciemment perçue, la réactivation d'une trace mnésique va induire la création d'une nouvelle trace qui partagera alors tout ou une partie des caractéristiques de la trace initiale. Au fil des réactivations, le souvenir d'un évènement serait alors stocké dans un réseau hippocampo-

cortical de plus en plus étendu et sous la forme de traces multiples largement distribuées, rendant le rappel des mémoires épisodiques anciennes beaucoup moins sensible à des dommages restreints au système hippocampique que les mémoires récentes. Ainsi, des atteintes partielles de la FH pourraient conduire à une altération des mémoires épisodiques préférentiellement récentes, expliquant l'existence de gradients d'amnésie rétrogrades chez certains patients. Cependant, une lésion complète de la FH induirait une amnésie rétrograde totale, non graduelle.

Concernant la mémoire sémantique, la TTM fait les mêmes prédictions que le modèle standard, à savoir que lors d'une atteinte hippocampique on observerait une altération de la mémoire récente alors que la mémoire plus ancienne serait préservée (Figure 8). L'idée est qu'au cours du temps, la réactivation de la mémoire induirait la création de traces multiples, en relation les unes avec les autres, permettant l'extraction des informations factuelles d'un épisode et leur intégration à des souvenirs sémantiques préexistants. Les connaissances factuelles du monde (sémantiques) qui sont acquises dans le contexte d'un épisode seront séparées de celui-ci et finalement stockées de façon indépendante. Ainsi, en accord avec la prédiction du modèle standard de la consolidation, la mémoire sémantique ne dépendrait de l'HPC que pour une période limitée dans le temps, période après laquelle elle pourrait être supportée seulement par le néocortex. Si la majorité des données de la littérature sur les souvenirs sémantiques va dans le sens d'un désengagement hippocampique avec le temps, certaines études mettent en évidence une absence de gradient y compris pour la mémoire sémantique (Moscovitch et al., 2005). Ceci pourrait être expliqué par la présence d'un aspect épisodique dans la composition d'un souvenir sémantique.

e) L'hypothèse de transformation

Une évolution récente de la TTM fait état d'un changement possible du format des traces mnésiques au cours de leur consolidation. Il a en effet été montré que la plupart des souvenirs autobiographiques perdent de leur détails spatio-temporels en vieillissant (Levine et al., 2002 ; Wiltgen et al., 2010 ; Biedenkapp and Rudy, 2007 ; Furman et al., 2012). La mémoire épisodique initialement dépendante d'un réseau hippocampo-cortical serait ainsi « transformée » en une représentation sémantique au cours de sa consolidation au niveau cortical. La corticalisation des traces mnésiques serait ainsi corrélée à un processus de « décontextualisation » ou de « sémantisation » au cours du temps, le rappel des souvenirs épisodiques détaillés restant toujours sous la dépendance de l'HPC (Winocur et al., 2010 ; Winocur and Moscovitch, 2011). Dans cette perspective, un désengagement hippocampique au cours de la consolidation d'une mémoire

initialement épisodique pourrait être observé, mais il reflèterait dans ce cas, une sémantisation de la représentation. En raison de ce processus de transformation des traces mnésiques, les souvenirs autobiographiques apparemment préservés chez les patients amnésiques (avec lésion hippocampiques) seraient en réalité privés de leur contenu détaillé et apparaîtraient donc qualitativement différents de ceux des sujets sains (Moscovitch et al., 2006).

Cette idée est notamment confortée par plusieurs études chez le rat. Winocur et al. (2007) ont testé l'hypothèse de transformation dans deux tâches hippocampo-dépendantes : la TSPA et un conditionnement de peur au contexte. Au cours de ces deux tâches, les auteurs ont testé la mémoire à court terme et à long terme des animaux dans le contexte initial d'acquisition ou dans un contexte différent. En accord avec l'hypothèse de transformation, le changement de contexte perturbe le rappel à court terme de la mémoire mais pas son rappel à long terme. Les auteurs ont alors conclu que la représentation restituée à long terme s'est modifiée en se décontextualisant, confirmant ainsi chez l'animal un changement du format initial de la trace. La même année, deux autres équipes confirment que la mémoire ancienne peut être généralisée à plusieurs contextes, alors que la mémoire récente semble être plus discriminative, révélant que la mémoire contextuelle perd en précision au cours du temps (Wiltgen and Silva, 2007 ; Biedenkapp and Rudy, 2007). Dans une étude plus récente, Wiltgen et al. (2010) démontrent également que les animaux qui parviennent à discriminer les deux contextes présentent un déficit mnésique après inactivation pharmacologique de l'HPC 14 jours après l'apprentissage, contrairement aux animaux qui généralisent. Ainsi ces résultats suggèrent que l'HPC est requis pour le rappel de la mémoire contextuelle. En revanche, si seulement la composante sémantique de la mémoire initiale est disponible, celle-ci peut être rappelée grâce à la seule contribution du néocortex.

4. De nouvelles techniques d'investigation pour éclairer les mécanismes du dialogue hippocampo-cortical

Depuis cinq ans, la relative démocratisation d'outils innovants (principalement optogénétiques) pour l'étude du SNC a permis d'explorer avec une plus grande précision la dynamique avec laquelle la trace mnésique est consolidée à l'échelle systémique. Les paragraphes suivants présentent quelques études récentes illustrant comment le débat actuel sur la contribution de l'HPC au rappel de la mémoire ancienne progresse grâce à ces nouvelles technologies.

Jusqu'à récemment, l'impossibilité d'inhiber l'HPC avec une résolution temporelle suffisamment précise laissait ouverte la possibilité que des mécanismes de compensation se mettent en place durant une inactivation pharmacologique prolongée, créant ainsi un biais d'interprétation.

Dans une première étude, l'inhibition optogénétique de l'HPC dorsal est utilisée pour explorer son interaction avec le CCA dans une tâche de conditionnement de peur au contexte, avec une résolution temporelle supérieure à celle offerte par les outils pharmacologiques classiques (Goshen et al., 2011). Une inhibition optogénétique brève (5 min) de l'HPC durant la réexposition au contexte initial perturbe le rappel de la mémoire testée 28 jours, 9 semaines et 12 semaines après l'apprentissage. En revanche, une inhibition pharmacologique ou optogénétique plus longue (durant 30 min et commençant 25 min avant la phase de test, mimant ainsi l'inactivation pharmacologique) n'altère pas le rappel de la mémoire à long-terme mais seulement celui de la mémoire à court terme, révélant ainsi un gradient temporel d'amnésie rétrograde. Par ailleurs, l'inhibition brève de CA1 réduit l'expression de c-fos dans CA1 et le CCA alors que l'inhibition prolongée diminue son expression dans le CA1 mais l'augmente dans le CCA. Ces résultats supportent l'idée que l'inhibition prolongée de l'HPC favorise une activation corticale compensatrice permettant d'assurer le rappel de la mémoire à long-terme, confirmant le résultat d'une étude antérieure (Kitamura et al., 2009).

En accord avec les prédictions du modèle des traces multiples/hypothèse de transformation, ces études suggèrent que l'HPC est nécessaire au rappel d'informations contextuelles anciennes. Néanmoins, Goshen et al., (2011) démontrent que l'HPC n'intervient pas seul dans le rappel de la mémoire à long terme. Ainsi, cette étude supporte l'idée que le rappel de la mémoire à long terme peut être médié par deux voies possibles (Suzuki and Naya, 2011). Une voie par défaut dans laquelle l'HPC et le CCA, au travers de leur interaction fonctionnelle, sont nécessaires au rappel normal des souvenirs contextuels anciens. La seconde voie est compensatoire. Quand l'HPC est inactivé, l'activation corticale peut être augmentée afin d'assurer le rappel de la mémoire indépendamment de l'HPC. Une question en cours d'investigation est de savoir si la nature de la représentation mnésique au niveau cortical varie en fonction de ces deux voies.

Dans une étude similaire, Tanaka et al., (2014) démontrent que l'inhibition optogénétique des neurones de CA1 lors de la réexposition au contexte, altère la réponse de peur, indiquant que le rappel de la mémoire a été bloqué. Des résultats comparables ont été obtenus suite à l'inhibition optogénétique de la trace mnésique dans le GD ou la région CA3 au moment du rappel d'un conditionnement de peur au contexte (Denny et al., 2014). Alors que la mémoire de peur dépendante du contexte serait représentée au sein de réseaux de neurones hippocampo-corticaux, empêcher la réactivation de l'« index hippocampique » serait suffisant pour bloquer la réactivation du réseau hippocampo-corticaux dans son ensemble. En accord avec cette idée, l'inhibition brève des

neurones de CA1 au moment du rappel réduit la réactivation des neurones du cortex (entorhinal, rétrosplénial et périrhinal). Ainsi, ces résultats suggèrent que l'inhibition des neurones hippocampiques induit un déficit de rappel en empêchant la réactivation de la trace mnésique dans le cortex (Tanaka et al., 2014).

Par ailleurs, le concept d'étiquetage cortical (Lesburguères et al., 2011 ; Tse et al., 2011) suggère qu'une trace mnésique est rapidement formée dans le cortex au moment de l'encodage. Afin de susciter son expression comportementale, cette trace corticale « immature » nécessiterait la réactivation du réseau hippocampo-cortical. Ainsi, l'implication de l'HPC dans le rappel d'une mémoire corticale récente pourrait être en théorie mimée artificiellement par optogénétique. Autrement dit, la fonction de l'HPC comme régénérateur de l'activité corticale durant la consolidation systémique pourrait être obtenue par optogénétique en activant sélectivement les neurones corticaux engagés dans une trace mnésique spécifique. Cowansage et al. (2014) ont récemment testé cette hypothèse en utilisant un conditionnement de peur au contexte chez des souris au sein desquelles le promoteur c-fos est utilisé pour induire l'insertion de canaux rhodopsine (ChEF) dans la population de neurones du cortex rétrosplénial (CRS) spécifiquement recrutés au moment de l'encodage. De cette façon, il a été possible de manipuler par optogénétique l'activité de cette seule population de neurones au moment du rappel. Les auteurs ont dans un premier temps soumis les souris à un conditionnement de peur dans un premier contexte, permettant le recrutement d'une population de neurones corticaux et hippocampique. Par la suite, la réactivation optogénétique des neurones du CRS dans un contexte neutre (pour lequel la souris ne possède pas de mémoire de peur) est suffisante pour induire artificiellement le rappel de la mémoire de peur. Par ailleurs, cette réponse comportementale est aussi obtenue suite à l'activation artificielle dans le contexte neutre des neurones du CRS couplée à l'inhibition pharmacologique de l'HPC. Ainsi, bien que l'HPC joue un rôle essentiel dans le processus de stabilisation de la trace mnésique au niveau cortical, ces résultats suggèrent que son implication peut être contournée si une autre stratégie (artificielle/exogène) est utilisée pour réactiver les neurones corticaux formant l'engramme. Cette étude a ainsi pu fournir une preuve de principe appuyant l'idée que la trace mnésique corticale est suffisante pour le rappel de la mémoire contextuelle.

En conclusion, il demeure un certain nombre d'interrogations concernant la contribution de l'HPC lors de son dialogue avec le néocortex et la façon dont celui-ci représente la mémoire à long terme en présence ou en absence de l'HPC. Selon le modèle standard de la consolidation mnésique, l'HPC ne détiendrait que temporairement un index lui permettant la réorganisation cohérente de la trace mnésique stockée dans le cortex (Frankland and Bontempi, 2005). Si cette prédiction est vraie,

le rappel de la mémoire par activation naturelle de l'index hippocampique ou par activation artificielle de l'engramme cortical, ne devrait pas varier en qualité bien que ces deux stratégies de rappel soient différentes. Le modèle alternatif (modèle des traces multiples/hypothèse de transformation) postule que l'HPC prend en charge le stockage à long terme des détails spatiaux et contextuels de l'information, non présents au niveau cortical (Winocur and Moscovitch, 2011). Ainsi selon ce modèle, un souvenir exprimé via l'activation de l'HPC devrait être enrichi en détails spatiaux et contextuels contrairement à un souvenir rappelé par réactivation directe des neurones corticaux, plus sémantisé et donc généralisable (Wiltgen et al., 2010).

Les divergences qui opposent ces diverses conceptions sur la consolidation mnésique se réfèrent principalement au rôle de la structure hippocampique lors la restitution à long terme de l'information et à la nature de l'information à rappeler. Malgré ces différences il existe un consensus général entre les conceptions théoriques du modèle standard et de la TTM, selon lequel l'HPC ne jouerait qu'un rôle transitoire dans la consolidation d'informations sémantiques (Squire and Alvarez, 1995 ; Winocur et al., 2010 ; Dudai, 2012 ; Squire et al., 2015).

C. La consolidation synaptique

Bien que les études précédentes aient permis d'établir une classification des différents types de mémoire et aidé à renforcer l'idée que les traces mnésiques ont une localisation anatomique donnée selon leur âge, elles ne renseignent pas quant aux mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu à l'échelle du neurone ou de la synapse durant le processus de consolidation.

L'une des avancées majeures apportée par les travaux modernes sur la mémoire est la découverte que les synapses, considérées comme les unités fonctionnelles du cerveau, constituent probablement aussi les briques élémentaires du stockage mnésique. Un mammifère comme l'Homme possède près de 100 milliards de neurones. Chaque neurone établit environ 10 000 connexions synaptiques avec d'autres neurones. Bien que le nombre total de synapses soit impossible à évaluer, celui-ci est gigantesque et s'il ne reflète pas nécessairement notre capacité de stockage mnésique, il est surtout révélateur de l'immense complexité des réseaux neuronaux pouvant sous-tendre ce processus (Figure 9).

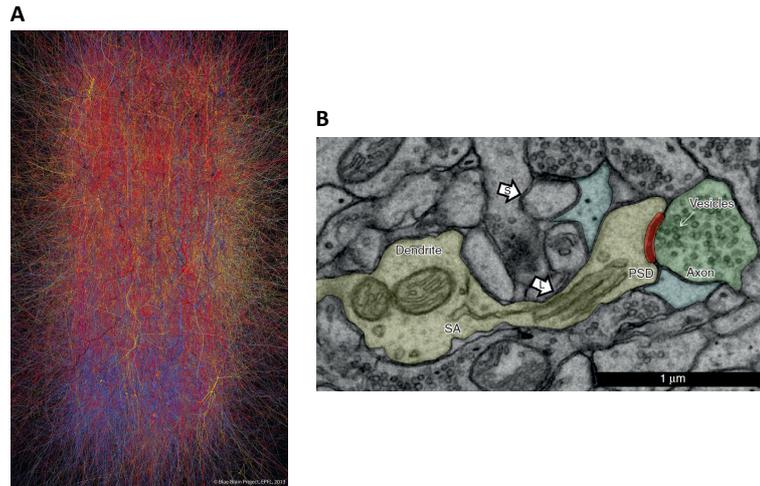


Figure 9 : Réseaux de neurones et synapses. (A) Reconstruction digitale d'une colonne néocorticale du cerveau de rat. Ce réseau de neurones d'un volume inférieur à 1 mm^3 contient 10 000 neurones virtuels connectés entre eux par plus de 30 millions de synapses. Le néocortex d'un rat contient environ 100 000 colonnes comme celle-ci, révélant ainsi la complexité du fonctionnement cérébral. The Blue Brain Project, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), IBM. (B) Image en microscopie électronique représentant une synapse tripartite au sein de l'HPC (CA1) de rat adulte. Petite (S) et large (L) épines dendritiques (jaune). Densité post-synaptique (rouge), axone pré-synaptique contenant des vésicules (vert), astrocytes (bleu clair). Tiré de Bailey et al., 2015.

Durant les quatre dernières décennies, de nombreuses connaissances ont été apportées quant à la structure des synapses, leur composition moléculaire et leurs fonctions physiologiques. L'un des résultats les plus importants a été la mise en évidence que la force des connexions synaptiques n'est pas fixe mais modifiable par l'activité neuronale, une propriété fonctionnelle appelée *plasticité synaptique*. Comprendre comment les changements synaptiques au sein d'un réseau neuronal peuvent supporter l'expression de processus cognitifs complexes tels que la formation et le stockage de nos souvenirs constitue probablement l'un des plus importants challenges des neurosciences modernes.

1. Bref historique

Les premiers fondements théoriques visant à comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires de formation et de stockage des souvenirs ont probablement été énoncés par Santiago Ramón y Cajal (Figure 10) sur la base de ses travaux anatomiques. Cet anatomiste espagnol remarqua que les neurones matures ont perdu la capacité de se diviser. Par une intuition remarquable, il proposa alors que l'apprentissage, au lieu d'induire la création de nouveaux neurones, serait capable de renforcer la capacité des neurones préexistants à communiquer les uns avec les autres en provoquant la croissance de nouvelles synapses. La persistance de ces

modifications neuroanatomiques serait utilisée comme support élémentaire du stockage mnésique (Ramón y Cajal, 1894).



Santiago Ramón y Cajal
(1852-1934)



Donald Olding Hebb
(1904-1985)

Figure 10 : *Santiago Ramón y Cajal et Donald Olding Hebb*

En 1949 le neuropsychologue canadien Donald O. Hebb publie l'une des œuvres les plus influentes de l'Histoire des Neurosciences, *The Organization of Behavior : A Neuropsychological Theory*. Dans cet ouvrage, il défend une conception biologique de la psychologie et y expose ses idées clés sur l'apprentissage et les mécanismes d'association entre les neurones. L'une des contributions les plus importantes de Hebb à la neuropsychologie est le postulat que la mémoire serait formée lorsque deux neurones interconnectés, activés simultanément et de façon répétée, renforcent leurs connexions de sorte que l'activation de l'un par l'autre soit ensuite plus importante.

“

When an axon of cell A is near enough to excite B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased.

—
Donald O. Hebb

Le renforcement des connexions synaptiques entre neurones activés au moment de l'apprentissage contribuerait ainsi à la formation d'une ou plusieurs « assemblées neuronales » constituant le substrat neuronal de la trace mnésique. Selon Hebb, « la pensée » (que l'on peut assimiler au rappel mnésique) correspondrait alors à la réactivation en séquence de ces assemblées de neurones. Les synapses qui manifestent cette propriété sont maintenant appelées synapses de Hebb. On nomme alors un apprentissage hebbien, tout apprentissage associatif basé sur des modifications de la force synaptique entre neurones pré- et post-synaptiques qui ont été préalablement activés simultanément. Cette idée a pu fournir un substrat moléculaire aux

phénomènes d'apprentissage et a ouvert la voie à de nombreuses recherches empiriques en neurosciences expérimentale et computationnelles. Plusieurs décennies après Hebb, Tim Bliss et Terje Lømo (1973) vont mettre en évidence le phénomène de potentialisation à long terme (PLT), le premier argument expérimental crédible en faveur de la proposition de Hebb pour rendre compte du stockage de nos souvenirs (Tsien, 2000).

2. Plasticité des synapses glutamatergiques

Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur présent dans le système nerveux central (SNC) des mammifères (Traynelis et al., 2010). Celui-ci se lie à une large variété de récepteurs membranaires, incluant des récepteurs ionotropiques caractérisés par la présence d'un canal perméable à différents cations (calcium, sodium et potassium). Ces récepteurs ionotropiques peuvent être divisés en trois grandes familles : les récepteurs AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozol-4-propionate), les récepteurs kaïnate et les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) (Traynelis et al., 2010). Depuis leur découverte (Curtis and Watkins, 1963), les récepteurs NMDA n'ont pas arrêté de fasciner les neuroscientifiques en raison de leur rôle central dans le fonctionnement du cerveau. Ces récepteurs sont en effet des médiateurs essentiels de la plasticité synaptique par leur capacité à convertir l'activité neuronale en modifications durables de la fonction et de la structure des synapses sous-tendant les fonctions cognitives. Un dysfonctionnement de ces récepteurs peut conduire au développement d'un grand nombre de pathologies neurologiques et psychiatriques caractérisées par des déficits d'apprentissage et/ou de mémoire (Lau and Zukin, 2007). La plasticité des synapses glutamatergiques est donc aujourd'hui considérée comme un mécanisme cellulaire essentiel aux processus mnésiques chez les mammifères. Cette plasticité repose en grande partie sur la capacité des synapses excitatrices à moduler dynamiquement leur composition en récepteurs glutamatergiques (notamment AMPA et NMDA) au sein de la membrane post-synaptique.

a) Les récepteurs NMDA : détecteurs de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique

Les récepteurs NMDA possèdent des propriétés singulières qui les distinguent des autres récepteurs ionotropiques (Traynelis et al., 2010). La première particularité de ces récepteurs est la présence d'ions magnésium (Mg^{2+}) obstruant le canal ionique au potentiel de repos de la membrane neuronale et rendant ainsi son ouverture dépendante du voltage. Deuxièmement, les récepteurs

NMDA sont perméables au Ca^{2+} . Troisièmement, leur activation requiert non seulement du glutamate mais également un co-agoniste : la glycine ou la D-sérine. Quatrièmement, ils portent de nombreux sites de liaison à différentes molécules extracellulaires agissant comme modulateurs allostériques (positifs ou négatifs). Cinquièmement, ces récepteurs ont un domaine intracellulaire particulièrement long leur permettant une grande variété d'interactions avec des partenaires protéiques, notamment ceux constituant la densité post-synaptique (DPS).

(1) Structure et diversité des sous-unités des récepteurs NMDA

Les récepteurs NMDA sont des complexes protéiques transmembranaires hétérotétramériques. Jusqu'à présent, sept sous-unités différentes ont été identifiées et classées en trois sous-familles selon le degré d'homologie de leur séquence respective (Traynelis et al., 2010 ; Paoletti, 2011) : la sous-unité GluN1, quatre sous-unités GluN2 (de GluN2A à GluN2D) encodées par quatre gènes différents, et deux sous-unités GluN3 (GluN3A et GluN3B) encodées par deux gènes distincts (Figure 11). La sous-unité GluN1 est encodée par un seul gène mais un épissage alternatif peut générer jusqu'à huit isoformes différents (de GluN1-1a à GluN1-4a et de GluN1-1b à GluN1-4b). Contrairement aux isoformes GluN1a, les isoformes GluN1b possèdent l'exon 5, codant pour une séquence extracellulaire de 21 acides aminés (appelée cassette N1) et dont la présence affecte les propriétés du récepteur (Rumbaugh et al., 2000). Les autres isoformes proviennent de l'épissage alternatif des exons 21 et 22, modulant le trafic des sous-unités (Horak and Wenthold, 2009).

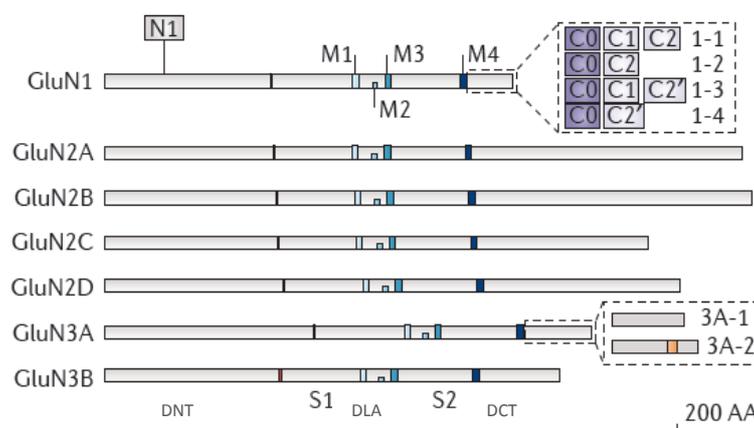


Figure 11 : Hétérogénéité des sous-unités GluN. Leur diversité est amplifiée par les variants d'épissage des sous-unités GluN1 et GluN3A. M1-M4 indiquent les segments transmembranaires. AA : Acide aminé. D'après Paoletti et al., 2013.

L'ensemble des sous-unités GluN présente la même structure composée de quatre domaines distincts (Figure 12) : le domaine N-terminal (DNT) ; le domaine de liaison aux agonistes (DLA); le domaine transmembranaire (DTM) formant le canal cationique ; et enfin le domaine intracellulaire C-terminal (DCT). Le DNT et le DCT sont les domaines qui divergent le plus entre chacune des sous-unités. Leur différence de taille (de 900 à 1480 acides aminés) est principalement due à une différence dans la longueur du DCT (Traynelis et al., 2010).

La partie extracellulaire du récepteur est ainsi formée par le DNT qui est impliqué notamment dans la modulation allostérique du récepteur, et le DLA formé de deux segments (S1 et S2), lesquels lient la glycine ou la D-sérine dans GluN1 et GluN3 et le glutamate dans GluN2. Le DTM est formé de trois hélices transmembranaires (M1, M3, M4) plus une boucle rééminente (M2) formant un filtre sélectif aux cations. Les récepteurs NMDA sont perméables au sodium (Na^+), au potassium (K^+) et au calcium (Ca^{2+}), ce dernier agissant comme un second messager essentiels aux processus de plasticité synaptique (Lynch et al., 1983). Le DCT, présentant de nombreux sites de phosphorylation et d'interaction avec d'autres protéines intracellulaires, est quant à lui impliqué dans le trafic du récepteur, son ancrage dans la densité post-synaptique (DPS) et son couplage à diverses voies de signalisation intracellulaires (Chen and Roche, 2007).

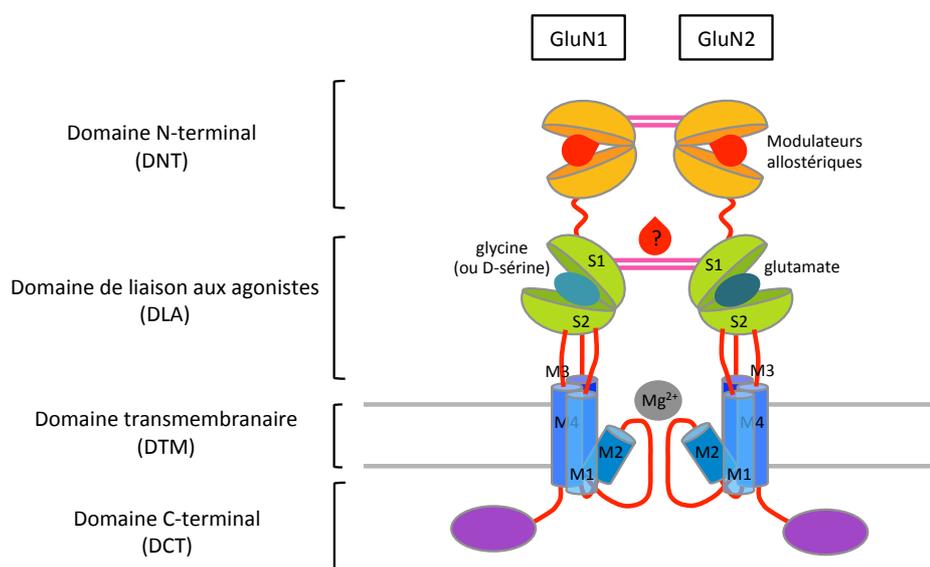


Figure 12 : Structure des sous-unités GluN du récepteur NMDA. Toutes les sous-unités GluN partagent une architecture modulaire composée de quatre domaines distincts : le domaine N-terminal (DNT) contenant des sites de liaison à des modulateurs allostériques, le domaine de liaison aux agonistes (DLA) liant la glycine ou la D-sérine sur GluN1 (ou GluN3) et le glutamate sur GluN2, le domaine transmembranaire (DTM) contenant le canal ionique, et le domaine intracellulaire C-terminal (DCT). Le DNT et le DCT sont les domaines les moins conservés entre les différentes sous-unités. Adapté de Paoletti, 2011.

Un récepteur NMDA est composé en général de deux sous-unités principales GluN1 (identiques ou différentes) associées à deux sous-unités régulatrices GluN2 (identiques ou différentes) ou à une sous-unité GluN2 plus une sous-unité GluN3 (Traynelis et al., 2010 ; Paoletti, 2011). Ainsi, si on considère les différentes isoformes de GluN1, au moins une douzaine de récepteurs NMDA a été décrite mais le nombre pourrait être plus important. Les formes di-hétéromériques GluN1/GluN2A et GluN1/GluN2B représentent une part importante des récepteurs NMDA au stade juvénile et adulte. Les formes tri-hétéromériques GluN1/GluN2A/GluN2B des récepteurs NMDA sont aussi présentes dans le cerveau adulte, dans une proportion mal connue mais qui pourrait se révéler élevée dans certaines régions comme le suggère plusieurs études (Luo et al., 1997 ; Al-Hallaq et al., 2007 ; Rauner and Kohr, 2011 ; Delaney et al., 2012 ; Tovar et al., 2013 ; Hansen et al., 2014). Dû à l'absence d'outils pharmacologiques permettant de discriminer les récepteurs tri-hétéromériques des autres formes, les propriétés et le rôle de ces récepteurs sont actuellement très mal connus (Hansen et al., 2014).

(2) Fonction générale des récepteurs NMDA dans l'induction des formes hebbiennes de plasticité synaptique

Comme mentionné précédemment, contrairement aux autres récepteurs glutamatergiques ionotropiques dont l'ouverture du canal est activée par la simple liaison de l'agoniste, l'activation des récepteurs NMDA est aussi sensible à l'état de dépolarisation de la membrane post-synaptique. En effet lorsque le potentiel membranaire est proche du potentiel de repos (environ -60mV), les ions Mg^{2+} présents à l'intérieur du pore du récepteur NMDA bloquent son activation. Ces ions Mg^{2+} ne peuvent être déplacés que lorsque l'élément post-synaptique est suffisamment dépolarisé pour les expulser à l'extérieur du canal via un phénomène de répulsion électrostatique. Ainsi, la libération de glutamate et de co-agonistes par le neurone pré-synaptique va induire la dépolarisation de l'élément post-synaptique via l'activation des récepteurs AMPA notamment. L'activation des récepteurs AMPA conduit à une entrée massive de Na^+ couplée à une faible sortie de K^+ , menant ainsi à la dépolarisation massive et rapide du neurone post-synaptique (Figure 13). Dès lors, la dépolarisation post-synaptique conduit à l'expulsion, hors du canal, du « bouchon Mg^{2+} » permettant le passage des cations (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}) au travers du récepteur NMDA. L'entrée de Ca^{2+} dans le neurone post-synaptique va alors initier une cascade de signalisation intracellulaire conduisant à la modification durable de la transmission synaptique.

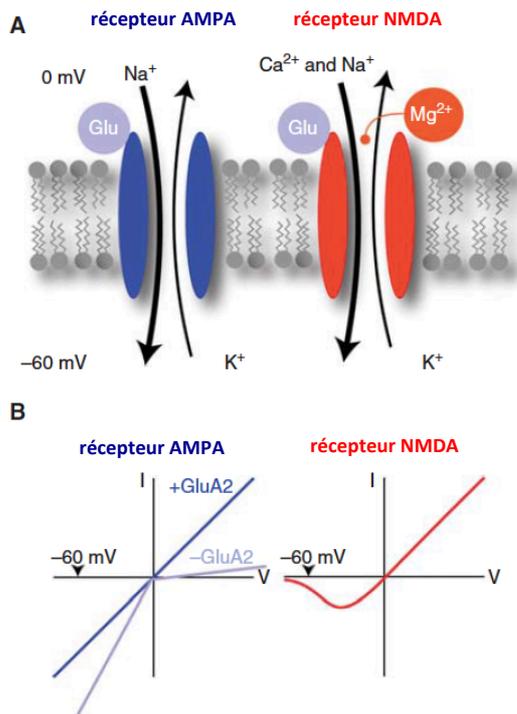


Figure 13 : Les deux formes principales de récepteurs glutamatergiques ionotropiques et leur signature électrophysiologique respective. (A) Lorsque le glutamate se lie au récepteur AMPA, le flux entrant de sodium et le flux sortant de potassium à travers le canal induisent la dépolarisation de la membrane post-synaptique. Celle-ci induit alors l'expulsion du magnésium obstruant le canal du récepteur NMDA et permet ainsi l'entrée de sodium et de calcium et la sortie de potassium au travers de ce dernier. (B) Relations courant-voltage (I-V) des récepteurs AMPA et NMDA. Le récepteur AMPA contenant la sous-unité GluA2 possède une courbe I-V linéaire alors qu'il conduit le courant plus facilement à l'intérieur de la cellule qu'à l'extérieur en absence de sous-unités GluA2. Les récepteurs NMDA possèdent une courbe I-V plus complexe en raison du blocage par le magnésium à des potentiels de membrane négatifs. Adapté de Lüscher et Malenka, 2012.

Ainsi, le récepteur NMDA est un acteur moléculaire unique puisque son activation requiert à la fois la libération de neurotransmetteurs par le neurone pré-synaptique et la dépolarisation de l'élément post-synaptique. Ce récepteur a donc très vite été considéré comme le candidat moléculaire idéal responsable de la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique nécessaire à l'induction des processus de plasticité synaptique sous-tendant les apprentissages associatifs, apportant ainsi un support biologique à la proposition de Donald O. Hebb.

b) Potentialisation et dépression synaptique à long terme dépendantes des récepteurs NMDA

La plasticité synaptique à long terme fait référence à des modifications durables de l'efficacité de la transmission synaptique en réponse à différentes expériences, notamment de natures sensorielles ou cognitives. Ces changements synaptiques, qui peuvent être de nature diverse (Figure 14), vont se mettre en place grâce à des mécanismes neuronaux multiples et vont être impliqués dans de nombreuses tâches comportementales (Woodside et al., 2004).

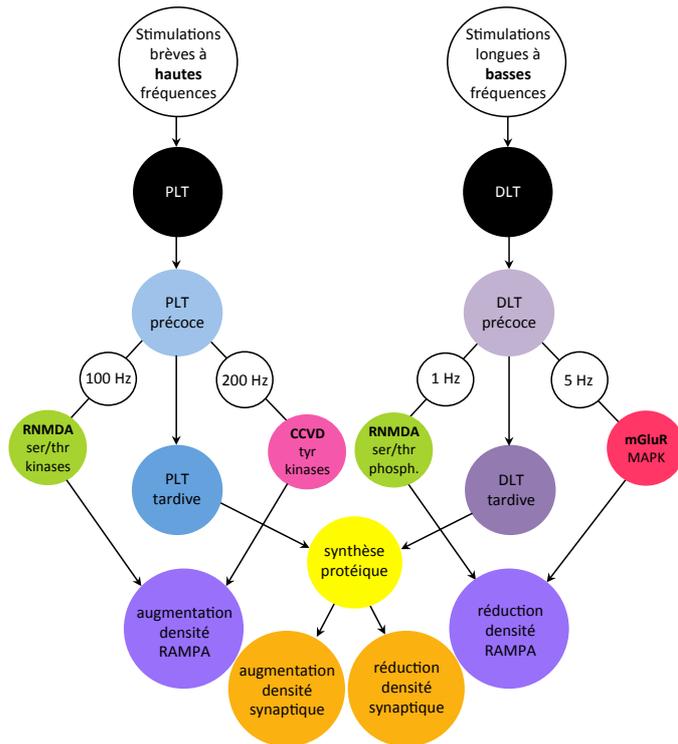


Figure 14 : Différentes formes de plasticité synaptique à long terme pouvant contribuer à la formation et au stockage de la mémoire. Différents patterns de stimulation synaptique recrutent différentes formes de PLT et DLT impliquant différentes voies de signalisation intracellulaires. RNMDA : récepteurs NMDA ; RAMPAs : récepteurs AMPA ; CCVD : canaux calciques voltage-dépendants ; mGluR : récepteurs métabotropiques au glutamate ; phosph. : phosphatases. Adapté de Mayford et al., 2012.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous focaliserons sur la potentialisation synaptique à long terme (PLT) et la dépression synaptique à long-terme (DLT), et en particulier sur les formes de PLT et de DLT dépendantes de l'activation des récepteurs NMDA. L'étude des bases cellulaires et moléculaires sous-tendant ces formes hebbiennes de PLT_{NMDA} et DLT_{NMDA} a reçu un intérêt considérable durant les quatre dernières décennies puisque, comme nous le verrons par la suite, de nombreuses évidences témoignent de leur rôle de substrats cellulaires nécessaires aux processus d'apprentissage et de stockage à long terme des souvenirs.

Conscients de l'importance du travail de Brenda Milner sur le rôle de l'HPC dans les processus mnésiques, Tim Bliss et Terje Lømo (1973) furent les premiers à essayer de comprendre comment les synapses de l'HPC participent au stockage de nouvelles informations. Se demandant si l'activité neuronale pouvait modifier la force synaptique dans l'HPC, ils décidèrent de stimuler artificiellement la collatérale de Schaffer entre les régions CA3 et CA1 de l'HPC (Figure 15). Ils démontrèrent qu'une salve de stimulations électriques à haute fréquence appliquée sur cette voie hippocampique produit une augmentation durable de la transmission synaptique entre les neurones de CA3 et CA1 (Bliss and Collingridge, 1993). Cette PLT générée dans la région CA1 requiert l'activation des récepteurs NMDA (Figure 15). Ainsi, cette forme de PLT_{NMDA} est dite « associative » parce qu'elle requiert une activation concomitante des éléments pré- et post-synaptiques.

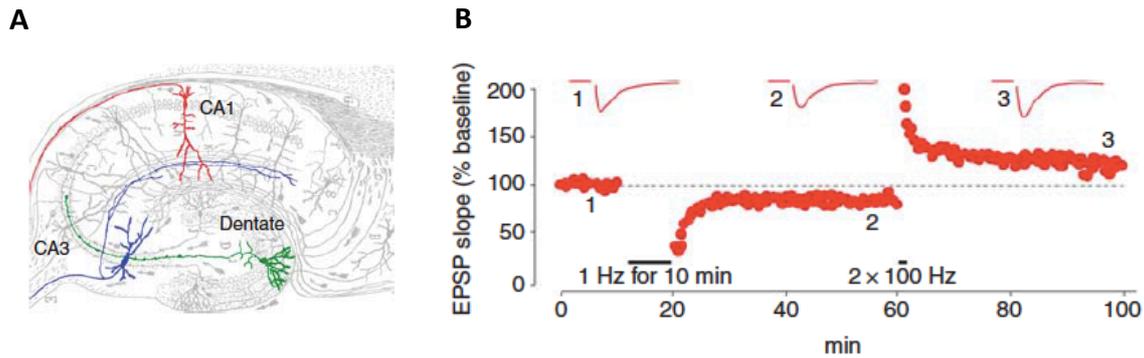


Figure 15 : PLT_{NMDA} et DLT_{NMDA} dans l'HPC. (A) Dessin historique de Ramón y Cajal (1909) du circuit trisynaptique de l'HPC. PLT et DLT sont induites par activation des récepteurs NMDA au niveau des synapses entre CA3 et CA1 (bleu et rouge). Par contraste, la PLT et la DLT au niveau des synapses entre le DG et CA3 (vert et bleu) sont indépendantes des récepteurs NMDA. (B) DLT et PLT au niveau de mêmes synapses entre CA3 et CA1 sur tranche fraîche d'HPC, induites consécutivement par deux protocoles d'inductions différents. D'après Lüscher and Malenka, 2012.

Bien que la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} furent mises en évidence au niveau de plusieurs synapses de l'HPC, de l'amygdale et dans de nombreuses régions du cortex, la majorité des connaissances actuelles sur les mécanismes moléculaires sous-tendant ces phénomènes de plasticité synaptique provient d'études effectuées sur la collatérale de Schaffer au sein de l'HPC (Malenka and Nicoll, 1999), une région fortement impliquée dans les apprentissages spatiaux et contextuels.

(1) Induction de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA}

Si les protocoles d'induction entre la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} sont différents (Figure 14), ils peuvent également varier en fonction de la région cérébrale étudiée (Malenka and Bear, 2004). Sur tranche d'HPC, la PLT_{NMDA} est obtenue par une ou plusieurs salves de stimulations électriques à haute fréquence (50-100 Hz durant 1 sec par exemple) appliquée sur la collatérale de Schaffer produisant une augmentation durable de la transmission synaptique entre les neurones des régions CA3 et CA1 de l'HPC (Bliss and Collingridge, 1993). Dans la même région, la DLT_{NMDA} peut être induite par des activations répétées et à basse fréquence (1-3 Hz durant 5-15 min par exemple) de la collatérale de Schaffer. Cette stimulation aboutit à une réduction durable de la transmission synaptique (Malenka, 1994) (Figure 15).

Ainsi, selon la cinétique avec laquelle le Ca^{2+} pénètre dans le neurone post-synaptique à travers les récepteurs NMDA, les connexions synaptiques subiraient soit une potentialisation soit une dépression. En effet, bien qu'il existe différents protocoles d'induction, il est maintenant bien accepté qu'une légère dépolarisation menant à une activation modérée des récepteurs NMDA conduit à une légère augmentation de la concentration calcique post-synaptique, laquelle est

optimale pour l'induction d'une DLT_{NMDA} . En revanche, une dépolarisation intense produisant une forte activation des récepteurs NMDA, et par conséquent une augmentation importante des concentrations intracellulaires de Ca^{2+} dans les neurones post-synaptiques, permet l'induction d'une PLT_{NMDA} (Malenka and Bear, 2004).

La PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} ont été identifiées et largement étudiées en utilisant des stimulations électriques artificielles qui activent un très grand nombre de fibres nerveuses, si bien qu'il est peu probable que ce phénomène se produise naturellement *in vivo* au cours d'un apprentissage. En effet, les patterns de stimulation utilisés pour induire la PLT_{NMDA} *in vitro* sont à très haute fréquence et donc la probabilité qu'ils soient mis en place durant un apprentissage *in vivo* est assez faible. Dans l'objectif d'induire la PLT_{NMDA} avec des profils d'activité plus « physiologiques », Nevian et ses collègues ont apparié la stimulation de l'élément pré-synaptique avec la dépolarisation du neurone post-synaptique (Nevian and Sakmann, 2006). Ainsi, ils ont démontré que la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} peuvent être induites en fonction de l'ordre avec lequel l'élément pré- et post-synaptique sont activés. Si la stimulation de l'élément pré-synaptique est provoquée de façon répétée quelques millisecondes avant la dépolarisation de l'élément post-synaptique (configuration « pré-post »), une PLT_{NMDA} est générée. Si l'ordre est inversé, c'est à dire si la dépolarisation de l'élément post-synaptique est induite de façon répétée avant l'activation de l'élément pré-synaptique (configuration « post-pré »), une DLT_{NMDA} est alors observée. Le décalage temporel avec lequel les éléments pré- et post-synaptiques sont activés apparaît donc comme un paramètre crucial pour établir la direction de la plasticité synaptique. Ce phénomène, appelé « spike timing-dependent plasticity » (Levy and Steward, 1983 ; Magee and Johnston, 1997 ; Caporale and Dan, 2008), est dépendant de l'activation des récepteurs NMDA. Ce protocole est souvent considéré comme une méthode plus physiologique pour induire la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} car ces profils d'activité sont observés chez l'animal durant certaines tâches comportementales (Xu et al., 2012).

(2) Mécanismes précoces d'expression de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA}

En théorie, deux principaux mécanismes pourraient expliquer comment se met en place l'augmentation (pour la PLT) ou la diminution (pour la DLT) de la transmission synaptique. Les changements synaptiques pourraient être dus à une modulation de la libération de neurotransmetteurs par l'élément pré-synaptique et/ou par un changement de « sensibilité » de l'élément post-synaptique en réponse à une même quantité de neurotransmetteurs libérés. Les résultats accumulés jusqu'à présent dans le cadre de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA} , confirment

l'implication prépondérante de mécanismes post-synaptiques nécessaires à leur expression. En revanche, en raison de résultats contradictoires, peu d'évidences ont été apportées démontrant que ces formes de PLT et de DLT sont associées à une modulation de la probabilité ou de la quantité de glutamate libéré par l'élément pré-synaptique (pour revue Lüscher and Malenka, 2012). Cependant des études ont montré que suite à un protocole de PLT_{NMDA}, des messagers rétrogrades peuvent être libérés par le compartiment post-synaptique. Ces messagers rétrogrades, tels que le monoxyde d'azote (NO), seraient capable d'agir sur l'élément pré-synaptique pour modifier la libération de neurotransmetteur (Arancio et al., 1996).

Concernant les mécanismes post-synaptiques, les phases précoces d'expression de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA} sont caractérisées par une redistribution des récepteurs AMPA au sein de la membrane synaptique via des processus d'exocytose et d'endocytose. Une réserve dynamique de récepteurs AMPA permettrait la mise en place rapide et efficace des changements dans la force des connexions synaptiques. La PLT_{NMDA} impliquerait ainsi une augmentation de l'expression post-synaptique des récepteurs AMPA alors que la DLT_{NMDA} serait médiée par leur endocytose (Lüscher et al., 1999, 2000 ; Lüscher and Frerking 2001 ; Malinow and Malenka, 2002 ; Nicoll, 2003 ; Collingridge et al., 2004 ; Kessels and Malinow, 2009). Par ailleurs, les travaux actuels favorisent l'idée que les processus d'endocytose et d'exocytose des récepteurs AMPA se feraient dans l'espace péri-synaptique grâce à des mécanismes de diffusion latérale (Figure 16).

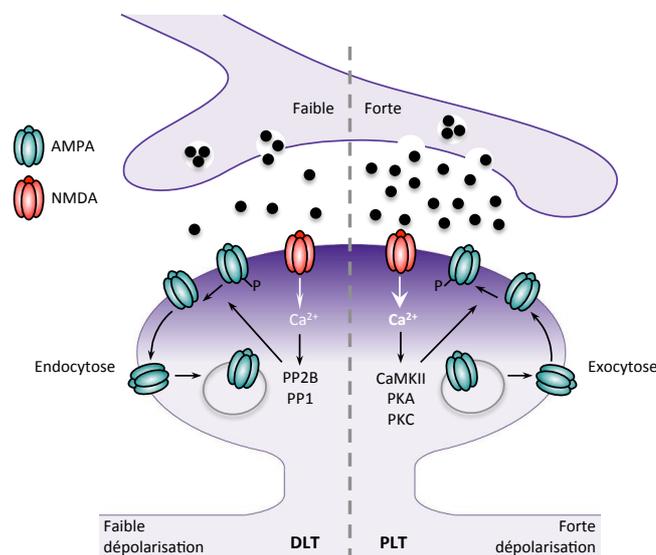


Figure 16 : Mécanismes d'expression post-synaptiques de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA}. La faible activité du neurone pré-synaptique conduit à une dépolarisation modeste du neurone post-synaptique et un faible influx calcique au travers des récepteurs NMDA. Cette cinétique calcique active préférentiellement des phosphatases conduisant à la déphosphorylation des récepteurs AMPA et à leur endocytose. En revanche, une intense activité pré-synaptique conduit à une forte dépolarisation du neurone post-synaptique conduisant à un fort influx calcique, à l'activation de kinases et à la phosphorylation et l'exocytose des récepteurs AMPA. Adapté de Lüscher and Malenka, 2012.

De nombreuses protéines associées aux récepteurs AMPA régulent non seulement leur insertion dans la membrane, leur mobilité (dont leur diffusion latérale) et leur stabilisation dans la densité post-synaptique, mais également leurs propriétés biophysiques (pour revue Sheng and Kim, 2012). Parmi elles, les plus connues sont les protéines transmembranaires de la famille TARP (« transmembrane AMPA receptor regulatory proteins ») telle que la stargazine. Le blocage de l'interaction des récepteurs AMPA avec ces protéines perturbe l'expression de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA} (Collingridge and Isaac, 2003).

Ainsi l'activation des neurones pré- et post-synaptiques permet l'activation des récepteurs NMDA et l'entrée de Ca^{2+} dans l'élément post-synaptique. Selon le profil du signal calcique, des récepteurs AMPA sont soit insérés, soit retirés de la synapse conduisant respectivement à une PLT_{NMDA} ou une DLT_{NMDA} . Mais quels sont les événements cellulaires intermédiaires permettant de lier l'entrée de Ca^{2+} à la redistribution des récepteurs AMPA ?

Concernant la PLT_{NMDA} , l'entrée de Ca^{2+} dans l'épine dendritique via les récepteurs NMDA va activer directement ou indirectement différentes protéines kinases dont la « calcium/calmodulin-dependent kinase II » ou CaMKII, dont le rôle dans la formation de la PLT_{NMDA} a été largement documenté (Lisman et al., 2002, 2012) (Figure 16). L'activation de CaMKII via les récepteurs NMDA conduit à la phosphorylation d'un certain nombre de protéines post-synaptiques dont les sous-unités des récepteurs AMPA. Ceci conduit à une augmentation de la conductance des récepteurs AMPA (Derkach et al., 1999 ; Benke et al., 1998) ainsi qu'à l'insertion de nouveaux récepteurs AMPA à la synapse (Ehlers, 2000) potentialisant la transmission synaptique. La PLT_{NMDA} fait également intervenir d'autres kinases telles que la protéine kinase A (PKA), la protéine kinase C (PKC), les « Mitogen-activated protein kinases » (MAPK) et des tyrosine kinases. Chacune de ces kinases est impliquée dans une ou plusieurs voies de signalisation (Malenka and Nicoll, 1999 ; Salter and kalia, 2004 ; Sweatt, 2004) participant à la plasticité synaptique.

Si la PLT_{NMDA} implique l'activation de protéines kinases, la DLT_{NMDA} implique surtout l'activation de protéines phosphatases (Figure 16). En effet, selon un élégant modèle proposé par John Lisman en 1989, la DLT_{NMDA} reposerait sur l'activation de la protéine phosphatase calcineurine (activée par le complexe Ca^{2+} /calmoduline) et de la protéine phosphatase 1 (PP1) (Lisman 1989). Ce modèle repose sur la caractéristique clé de la calcineurine (PP2B) de posséder une plus grande affinité pour le complexe Ca^{2+} /calmoduline que la CaMKII. La calcineurine serait donc préférentiellement activée par l'augmentation faible du Ca^{2+} générée lors de la mise en place de la DLT_{NMDA} . L'activation de ces phosphatases va alors réduire l'état de phosphorylation des récepteurs AMPA durant la mise en place de la DLT_{NMDA} (Mulkey et al., 1993, 1994 ; Carroll et al., 2001)

diminuant leur conductance et leur adressage à la membrane. De même que pour la PLT_{NMDA} , de multiples voies de signalisation intracellulaires sous-tendant la DLT_{NMDA} ont également été mis en évidence (Li et al., 2010).

Comme mentionné précédemment, les récepteurs AMPA sont solidement ancrés dans la DPS grâce à un grand nombre de protéines d'échafaudage associées aux éléments du cytosquelette tel que l'actine. L'insertion ou l'endocytose de nouveaux récepteurs dans la membrane plasmique affecte par conséquent l'ultrastructure des épines dendritiques si bien que les synapses récemment potentialisées ou déprimées s'élargissent ou se réduisent, respectivement (Matsuzaki et al., 2004 ; Harvey and Svoboda, 2007 ; Holtmaat and Svoboda 2009 ; Kasai et al. 2010). D'autre part, la PLT_{NMDA} est aussi corrélée à la formation de nouvelles épines dendritiques, *de novo* ou par division d'épines préexistantes (Toni et al., 1999 ; LeDoux and Lamprecht, 2004 ; Bailey et al., 2015), et à une réduction de leur renouvellement (De Roo et al., 2008). A l'inverse, la DLT_{NMDA} est associée à une réduction de la densité dendritique (Nägerl et al., 2004 ; Zhou et al., 2004 ; Wang et al., 2007 ; Kasai et al., 2010). Ces observations soulèvent la question de l'interdépendance des mécanismes sous-tendant les composantes fonctionnelle et structurale de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA} , un sujet qui est actuellement fortement exploré.

(3) Mécanismes tardifs de maintenance de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA}

Ainsi, l'expression de la PLT_{NMDA} et de la DLT_{NMDA} requière des changements fonctionnels et structuraux importants, changements qui ne peuvent se maintenir dans le temps que grâce à la synthèse de nouvelles protéines. La PKA, la CaMKIV, la protéine kinase M- ζ , la kinase ERK (extracellular signal-regulated kinase), pour ne citer que les principales, initient la synthèse protéique soit localement dans les dendrites à partir d'ARNm déjà synthétisés ou soit en activant une transcription au niveau nucléaire (Alberini and Kandel, 2015). Cette dernière implique entre autre la phosphorylation du facteur de transcription CREB (cAMP response element-binding protein) (Abel et al., 1997). La traduction des ARNm dendritiques requis notamment pour la polymérisation de l'actine nécessaire à l'élargissement des épines serait orchestrée par la protéine Arc (activity-regulated cytoskeleton-associated protein) (Bramham et al., 2010).

Le fait que la phase tardive de la PLT_{NMDA} implique une expression génique au niveau du noyau cellulaire, lequel est partagé par toutes les synapses du neurone soulève la question de savoir comment les protéines néosynthétisées sont adressées de manière spécifique au sous-ensemble de synapses préalablement activées et modifiées durant la phase précoce de la PLT_{NMDA} . En 1997, Frey

et Morris ont tenté de répondre à cette question en proposant qu'une partie des changements synaptiques s'opérant durant les premières étapes de la plasticité constitueraient un étiquetage, ou « tag ». La présence de cet étiquetage synaptique permettrait à ces synapses « étiquetées » de capturer les protéines synthétisées dans le soma afin de stabiliser les changements synaptiques initiaux (Frey and Morris, 1997).

Pour résumer, les mécanismes sous-tendant la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} sont aujourd'hui compris avec assez de détails. Grâce à la coordination de changements fonctionnels (tel que la redistribution des récepteurs AMPA) et structuraux (tel que l'élargissement des épines dendritiques), la réorganisation des réseaux neuronaux peut être maintenue sur de longues périodes. Mais combien de temps ?

c) Durée de la PLT et mise en perspective dans le cadre de la consolidation systémique

La PLT présente plusieurs propriétés compatibles avec la formation et le stockage des souvenirs de type associatifs. Ainsi, sa rapidité d'induction et sa persistance ont notamment conduit à considérer la PLT comme un mécanisme probable de stockage des souvenirs. Mais combien de temps peut-elle réellement persister pour assurer leur stockage à long terme ?

Comme nous l'avons vu, la PLT_{NMDA} peut être divisée en deux principales étapes : la PLT précoce reposant sur des modifications post-traductionnelles et ne durant que quelques heures (généralement 2-3 heures) ; suivit de la PLT tardive nécessitant une synthèse protéique et pouvant durer plusieurs jours (Abraham and Otani, 1991 ; Nguyen et al., 1994). En plus de ces deux grandes phases, la PLT tardive peut être à son tour divisée en deux grandes familles se distinguant par leur persistance dans le temps, 3-4 jours pour la première, environ 25 jours pour la seconde (pour revue Abraham, 2003). Ainsi, paradoxalement à sa propre dénomination, dans la plupart des conditions expérimentales, la PLT_{NMDA} ne se maintient pas au-delà de quelques jours, bien qu'elle puisse plus rarement persister plusieurs semaines selon le type de protocole utilisé et la région cérébrale étudiée (Staubli and Lynch, 1987 ; Barnes 1979 ; Racine et al., 1983 ; Barnes and McNaughton 1985 ; Staubli and Lynch, 1987 ; Jeffery et al., 1990 ; Abraham et al., 1993 ; Bliss and Gardner-Medwin, 1973). Ainsi l'instabilité de la PLT dans le temps est peu compatible avec l'idée que des changements synaptiques de cette nature soient responsables du stockage des traces mnésiques sur de longues périodes de temps, voire durant toute une vie.

Bien que le circuit hippocampique constitue un modèle de choix pour l'étude de la PLT_{NMDA} , il est probable que sa persistance varie d'une région cérébrale à une autre. Selon le modèle standard de la consolidation systémique, l'HPC serait impliqué dans le stockage temporaire des souvenirs déclaratifs jusqu'à ce que les réseaux corticaux soient suffisamment élaborés et stables pour assurer leur stockage et leur rappel à long terme sans son assistance (McClelland et al., 1995). Ainsi, en accord avec les observations effectuées à l'échelle systémique, il a été proposé par plusieurs modèles computationnels que la PLT_{NMDA} hippocampique serait relativement transitoire, supprimée rapidement afin que le circuit hippocampique puisse encoder de nouvelles informations avec plus d'efficacité (Abraham, 2003). Il est vrai que le caractère altérable de la PLT_{NMDA} hippocampique peut apparaître séduisant s'il on considère la dynamique avec laquelle la consolidation cellulaire initiale et la consolidation systémique s'opèrent suite à l'apprentissage. En effet, la perte progressive de la PLT_{NMDA} hippocampique induite suite à l'apprentissage reste compatible avec l'observation d'un désengagement hippocampique au bénéfice du néocortex au cours de la consolidation systémique.

Par contraste, il a été suggéré que la PLT_{NMDA} dans le néocortex serait plus stable, plus résistante à différentes interférences afin de garantir le stockage mnésique à long terme (McClelland et al., 1995 ; Rolls, 1996). Ainsi, une question centrale dans le contexte de la consolidation systémique est de comprendre combien de temps la PLT_{NMDA} corticale reste stable. Malheureusement, très peu de résultats ont été avancés quant à la persistance de la PLT_{NMDA} en dehors de l'HPC pour pouvoir confirmer la prédiction avancée. Racine et al. démontrent néanmoins que l'induction de la PLT_{NMDA} dans le cortex sensorimoteur requiert plusieurs épisodes de stimulation délivrés sur plusieurs jours consécutifs (Racine et al., 1995). Cette PLT_{NMDA} , une fois installée, se maintient plusieurs semaines. Une étude plus récente suggère aussi que la PLT_{NMDA} corticale se mettrait en place plus lentement que la PLT_{NMDA} hippocampique mais serait plus durable (Cooke and Bear, 2010). Ces résultats sont cohérents avec l'idée que le cortex est un « slow learner », demandant plus de temps pour induire des changements synaptiques durables (Marr 1971 ; McClelland et al., 1995).

Cette hypothèse interroge aussi sur la durée pendant laquelle « l'index hippocampique » détenteur des adresses corticales peut être maintenu grâce à la consolidation synaptique (très probablement médiée par la PLT_{NMDA} dans l'HPC) afin que le dialogue hippocampo-cortical s'opère correctement durant la consolidation systémique. Dès le début des années 1990, cette problématique a été explorée et rapidement de nombreux travaux ont apporté la démonstration que certains neuromodulateurs, en particulier la dopamine, jouent un rôle important dans la persistance de la PLT_{NMDA} au niveau hippocampique (O'Carroll and Morris, 2004 ; Lemon et al., 2006 ; O'Carroll et al., 2006 ; Rossato et al., 2009 ; Bethus et al., 2010). L'activation des récepteurs dopaminergiques

permettrait d'améliorer la persistance de la PLT_{NMDA} en augmentant la synthèse protéique au niveau somatique et dendritique (Smith et al., 2005 ; Granado et al., 2008). Ainsi, la consolidation synaptique au niveau de l'HPC dans les quelques heures qui suivent l'apprentissage ne dépendrait pas seulement de processus cellulaires intra-hippocampiques, mais dépendrait également d'autres acteurs à l'échelle systémique, tels que le système dopaminergique via les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale se projetant sur l'HPC (Lisman et al., 2005, 2011).

3. Implication de la plasticité synaptique hebbienne dans les processus mnésiques

Comme nous l'avons vu, l'idée que la plasticité synaptique induit par l'apprentissage au sein de divers réseaux neuronaux pourrait être un mécanisme cellulaire nécessaire et suffisant à l'encodage et au stockage des traces mnésiques n'est pas une question récente mais reste une hypothèse centrale en Neurosciences. Les premiers postulats théoriques énoncés successivement par Ramòn y Cajal (Jones, 1994), Konorski (Konorski, 1948) et Hebb (Hebb, 1949) ont été suivis par les premières évidences expérimentales apportées entre autres par les études menées par Eric Kandel sur les processus d'habituation et de sensibilisation chez l'aplysie (Kandel, 2001), puis par la découverte de la PLT chez les mammifères (Bliss and Lomo, 1973).

La PLT (et la DLT) présente en effet trois caractéristiques pertinentes pour le stockage mnésique comme formulé par Hebb (1949) : « spécificité », « coopérativité » et « associativité ». La PLT est spécifique puisque seules les synapses activées subissent une potentialisation (les synapses voisines non actives ne sont pas potentialisées). La PLT est coopérative puisque plusieurs éléments pré-synaptiques peuvent contribuer simultanément à induire la dépolarisation du neurone post-synaptique pour induire cette PLT. Enfin, la PLT est associative puisque seules les synapses dont les éléments pré- et post-synaptiques sont simultanément activés subissent une potentialisation. Ainsi, le groupe de synapses actives de manière coordonnée et participant ensemble à la décharge d'un neurone post-synaptique donné serait renforcé, fournissant un possible mécanisme pour lier les assemblées de neurones recrutés pour encoder les différentes composantes d'un événement et ainsi faire émerger un souvenir cohérent de cet événement. Ces caractéristiques se justifieraient en grande partie par les propriétés des récepteurs NMDA, dont l'activation est essentielle à l'induction de cette forme hebbienne de plasticité synaptique. Cependant le fait que la PLT présente des caractéristiques en relation avec les processus mnésiques ne prouve pas pour autant qu'elle intervient réellement dans le stockage mnésique dans les conditions *in vivo*.

En 2000, S.J. Martin, P.D. Grimwood et R.G. Morris proposèrent une évaluation rigoureuse de cette hypothèse sur la base de quatre critères reportés ci-dessous :

- **Corrélation** : Si l'animal exprime la mémoire d'un événement ou d'une expérience passée, des changements dans la force des connexions synaptiques devrait être détectés dans au moins une région du SNC.
- **Altération antérograde** : Des manipulations (physiologiques, pharmacologiques, génétiques,...) qui modulent l'induction des changements synaptiques avant ou durant l'apprentissage d'un événement devraient bloquer ou améliorer la formation de la mémoire de cet événement.
- **Altération rétrograde** : Des manipulations qui altèrent les changements synaptiques induits par l'apprentissage antérieur d'un événement devraient perturber la mémoire de cet événement.
- **Imitation** : Si la mémoire repose sur des changements synaptiques au sein d'un réseau neuronal spécifique, la création artificielle de changements synaptiques similaires au sein d'un tel réseau devrait conduire à la création d'une « mémoire artificielle » d'un événement passé inexistant ou non soumis à un apprentissage. Ce dernier critère n'a pas encore été réellement atteint malgré quelques tentatives récentes (cf Johansen et al., 2010 ; Choi et al., 2011 ; Garner et al., 2012 ; Ramirez et al., 2013 ; Kwon et al., 2014 ; Ohkawa et al., 2015).

Au cours des 15 dernières années, grâce au développement de nouveaux outils innovants (notamment moléculaires, génétiques, électrophysiologique, optogénétiques et d'imagerie cellulaire), de nombreuses études tendent à démontrer que les changements dans la force des connexions synaptiques est un mécanisme majeur par lequel la mémoire est encodée et stockée dans le cerveau.

a) Corrélation

Les preuves d'une corrélation entre mémoire et PLT/DLT ont été difficiles à apporter pour deux raisons principales. Premièrement, il est admis que les changements synaptiques inhérents aux processus mnésiques s'opèrent sur un ensemble distribué de synapses plus ou moins vaste, rendant difficile la détection de ces synapses au sein d'un « océan » d'autres synapses non modifiées. Deuxièmement, nous savons maintenant (*a posteriori*) que la consolidation mnésique peut faire intervenir de manière concomitante PLT et DLT potentiellement au sein d'un même réseau synaptique (Bear, 1996). Par conséquent, ces deux mécanismes opposés pourraient s'annuler l'un l'autre quand on cherche à détecter des changements synaptiques à l'échelle d'une population neuronale (si on mesure des potentiels de champs par exemple).

Ainsi, afin de contourner ces principales contraintes, Whitlock et al. (2006) ont combiné chez le rat une tâche d'évitement passif (EP) à des enregistrements *in vivo* de potentiels de champs excitateurs (fEPSP) via un système de multi-électrodes implantées dans le champs CA1 de l'HPC. Ils démontrent qu'un apprentissage en un seul essai de l'EP produit une augmentation de l'amplitude des fEPSP dans CA1. Cette amélioration de la transmission synaptique est restreinte à seulement une partie des sites d'enregistrement, ce qui a permis de renforcer l'idée que la trace mnésique est portée par un sous-ensemble distribué de neurones associés en réseaux. De plus, la PLT induite par stimulation haute fréquence est altérée uniquement au niveau des électrodes ayant précédemment enregistrées une potentialisation des fEPSP suite à l'EP, révélant une occlusion de la PLT induite par stimulation haute fréquence par la potentialisation synaptique d'ores et déjà induite par l'apprentissage. Ces résultats ont ainsi permis de conclure que l'apprentissage de l'EP induit une PLT dans la région CA1 (Whitlock et al., 2006).

Au-delà de l'EP, la PLT a pu être observée au sein de différentes régions corticales ou sous-corticales suite à d'autres tâches comportementales telles qu'un apprentissage moteur (Rioult-Pedotti et al., 2000), le conditionnement de clignotement des paupières (Gruart et al., 2006), le test de reconnaissance du nouvel objet (Clarke et al., 2010) ou le conditionnement de peur au son (Rogan et al., 1997) ou au contexte (Sacchetti et al., 2002). Dans le cadre des études utilisant comme apprentissage un conditionnement de peur au son, il est intéressant de noter qu'un son fortement prédictif du choc électrique conduit à la potentialisation des synapses thalamo-amygdaliennes. A l'inverse, lorsque le son prédit une période durant laquelle l'animal est protégé du choc électrique, ces mêmes synapses expriment une DLT (Rogan et al., 2005). Ces résultats démontrent que « l'apprentissage de la peur » et « l'apprentissage de la sécurité » impliquent des changements opposés dans la force des connexions synaptiques.

Par ailleurs, la détection de marqueurs moléculaires ou structuraux associés à la PLT ou la DLT a aussi constitué une bonne méthode pour déterminer si l'apprentissage peut induire la PLT/HLT. Comme mentionné précédemment, l'insertion de récepteurs AMPA dans la membrane post-synaptique est un des événements majeurs caractérisant la mise en place de la PLT_{NMDA} (Bredt and Nicoll, 2003 ; Kessels and Malinow, 2009). Ainsi, Whitlock et al. démontrent que l'apprentissage de l'EP conduit à une augmentation de l'expression synaptique et de l'état de phosphorylation des récepteurs AMPA, dans des proportions similaires à celles observées suite à induction de la PLT_{NMDA} par stimulation haute fréquence (Whitlock et al., 2006).

Utilisant un vecteur viral permettant l'expression de la sous-unité GluA1 fusionnée à la GFP (Green fluorescent protein) dans l'amygdale de jeunes rats, Rumpel et al. démontrent que le conditionnement de peur au son conduit à l'incorporation synaptique de nouveaux récepteurs AMPA

au sein des neurones post-synaptiques de l'amygdale latérale. De façon similaire à la PLT_{NMDA} , ce trafic de récepteurs AMPA induit par l'apprentissage n'est pas un phénomène observé sur l'ensemble du neurone mais est restreint à un sous-ensemble de synapses (Rumpel et al., 2005).

Afin de déterminer si ce mécanisme est aussi valable dans le cerveau adulte, Matsuo et al. ont développé des souris transgéniques afin de visualiser de manière élégante la dynamique des récepteurs AMPA nouvellement synthétisés dans l'HPC dorsal suite à un conditionnement de peur au contexte (Matsuo et al., 2008). Les auteurs démontrent que ce conditionnement induit un recrutement des récepteurs GFP-GluA1 au sein des épines dendritiques des neurones de la région CA1 24h après l'apprentissage. Ce changement est cependant transitoire puisqu'il retourne à un niveau basal dans les 72h suivant l'apprentissage (ce qui pourrait s'expliquer selon les auteurs par un changement dans la composition synaptique en sous-unités AMPA, notamment par remplacement des sous-unités GluA1 par des sous-unités GluA2/GluA3 (cf McCormack et al., 2006)).

b) Altération antérograde

Pendant quelques années, la question du lien entre plasticité et mémoire chez les mammifères s'est essentiellement limitée à une approche corrélative en raison du manque de solutions méthodologiques (Barnes and McNaughton, 1985). La mise au point de nouveaux outils innovants a alors permis d'explorer la relation de causalité entre plasticité synaptique et mémoire. L'approche utilisée dans les travaux décrits ci-dessous est toujours la même. Elle consiste à appliquer un traitement (physiologique, pharmacologique, génétique,...) connu pour influencer l'induction ou l'expression de la plasticité synaptique et à observer les effets de ce traitement sur la formation et le stockage de la mémoire.

Les premiers résultats marquants ont été apportés par Richard Morris et ses collègues de l'Université de Edimbourg. En utilisant son célèbre labyrinthe aquatique, couplé à l'injection intraventriculaire d'un antagoniste des récepteurs NMDA (l'AP-5), ils montrent que l'inactivation de ces récepteurs bloque l'induction de la PLT_{NMDA} . De façon corrélative, les animaux parviennent à réussir la version non spatiale du test dans laquelle la plateforme est signalée (une tâche indépendante de l'HPC) mais ils échouent dans la version spatiale dans laquelle l'emplacement de la plateforme n'est pas signalé (Morris et al., 1986). Dans cette étude, l'altération de la PLT_{NMDA} est donc associée à une altération de la mémoire spatiale. De façon similaire, le blocage pharmacologique des récepteurs NMDA semble altérer la stabilité des champs récepteurs des cellules de lieu hippocampiques (Kentros et al., 1998). Ces résultats ont ainsi été parmi les premiers à

fournir un lien de causalité entre l'activation des récepteurs NMDA, la PLT, la stabilité des champs récepteurs et la mémoire spatiale à long terme. Ce travail a été suivi par tout un ensemble d'autres études pharmacologiques utilisant différents paradigmes comportementaux et révélant que l'inactivation des récepteurs NMDA par l'AP-5 affecte l'induction de la PLT_{NMDA} avec un effet dose-réponse similaire aux déficits mnésiques observés (Morris, 2013).

Cependant, la corrélation entre PLT_{NMDA} et processus mnésiques n'a pas toujours fait l'objet d'une démonstration évidente. En effet plusieurs études indiquent que les récepteurs NMDA ne seraient pas nécessaires pour la formation d'une nouvelle mémoire et suggèrent que les mécanismes de plasticité des synapses hippocampiques sont dynamiques et peuvent être modifiés par des expériences comportementales antérieures. Une série d'expériences a par exemple étudié l'impact de l'AP-5 sur l'acquisition d'une tâche spatiale en piscine de Morris suite à la préexposition des animaux à la version spatiale de ce paradigme. Les résultats ont révélé que l'acquisition de nouvelles informations spatiales se met en place normalement alors même que les récepteurs NMDA sont inactivés par l'AP-5 (Saucier and Cain, 1995 ; Bannerman et al., 1995 ; Saucier et al., 1996 ; Inglis et al., 2013). Le même phénomène a été observé lors d'un conditionnement de peur au contexte au cours duquel la réponse conditionnée a été acquise dans un nouveau contexte en l'absence d'activation des récepteurs NMDA hippocampique chez des rats précédemment entraînés dans ce même paradigme comportemental (Sanders and Fanselow, 2003 ; Hardt et al., 2009 ; Wiltgen et al., 2010).

Ces résultats contredisent donc l'idée que la plasticité synaptique dépendante des récepteurs NMDA est toujours nécessaire à la formation de la mémoire et de nombreuses interprétations à l'appui de ces résultats ont été proposées. L'une d'entre-elles est que la plupart des tâches mnésiques présentent des éléments déclaratifs (et même procéduraux) en commun à d'autres tâches de la même nature. Le caractère généralisable de ces composants pourrait permettre de faciliter l'apprentissage d'une tâche en présence d'une plasticité synaptique partiellement défaillante ou indépendante des récepteurs NMDA si l'animal a déjà été exposé à des éléments de cette tâche lors d'un précédent apprentissage (Tayler et al., 2011).

A la fin des années 1990, la mise au point de nouvelles techniques de transgénèse a permis l'apport de résultats majeurs laissés inaccessibles par l'utilisation des méthodes pharmacologiques classiques. La création de souris « Knockout » (KO) pour différentes sous-unités NMDA a rapidement constitué une des principales stratégies pour renforcer la démonstration d'un lien de causalité entre plasticité synaptique et mémoire.

La première étude concluante a utilisé des souris KO pour la sous-unité GluN2A (Sakimura et al., 1995). Ces souris présentent un déficit de PLT hippocampique couplé à un déficit de mémoire spatiale en piscine de Morris, bien que ces résultats n'aient pas été répliqués par la suite (Bannerman et al., 2008). Durant la même période, l'équipe de Susumu Tonegawa du *Massachusetts Institute of Technology* a été à l'origine d'une avancée majeure dans la technique d'inactivation de gènes cibles. En utilisant la technologie Cre-Lox, cette équipe a développé les premières souris KO dont la suppression du gène codant pour la sous-unité GluN1 des récepteurs NMDA est inducible chez l'adulte et spécifiquement limitée aux cellules pyramidales de la région CA1 de l'HPC (Tsien et al., 1996a). Le caractère conditionnel de ces souris KO présentait l'énorme avantage d'exclure la possibilité que les déficits de plasticité et de mémoire spatiale observés chez les animaux adultes résultent d'anomalies développementales. Ces souris présentaient un déficit prononcé de la potentialisation à court terme, de la PLT et de la DLT dans la région CA1, accompagné de champs récepteurs anormaux (McHugh et al., 1996) dans cette même région ainsi que d'un déficit de mémoire spatiale testée en piscine de Morris (Tsien et al., 1996b ; Huerta et al., 2000). Ces résultats ont apporté la preuve que les récepteurs NMDA et la PLT_{NMDA} dans la région CA1 sont essentiels à la formation d'une mémoire spatiale. De façon intéressante, ces souris KO conditionnelles pour la sous-unité GluN1 ne présentaient pas d'altération significative du nombre d'épines dendritique ou de leur forme (Rampon et al., 2000) révélant une absence de perte de synapses. Par ailleurs Rampon et al. démontrent également que ces souris KO présentent un déficit mnésique sévère dans trois autres tâches hippocampo-dépendantes mais non spatiales : dans un test de reconnaissance du nouvel objet, un test de TSPA et un test de conditionnement de peur au contexte.

En complément des études utilisant des souris KO pour les récepteurs au glutamate, un grand nombre de lignées transgéniques portant des mutations de gènes codant pour une grande diversité de protéines participant à la machinerie post-synaptique ou diverses voies de signalisation intracellulaire a été créé. La liste actuelle des gènes mutés inclue ceux codant pour des protéines d'échafaudage de la densité post-synaptique dont les protéines MAGUK (membrane associated guanylate kinases) comme la PSD-95 (Xu, 2011), des protéines kinases et phosphatases (Mansuy and Shenolikar, 2006 ; Peng et al., 2010 ; Lisman et al., 2012), des protéines motrices (Yin et al., 2011, 2012), des régulateurs épigénétiques (Day and Sweatt, 2011), des régulateurs traductionnels (Costa-Mattioli et al., 2009), et des gènes de réponse précoce tels que Arc ou c-fos (Loebrich and Nedivi, 2009). La délétion de ces gènes conduit dans la grande majorité des cas à un déficit de plasticité synaptique, lui-même associé dans la plupart des cas à un déficit mnésique. Cependant ce constat n'est pas systématique (voir par exemple Migaud et al., 1998) et la corrélation entre plasticité

synaptique et processus mnésique est un sujet d'investigation complexe qui ne peut être caricaturé par la simple question PLT=mémoire ? (Stevens, 1998).

c) Altération rétrograde

L'altération des changements synaptiques mis en place durant la consolidation mnésique devrait interférer avec la rétention de souvenirs anciens. Bien que la PLT puisse persister durant de longues périodes (Abraham et al., 2002), les mécanismes sous-tendant sa maintenance restent peu connus.

La phosphorylation récurrente de la protéine kinase Mzeta (PKM ζ), une isoforme atypique de la PKC, s'est révélée être nécessaire et suffisante pour la maintenance de la PLT et de la mémoire à long terme (pour revue Sacktor, 2011). Inhiber l'activité de la PKM ζ grâce au peptide synthétique ZIP (zeta inhibitory peptide) réverse la PLT *in vitro* et *in vivo* (Ling et al., 2002 ; Pastalkova et al., 2006) et supprime les souvenirs acquis suite à une large diversité de paradigmes comportementaux incluant l'évitement actif (Pastalkova et al., 2006), le conditionnement d'aversion au goût (Shema et al., 2007), le conditionnement de peur et d'autres apprentissages spatiaux (Serrano et al., 2008). Afin de confirmer les résultats obtenus par inhibition pharmacologique de la PKM ζ par ZIP, deux équipes ont généré en parallèle des souris KO pour la PKM ζ . De façon inattendue, ces souris transgéniques présentaient une transmission synaptique et une PLT (dans CA1) non altérées et pas de déficit mnésique dans plusieurs tâches hippocampo-dépendantes (Volk et al., 2013 ; Lee et al., 2013). Plus surprenant encore, ces études ont démontré que ZIP réverse toujours la PLT chez les souris KO pour la PKM ζ , indiquant que les effets synaptiques et comportementaux prêtés à ZIP précédemment sont non-spécifiques ou indépendants de son action sur la PKM ζ . La PKM ζ ne serait donc pas nécessaire à la maintenance de la PLT hippocampique ni au stockage mnésique. Néanmoins, la surexpression de PKM ζ facilite la transmission synaptique en augmentant l'expression synaptique des récepteurs AMPA (Ling et al., 2002, 2006) et peut également améliorer les capacités de rétention mnésique (Shema et al., 2011). De plus, l'équipe de Karim Nader a également apporté des résultats pertinents en démontrant que la PKM ζ maintient la mémoire à long terme dans l'HPC de rats (Hardt et al., 2010) en régulant le trafic des récepteurs AMPA contenant la sous-unité GluA2 (Migues et al., 2010), la force de la mémoire acquise en test de reconnaissance spatiale d'objets étant corrélée positivement au niveau d'expression des sous-unités GluA2. Ceci témoigne que sous certaines conditions, la PKM ζ régulerait la maintenance de la plasticité synaptique et de la mémoire. De plus, quel que soit le mode d'action de ZIP, on ne peut ignorer le fait que sa capacité à reverser le renforcement des connexions synaptiques induit par l'apprentissage soit corrélé à la suppression des souvenirs encodés.

D'autres études pointent l'implication de la CaMKII dans les processus de maintenance de la PLT, en plus de son rôle largement connu dans l'induction de la PLT (Lisman et al., 2012 ; Redondo and Morris, 2011). Par exemple, Sanhueza et al. démontrent que bloquer l'interaction entre la CaMKII et les récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN2B grâce au peptide CN21 réverse la PLT hippocampique *in vitro* (Sanhueza et al., 2011). En accord avec le rôle du complexe récepteurs NMDA/CaMKII dans la maintenance de la PLT, bloquer la formation de ce complexe perturbe la consolidation mnésique d'informations spatiales (Zhou et al., 2007 ; Halt et al., 2012 ; Stein et al., 2014).

Parmi les autres mécanismes candidats agissant sur la maintenance de la PLT nécessaires au stockage mnésique, on peut également citer l'implication de CPEB3 (« cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 3 »), un régulateur de la synthèse locale de protéines et une protéine homologue de ApCPEB, une protéine de type prion impliquée dans la maintenance de la facilitation synaptique à long terme chez l'aplysie (Si et al., 2003). L'activité synaptique augmente la concentration locale de CPEB au niveau post-synaptique et place CPEB sous une forme activée et auto-entretenu favorisant la traduction durable des ARNm locaux. En 2011, Pavlopoulos et al. démontrent que CPEB3 est activée par Neuralized1, une ubiquitine ligase E3 (Pavlopoulos et al., 2011). La surexpression conditionnelle de Neuralized1 dans l'HPC conduit à une augmentation de l'expression synaptique des sous-unités GluA1 et GluA2 (sous-unités AMPA nécessaires aux processus de plasticité synaptique) et du nombre d'épines dendritiques, tous deux corrélés à une amélioration des capacités mnésiques. A l'inverse, l'inhibition de Neuralized1 réduit l'expression de GluA1 et GluA2 et bloque la maintenance de la PLT et de la mémoire.

Enfin, dans une étude récente, les auteurs révèlent qu'inhiber l'endocytose des récepteurs AMPA empêche le déclin de la PLT au cours du temps et prolonge la rétention de la mémoire. A l'inverse, restaurer l'endocytose de ces récepteurs affaiblit la PLT et conduit à l'oubli des souvenirs générés dans plusieurs tâche hippocampo-dépendantes (Dong et al., 2015).

Pour résumer, un grand nombre d'études suggère l'existence de plusieurs processus cellulaires participant à l'endocytose des récepteurs AMPA (notamment ceux contenant la sous-unité GluA2) et conduisant via ce mécanisme à la diminution de la PLT corrélée à un oubli de la mémoire à long terme (Hardt et al., 2013).

Plusieurs décennies après leur découverte, la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} restent des sujets de recherche majeurs des neurosciences modernes. Bien que leur rôle dans les processus mnésiques soit toujours l'objet d'un intense débat (Arshavsky, 2006 ; Gallistel and Matzel, 2013) l'accumulation

des connaissances actuelles révèle que leur contribution fonctionnelle conjointe est cruciale pour la création et le stockage de nouvelles traces mnésiques. Il est cependant nécessaire de garder à l'esprit qu'une forme de plasticité synaptique telle que la PLT_{NMDA} ne constitue certainement qu'une composante de la plasticité synaptique sous-tendant la formation et le stockage de la mémoire dans les différentes régions cérébrales. Selon certains modèles théoriques, seule la combinaison de plusieurs formes de plasticité, caractérisées par différents délais d'induction et de persistance, serait capable d'assurer le stockage à long terme de nos souvenirs (Fusi et al., 2005). Un challenge sera de déterminer comment ces diverses formes de plasticité coopèrent et interagissent pour permettre un stockage mnésique efficace.

4. Plasticité corticale au cours de la consolidation à long terme

Les études présentées précédemment ont apporté la preuve de principe que la plasticité synaptique et en particulier la PLT dépendante des récepteurs NMDA est un mécanisme cellulaire essentiel à la formation et au stockage temporaire de la mémoire. Cependant, bien que la plupart des conceptions soient favorables à l'existence d'un réseau distribué de neurones néocorticaux comme siège de l'organisation et du stockage permanent des traces mnésiques, peu d'études se sont intéressées aux mécanismes cellulaires corticaux susceptibles de participer à l'établissement d'une mémoire à long terme. Au cours de cette période, lorsque le dialogue hippocampo-cortical s'engage afin d'assurer la consolidation systémique de la mémoire, des changements à l'échelle synaptique dans les sites néocorticaux impliqués dans la mémoire à long terme devraient également pouvoir être observés. Le blocage de ces changements devrait interférer avec l'établissement d'une mémoire ancienne, sans nécessairement affecter le rappel de la mémoire récente pris en charge par l'HPC. Ainsi quelques études se sont centrées sur l'implication de la plasticité corticale dans la consolidation de la mémoire à long terme.

Frankland et collègues ont généré des souris hétérozygotes pour une mutation nulle de la $CaMKII\alpha$. Ces souris présentaient une altération spécifique de la PLT corticale, associée à une plasticité hippocampique tout à fait normale. Par ailleurs, elles manifestaient une bonne mémoire récente (1 à 3 jours) en piscine de Morris et suite à un conditionnement de peur au contexte. En revanche, leur mémoire était très altérée après des délais de rétention plus longs (de 10 à 50 jours post-acquisition) (Frankland et al., 2001). De même, des souris transgéniques dominantes-négatives PAK (p21-activating kinase), dont l'activité catalytique de PAK, un régulateur du remodelage de l'actine, est inhibée, présentent des déficits spécifiques de mémoire spatiale à long terme (21 jours)

en piscine de Morris, alors que l'acquisition et le rappel de l'information après un délai court (1 jour) sont intacts (Hayashi et al., 2004). Les déficits de consolidation à long terme de ces souris sont imputés à une déficience de la PLT corticale - mais non hippocampique - elle-même corrélée à des changements morphologiques spécifiques des neurones corticaux. Afin d'identifier les mécanismes participant à la réorganisation du réseau cortical supportant la mémoire ancienne, Takehara et collaborateurs (Takehara-Nishiuchi et al., 2006) se sont intéressés aux récepteurs NMDA du CPFm. Les auteurs ont ainsi montré que des injections chroniques de l'antagoniste AP-5 dans le CPFm durant les deux premières semaines après l'acquisition altèrent sévèrement la consolidation de la mémoire dans une tâche de conditionnement de clignement de la paupière chez le rat, alors que le blocage de ces récepteurs dans une période plus tardive (3 à 4 semaines après l'acquisition) n'avait aucun effet sur la consolidation. Ces résultats suggèrent donc que l'activation des récepteurs NMDA du CPFm durant les deux premières semaines post-acquisition est cruciale pour la maturation progressive de la mémoire à long terme (6 semaines après l'acquisition).

Ainsi, les données peu nombreuses sur la plasticité néocorticale indiquent 1) que les processus moléculaires sous-tendant l'établissement des traces mnésiques corticales partagent certains aspects avec ceux qui sous-tendent la plasticité synaptique hippocampique induite par l'expérience et 2) que la plasticité synaptique corticale est nécessaire à l'établissement d'une mémoire à long terme et ce dès l'achèvement du processus d'acquisition. Bien que Lesburguères et al. (2011) aient démontré que le processus précoce d'étiquetage cortical repose sur des mécanismes de plasticité corticale dépendants de l'activation des récepteurs NMDA, le rôle clé de la plasticité corticale semble apparaître tardivement (Frankland et al., 2001 ; Hayashi et al., 2004 ; Wiltgen et al., 2004), ce qui pourrait rendre compte de la lenteur des processus de stabilisation de la trace au niveau néocortical et de la nécessité de la contribution du système hippocampique durant la maturation du réseau cortical.

5. Implication de la réactivation des récepteurs NMDA durant la consolidation et le stockage mnésique

L'une des caractéristiques essentielles de la mémoire est sa persistance dans le temps. Comprendre les mécanismes via lesquels les traces mnésiques persistent au cours du temps malgré le turnover continu de leur substrat biologique est un problème central dans l'étude neurobiologique de la mémoire. Ce problème de persistance peut être illustré par la parabole philosophique du bateau de Thésée qui pose le problème de la préservation de l'identité à travers le temps (cf *Le*

Bateau de Thésée, Le problème de l'identité à travers le temps, Stéphane Ferret, Les Editions de Minuit, p. 17).

Malgré l'accumulation d'éléments convergents révélant que les récepteurs NMDA sont nécessaires à la formation de la mémoire (Riedel et al., 2003 ; Morris, 2013), leur implication dans la consolidation et le stockage mnésique durant les jours et les semaines qui suivent l'encodage, a été très peu étudiée (Wang et al., 2006). Ce manque d'investigation pourrait s'expliquer par l'idée reçue que l'activation des récepteurs NMDA est nécessaire à l'induction mais pas à la maintenance de la plasticité synaptique. Ainsi, pendant très longtemps, on a considéré que la formation et le stockage de la mémoire au niveau synaptique dépendait d'une cascade moléculaire unique suivant le schéma d'induction et d'expression de la PLT_{NMDA} décrit précédemment : activation des récepteurs NMDA, recrutement de kinases (CaMKII, PKA, ...), phosphorylation de CREB, expression génique, nouvelle synthèse protéique, et changements synaptiques fonctionnels et structuraux supportant le stockage mnésique à long terme. Ainsi, selon cette hypothèse, dès que la cascade moléculaire est initiée au niveau intracellulaire, les récepteurs NMDA ne seraient plus nécessaires. Alors que l'idée d'une cascade moléculaire unique est séduisante de par sa simplicité, plusieurs considérations révèlent que cette hypothèse est peu compatible avec la durée de la consolidation mnésique à l'échelle systémique dans le cerveau des mammifères. En effet, comme mentionné précédemment, la consolidation se déroule sur une échelle de temps, de plusieurs semaines chez les rongeurs (Anagnostaras et al., 1999 ; Kim and Fanselow, 1992), à plusieurs mois et même des années chez l'Homme (Squire et al., 1989 ; Haist et al., 2001), donc incompatibles avec la durée de la plupart des événements moléculaires (quelques heures, jours). Par ailleurs, l'hypothèse d'une cascade moléculaire unique ne prend pas non plus en compte l'existence du turnover métabolique des protéines synaptiques au cours du temps (Wang et al., 2006). En effet, la structure et la composition moléculaires des synapses ne sont pas fixes ; les récepteurs synaptiques et autres protéines sont fréquemment recyclés. Par exemple, Shimizu et al. (2000) ont démontré que les récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN1 dans la membrane synaptique sont dégradés 5 jours après leur synthèse dans le cerveau de souris. Ainsi, le turnover métabolique des protéines synaptiques interroge sur la capacité des synapses à maintenir leur fonction et leur stabilité pour garantir le stockage mnésique (Wittenberg and Tsien, 2002).

En 2002, Wittenberg and Tsien ont proposé un modèle théorique basé sur la réactivation des récepteurs NMDA hippocampiques et corticaux (Wittenberg and Tsien, 2002 ; Wittenberg et al., 2002). Ce modèle, décrit sous le terme de « synaptic reentry reinforcement (SRR) », postule que la consolidation mnésique nécessite plusieurs réactivations synaptiques successives afin de renforcer

les changements synaptiques dépendants des récepteurs NMDA de façon à empêcher une potentielle déstabilisation synaptique induite par le turnover métabolique des récepteurs synaptiques (Shimizu et al., 2000 ; Wittenberg and Tsien, 2002). Ainsi, les réactivations des voies intracellulaires de signalisation initiées par les réactivations concomitantes des récepteurs NMDA corticaux et hippocampiques seraient nécessaires à la consolidation des souvenirs à l'échelle systémique. Le modèle SSR pourrait décrire le mécanisme via lequel l'HPC orchestre la conversion des souvenirs récents en souvenirs durables et leur stabilisation au niveau cortical au cours des jours et des semaines suivant l'encodage. Durant cette période, l'HPC agirait comme un régénérateur de l'activité synaptique au niveau cortical. Par ce mécanisme, les neurones corticaux ayant précédemment encodés les différents paramètres d'un événement (autrement dit encodant la trace mnésique) seraient réactivés simultanément renforçant durablement leurs connexions, garantissant ainsi la stabilisation du souvenir au niveau du cortex. Dans leur modèle computationnel SRR, les auteurs ont testé la capacité du cortex à récupérer la trace mnésique en l'absence de signaux de réactivation hippocampique. Ils ont montré que l'inactivation virtuelle des récepteurs NMDA hippocampiques dans la période qui suit l'acquisition, empêche le renforcement des connexions cortico-corticales et la récupération de la trace mnésique. En revanche, au bout de plusieurs séquences de réactivation hippocampique, le blocage virtuel de l'activité des récepteurs NMDA dans l'HPC n'a aucun effet, indiquant que la trace corticale est suffisamment renforcée et donc consolidée.

Afin d'évaluer expérimentalement la nécessité d'une réactivation des récepteurs NMDA hippocampiques durant la consolidation mnésique, l'équipe de Joe Z. Tsien a développé des souris KO pour la sous-unité GluN1 des récepteurs NMDA. La délétion de ces sous-unités était inducible et réversible et spécifiquement limitée à la région CA1 de l'HPC (Shimizu et al., 2000). Ces auteurs ont ainsi démontré que la délétion des sous-unités GluN1 durant les deux premières semaines suite à un conditionnement de peur au contexte perturbait fortement la formation de la mémoire à long terme (testée 30 jours après le conditionnement). En revanche aucun déficit mnésique n'a été mesuré après délétion des sous-unités GluN1 durant la quatrième semaine post-apprentissage (Shimizu et al., 2000) appuyant l'idée d'un désengagement hippocampique au cours des trois premières semaines suivant l'apprentissage. Ainsi Shimizu et al. ont révélé, grâce à ces expériences, que la réactivation des récepteurs NMDA dans CA1 durant les premières semaines suivant l'apprentissage est nécessaire à la consolidation de la mémoire à long-terme.

Ainsi, Shimizu et al. ont contribué à valider expérimentalement le modèle SRR en se focalisant sur son versant hippocampique. Cependant, à ce jour, aucun résultat n'a pu être apporté quant à la nécessité d'une réactivation des récepteurs NMDA corticaux durant la consolidation

mnésique de la mémoire déclarative, bien que ces récepteurs soient connus pour jouer un rôle dans la plasticité neuronale de la voie hippocampo-préfrontale mise en jeu dans plusieurs processus mnésiques (Laroche et al., 2000). De plus, quelques résultats ont été apportés dans le cadre de l'étude de la consolidation mnésique de la mémoire non-déclarative dont le traitement s'opère indépendamment de l'HPC. Ainsi, Cui et al. ont étudié l'implication des récepteurs NMDA corticaux durant la consolidation mnésique de souvenirs non-déclaratifs générés dans une tâche de conditionnement aversif au goût chez des souris KO pour le gène codant les sous-unités GluN1 (Cui et al., 2005). Ils démontrent que la délétion inductible et réversible de ce gène au niveau cortical au moment du test de rétention (30 jours après l'apprentissage) n'altère pas le rappel de l'information suggérant que les récepteurs NMDA corticaux ne sont pas nécessaires au processus de rappel de l'information. En revanche la délétion du gène durant l'apprentissage ou durant toute la période de rétention induit un profond déficit mnésique. Ainsi, la consolidation de cette mémoire non-déclarative nécessiterait la réactivation des récepteurs NMDA corticaux (Cui et al., 2005), renforçant l'idée défendue par le modèle SRR.

Bien que la mémoire à long-terme soit connue pour mettre en jeu différentes étapes essentielles à son expression, la grande majorité des expériences se sont focalisées sur les mécanismes impliqués dans l'encodage et la consolidation mnésique. Probablement en raison de contraintes temporelles importantes, très peu d'études se sont intéressées aux mécanismes sous-tendant le stockage de la mémoire à long terme au niveau cortical (Wiltgen et al., 2004). Généralement, le stockage mnésique est considéré comme étant assuré par le maintien des changements synaptiques fonctionnels et structuraux induits par l'apprentissage initial. Cependant, la mise en évidence d'un turnover protéique au sein de la machinerie synaptique (Shimizu et al., 2000) soulève aussi la question épineuse de savoir comment notre cerveau préserve nos souvenirs au cours du temps. Pour tenter de répondre à cette question, Cui et al. (2004) ont conçu une série d'expériences dans lesquelles le gène codant les sous-unités GluN1 des récepteurs NMDA corticaux est temporairement inactivé six mois après l'apprentissage et durant un mois. Les résultats démontrent que la rétention de la mémoire testée neuf mois après un conditionnement de peur au contexte et au son est fortement altérée (Cui et al., 2004). Ainsi, il semble qu'un processus de SRR nécessitant l'engagement dynamique des récepteurs NMDA corticaux soit aussi nécessaire au stockage des traces mnésiques anciennes.

IV. Implication des récepteurs NMDA dans la métaplasticité : un mécanisme cellulaire de formation et de stockage de la mémoire ?

A. Généralités

Bien que d'autres modèles alternatifs existent (Abraham et Robins, 2005 ; Arsharsky, 2006), il est largement admis que la maintenance de la mémoire est intimement corrélée à la stabilité des changements dans la force des connexions synaptiques mis en place au cours des processus de plasticité synaptique hebbienne (comme la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA}) induits par l'apprentissage. Ceci est appuyé par la démonstration que les assemblées neuronales recrutées au moment de l'encodage pour stocker l'information sont en grande partie réactivées au moment du rappel et que le niveau de la performance mnésique est corrélé positivement au degré de réactivation du réseau neuronal (Reijmers et al., 2007 ; Tayler et al., 2013). Parce que la plasticité synaptique est elle-même finement régulée, comprendre ces mécanismes de régulation est essentiel pour améliorer nos connaissances de la neurobiologie de la mémoire.

Ainsi, la stabilisation des traces mnésiques au niveau cortical requiert certainement un équilibre subtil entre plasticité et stabilité des connexions synaptiques impliquées dans le stockage à long-terme des souvenirs. En effet, le réseau de neurones impliqué doit être suffisamment plastique pour permettre l'encodage d'un nouveau souvenir mais suffisamment stable pour permettre son maintien à long terme et limiter les risques d'interférence et d'oubli lors de l'encodage de futurs souvenirs. Ce paradoxe peut être illustré par l'image du « palimpseste » (Nadal et al., 1986 ; Amit and Fusi, 1994). Un palimpseste fait initialement référence à un parchemin manuscrit dont on a effacé la première écriture afin d'écrire un nouveau texte. Au Moyen Âge, la rareté et le coût élevé des parchemins rendit commun l'usage de ces palimpsestes. Plusieurs modèles computationnels ont été proposés pour résoudre ce paradoxe mais peu de résultats expérimentaux ont été fournis jusqu'à maintenant. Une solution potentielle pourrait résider dans la propriété des synapses à moduler durablement leur capacité à subir des processus de plasticité synaptique hebbienne en passant d'un « méta-état » plastique à un autre en réponse à des variations d'activité au sein des réseaux (Yeung et al., 2004 ; Fusi et al., 2005 ; Elliot and Lagogiannis, 2012). Ce mode de régulation de la plasticité synaptique est ainsi appelé métaplasticité (Abraham and Bear, 1996), autrement dit « la plasticité de la plasticité synaptique » (Philpot et al., 1999).

Les processus de métaplasticité constitueraient une sorte de rétrocontrôle négatif garant d'une certaine stabilité du réseau synaptique recruté. Ainsi, alors que les formes hebbiennes de plasticité synaptique sont reconnues comme un mécanisme de stockage de l'information, les mécanismes de métaplasticité, qui ajustent le seuil d'induction de ces formes hebbiennes de plasticité, ont été proposés comme participant à moduler la capacité de stockage des souvenirs (Fusi et al., 2005 ; Fusi and Abbott, 2007). Comme mentionné précédemment, la PLT_{NMDA} et la DLT_{NMDA} sont induites à la condition que la dépolarisation post-synaptique et le recrutement de certaines voies de signalisation intracellulaire dépassent un certain seuil. La manipulation de ces seuils par l'activité synaptique rend flexible les processus de plasticité synaptique et pourrait ainsi moduler les capacités d'apprentissage ainsi que la force et la persistance de la mémoire.

La métaplasticité est un processus complexe, encore mal compris, qui implique une large variété de mécanismes (Abraham, 2008). Cette complexité est amplifiée par l'existence d'une superposition de phénomènes agissant à différentes échelles, de la synapse à la cellule toute entière et s'opérant sur quelques millisecondes à plusieurs semaines. La multiplicité des mécanismes engagés rend complexe la compréhension de leur pertinence au niveau comportemental, autant que la conception de nouvelles expériences. Comprendre comment elle peut contribuer à la formation et au stockage à long terme de nos souvenirs constitue ainsi un challenge important et un cadre de recherche en pleine expansion. Les mécanismes de métaplasticité grâce auxquels les neurones modulent leur propriété plastique présentent en effet un intérêt majeur pour la compréhension des mécanismes synaptiques nécessaires à la consolidation systémique de la mémoire, et ce à 3 niveaux. Ils pourraient apporter un éclairage nouveau 1) sur la façon dont les réseaux de neurones corticaux sont sélectionnés dès l'encodage des nouveaux souvenirs (via les processus d'allocation neuronale ou synaptique), 2) comment la configuration des connexions synaptiques acquise au sein de ces réseaux durant la consolidation mnésique est stabilisée pour assurer leur stockage à long terme et 3) comment leur déstabilisation pourrait fournir une explication cellulaire au processus d'oubli. Au niveau synaptique, la mobilité des récepteurs NMDA jouerait un rôle central dans les processus de métaplasticité.

B. Allocation neuronale et synaptique

En quelques années, plusieurs études ont démontré que l'allocation d'un souvenir au sein d'un sous-ensemble de neurones (allocation neuronale) ou de synapses (allocation synaptique) composant un réseau neuronal n'est pas un phénomène aléatoire mais dépend de mécanismes

spécifiques déterminant avec précision les sites de stockage de nos souvenirs (Rogerson et al., 2014). Ainsi, le terme « allocation » fait ici référence au processus par lequel s'opère la sélection des neurones ou des synapses assurant le stockage d'un souvenir donné (Silva et al., 2009). Une compétition entre neurones et synapses pour intégrer une nouvelle trace mnésique apparaît ainsi cruciale à la mise en place d'un stockage mnésique efficace dans la mesure où il participe à une utilisation optimale de l'espace de stockage. Par exemple, certains modèles computationnels suggèrent l'existence d'une relation entre la taille de la trace mnésique et le quantité maximale de stockage : une représentation mnésique plus grande est probablement plus stable mais de l'espace de stockage peut être gaspillé ; en revanche, une représentation mnésique plus petite permet d'économiser de l'espace de stockage mais sera probablement plus labile (Quiroga et al., 2008 ; Olshausen et al., 2004).

Il est toutefois judicieux de faire une distinction entre allocation neuronale et allocation synaptique, bien que ces deux mécanismes s'opèrent probablement en parallèle durant l'encodage mnésique (l'allocation synaptique s'opérant sur les neurones préalablement sélectionnés).

1. Allocation neuronale

La plupart des études portant sur l'allocation neuronale ont utilisé l'amygdale comme modèle d'étude. L'amygdale joue un rôle important dans le stockage des souvenirs de peur (Maren and Fanselow, 1996). L'amygdale latérale (AL) est connue pour stocker l'association entre le stimulus conditionnel (SC - par exemple un son) et le stimulus inconditionnel (SI - par exemple un choc électrique) lors d'un conditionnement de peur (Maren and Fanselow, 1996). La majorité des neurones de l'AL sont activés par le SC ou le SI, cependant seulement une petite population de neurones encode l'association des deux stimuli (Rumpel et al., 2005 ; Reijmers et al., 2007). Le fait que seule une portion de neurones soit recrutée durant l'encodage suggère l'existence d'une compétition entre neurones dans le cerveau adulte, de la même façon qu'une compétition entre neurones est nécessaire pour affiner les circuits neuronaux au cours du développement (Won and Silva, 2008). Ainsi, certains mécanismes orchestrent l'allocation de la mémoire à des neurones spécifiques au sein de l'AL.

Des études ont démontré que des changements dans l'excitabilité neuronale induis par le facteur de transcription CREB modulent la probabilité qu'un neurone donné soit intégré dans un réseau pour stocker un souvenir spécifique (Won and Silva, 2008). Les premières études effectuées par l'équipe de Sheena Josselyn ont utilisé des vecteurs viraux pour moduler les niveaux d'expression de CREB au sein d'une sous-population de neurones de l'AL. Ainsi, surexprimer CREB dans un sous-ensemble de

neurones augmente la probabilité que ces neurones soient recrutés lors de l'encodage mnésique, alors que réduire le niveau d'expression de CREB a l'effet opposé (Han et al., 2007 ; Zhou et al., 2009 ; Han et al., 2009). Par ailleurs, différentes stratégies consistant à inactiver (Zhou et al., 2009) ou supprimer (Han et al., 2009) les neurones de l'AL surexprimant CREB conduisent à une amnésie rétrograde. Enfin Zhou et al. démontrent qu'après conditionnement de peur au son, les neurones de l'AL surexprimant CREB présentent un plus grand nombre de synapses potentialisées que les neurones non-transfectés, ce qui appuie l'idée que la mémoire est encodée par ces neurones via un renforcement des connexions synaptiques établies avec les autres neurones supportant la trace mnésique (Zhou et al., 2009). Il a été proposé que CREB modulerait l'allocation neuronale en influençant le niveau d'excitabilité neuronale (Zhou et al., 2009 ; Yiu et al., 2014) : des neurones surexprimant CREB sont plus excitables que leurs voisins et sont donc plus aptes à décharger en réponse à un stimulus donné. Par conséquent, ces neurones sont probablement plus plastiques et possèdent donc sûrement un avantage compétitif pour intégrer une nouvelle trace mnésique.

Etant donné que la majorité des mécanismes cellulaires sous-tendant les processus mnésiques sont communs à beaucoup de régions cérébrales, il est probable qu'il en soit de même pour les mécanismes d'allocation neuronale mis en évidence dans l'amygdale. Il a par exemple été démontré dans le cortex piriforme qu'augmenter le niveau d'excitabilité neuronale joue un rôle crucial dans l'allocation des assemblées neuronales lors de l'encodage mnésique (Choi et al., 2011). La stimulation optogénétique aléatoire d'une sous-population de neurones du cortex piriforme, appariée avec un stimulus aversif ou appétitif, est suffisante pour induire l'allocation de cette information (aversive ou appétitive) à ce sous-ensemble de neurones. Ceci suggère qu'augmenter la probabilité que les neurones déchargent durant l'encodage (dans ce cas par stimulation optogénétique) est suffisant pour influencer l'allocation de souvenirs appétitifs ou aversifs à une sous-population spécifique de neurones corticaux.

Ainsi, l'ensemble de ces études suggère qu'augmenter l'excitabilité neuronale (par surexpression de CREB par exemple) influence fortement l'allocation neuronale. Au-delà de CREB, d'autres mécanismes sont connus pour moduler l'excitabilité des neurones et donc probablement aussi l'allocation neuronale. De plus, il existe certainement d'autres stratégies (autre que l'augmentation de l'excitabilité neuronale) influençant le processus d'allocation.

2. Allocation synaptique

Comme pour l'allocation neuronale, l'allocation synaptique implique plusieurs mécanismes qui participent au stockage des souvenirs dans une sous-population spécifique de synapses. L'allocation synaptique peut être guidée par des mécanismes métaplastiques au sein des synapses précédemment activés (mécanisme homosynaptique) mais un certain nombre d'études met aussi en évidence que la potentialisation d'un sous-groupe de synapses peut influencer la capacité des synapses voisines à subir des modifications plastiques (mécanisme hétérosynaptique). Ce dernier phénomène fait notamment référence au mécanisme de « synaptic tagging and capture » (STC) (Frey and Morris, 1998 ; Redondo and Morris, 2011) (cf plus haut). Ainsi, l'allocation synaptique d'un souvenir à un ensemble de synapses pourrait influencer l'encodage des futurs souvenirs via un processus de type métaplastique (homosynaptique ou hétérosynaptique). Ces processus pourraient se révéler extrêmement importants à l'allocation synaptique lorsque la même population neuronale prend en charge l'encodage de plusieurs souvenirs et ainsi éviter certaines interférences.

3. Relation entre allocation neuronale et synaptique

Bien que les études sur l'allocation neuronale et synaptique aient toujours été menées séparément, de nombreuses évidences suggèrent qu'elles sont fortement interconnectées. Ainsi, allocations neuronale et synaptique fonctionnent probablement de concert pour construire les réseaux de neurones assurant le stockage mnésique au niveau cortical. Par exemple, l'activation de CREB par l'apprentissage augmente l'excitabilité des neurones et influence l'allocation neuronale. Il est possible que ces changements à l'échelle neuronale conduisent à des processus métaplastiques modulant en conséquence l'allocation synaptique des souvenirs (Losonczy et al., 2008).

Actuellement, peu d'études renseignent sur les cascades moléculaires par lesquelles CREB confère un avantage compétitif aux neurones en modulant leur excitabilité ou les capacités plastiques de leurs synapses. Au-delà d'une action supposée de CREB pour réduire l'expression des canaux potassiques voltage-dépendants KCNQ2 et KCNQ3 (Yiu et al., 2014), conduisant à une augmentation de l'excitabilité neuronale (par une inhibition des courants hyperpolarisants durant la période réfractaire suivant les potentiels d'action), CREB pourrait également augmenter les propriétés plastiques des épines dendritiques en favorisant l'expression des sous-unités GluN2B des récepteurs NMDA (Wong et al., 2002 ; Marie et al., 2005 ; Huang et al., 2009 ; Brown et al., 2011). Ces épines, très plastiques, pourraient ainsi constituer un substrat idéal pour l'allocation synaptique sous-tendant l'encodage de nouveaux souvenirs (Philpot and Zukin, 2010).

C. Les différentes sous-unités GluN2 modulent la fonction synaptique

Chaque récepteur NMDA se caractérise par sa composition en sous-unités conditionnant ses propriétés biophysiques et pharmacologiques, ses partenaires intracellulaires et sa localisation subcellulaire (Traynelis et al., 2010 ; Cull-Candy and Leszkiewicz, 2004 ; Paoletti, 2011). La composition synaptique en sous-unités diffère d'une région cérébrale à une autre et varie au cours du développement et de la vie adulte en réponse à des variations d'activité neuronale (Lau and Zukin, 2007 ; Paoletti et al., 2013). Comprendre l'implication fonctionnelle des différents sous-types de récepteurs NMDA pourrait permettre de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques contre différentes pathologies impliquant une dérégulation de la plasticité synaptique associée à des déficits mnésiques.

1. Impact des différentes sous-unités GluN2 sur les propriétés des récepteurs NMDA

a) Régions cérébrales d'expression

Les sous-unités GluN1 sont exprimées de façon ubiquitaire du stade embryonnaire E14 et durant toute la vie adulte (Watanabe et al., 1992 ; Monyer et al., 1994) bien qu'il existe des différences dans l'expression des différents variants d'épissages (Laurie and Seeburg, 1994). Les conséquences fonctionnelles des différents profils d'expression des isoformes GluN1 restent cependant à éclaircir.

Les quatre sous-unités GluN2 qui définissent en grande partie les propriétés fonctionnelles des récepteurs NMDA, présentent des profils d'expression spatio-temporels très différents (Monyer et al., 1994 ; Sheng et al., 1994) (Figure 17). Dans le cerveau embryonnaire, seules les sous-unités GluN2B et GluN2D sont exprimées. La première étant ubiquitaire, la deuxième restreinte au diencephale et au tronc cérébral. Le changement majeur dans l'expression des sous-unités GluN2 apparaît durant les deux premières semaines après la naissance. L'expression des sous-unités GluN2A débute dans les premiers jours post-natals pour devenir abondante et étendue à la plupart des régions cérébrales chez l'adulte. A l'inverse des sous-unités GluN2A, l'expression des sous-unités GluN2D diminue progressivement après P11 et s'avère très faible chez l'adulte. L'expression de GluN2B est maintenue élevée après la naissance (avec un pic d'expression la première semaine post-natale) mais devient progressivement restreinte au cortex, à l'HPC, à l'amygdale, au striatum et au bulbe olfactif chez l'adulte. Enfin, l'expression de GluN2C apparaît quant à elle à P10, principalement dans le cervelet et le bulbe olfactif.

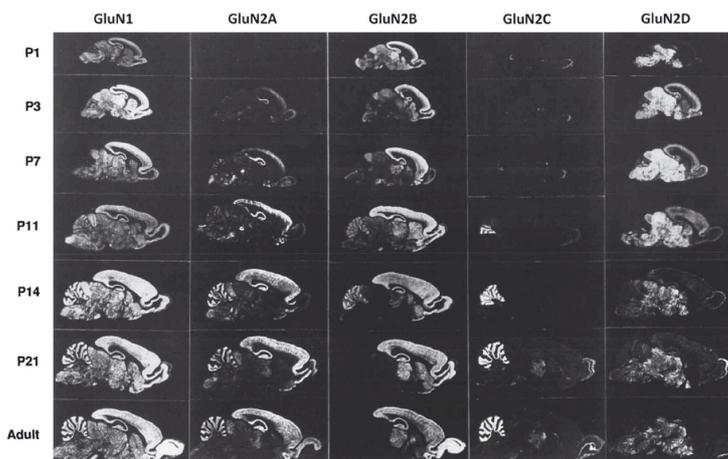


Figure 17 : Evolution de l'expression des ARNm (hybridations *in situ*) codant les sous-unités GluN1 et GluN2 (A-D) dans le cerveau de rats du premier jour post-natal (P1) jusqu'à l'âge adulte. D'après Laurie and Seeburg, 1994.

L'expression des sous-unités GluN2B et GluN2D durant le développement post-natal suggère fortement que ces sous-unités sont impliquées dans des processus neuro-développementaux tels que la synaptogénèse. Dans le cerveau adulte, et en particulier dans le cortex et l'HPC, GluN2A et GluN2B sont les sous-unités prédominantes (Monyer et al., 1994), suggérant leur implication fonctionnelle dans la régulation de la fonction synaptique et dans les processus de plasticité synaptique chez l'adulte.

b) Localisation cellulaire et subcellulaire

L'expression des sous-unités GluN2 est tout d'abord hétérogène selon l'identité des neurones. Par exemple, les gènes codant GluN2C et GluN2D sont exprimés par les interneurones hippocampiques et corticaux, mais très peu par les neurones principaux qui expriment majoritairement GluN2A et GluN2B (Paoletti, 2011). Par ailleurs, au niveau des synapses CA3-CA1, le niveau d'expression des sous-unités GluN2B diffère aussi entre l'hémisphère gauche et droit (Shinohara et al., 2008). La couche 5 du néocortex présente aussi une répartition hétérogène des sous-unités GluN2 puisque les afférences intracorticales expriment principalement GluN2B alors que les afférences interhémisphériques contiennent plus de GluN2A (Kumar and Huguenard, 2003).

L'expression des sous-unités GluN2 semble également varier en fonction de la localisation subcellulaire. Comme indiqué précédemment, les récepteurs NMDA sont principalement exprimés au niveau post-synaptique. Dans le cortex adulte, les formes di-hétéromériques GluN1/GluN2A, GluN1/GluN2B et tri-hétéromériques GluN1/GluN2A/GluN2B, sont les formes les plus abondantes

bien que le ratio synaptique GluN2A/GluN2B est très variable en fonction des synapses. En revanche, les compartiments péri-synaptiques et extra-synaptiques sont enrichis en sous-unités GluN2B (Tovar and Westbrook, 1999) bien que GluN2A ait aussi été retrouvée au niveau extra-synaptique (Hardingham and Bading, 2010 ; Gladding and Raymond, 2011) et que le ratio de ces deux sous-unités serait comparable dans les deux compartiments (Thomas et al., 2006). Ainsi, l'idée que GluN2A est une sous-unité synaptique alors que GluN2B est extra-synaptique n'est pas forcément à l'image de la réalité (Lopez de Armentia and Sah, 2003).

Les récepteurs NMDA synaptiques et extra-synaptiques sont couplés à différentes voies de signalisation intracellulaires (Ivanov et al., 2006 ; Hardingham and Bading, 2010) et pourraient ainsi induire différentes formes de plasticité synaptique bien que ce sujet reste controversé. L'activation des récepteurs NMDA extrasynaptiques a surtout été rapportée dans des situations pathologiques incluant l'excitotoxicité et /ou les désordres neuropsychiatriques (Hardingham et al., 2002).

Les récepteurs NMDA sont aussi exprimés au niveau pré-synaptique bien que leur rôle reste largement débattu (Corlew et al., 2008). Ils faciliteraient la libération de glutamate pour induire une forme particulière de DLT dans le cervelet et au niveau cortical (Corlew et al., 2008). Ces récepteurs pourraient être activés par le glutamate libéré par des fibres afférentes ou par des astrocytes au voisinage de la synapse (Corlew et al., 2008 ; Jourdain et al., 2007). La composition des récepteurs NMDA présynaptiques varie aussi d'une région à une autre et au cours de la vie. Dans le cerveau adulte, les synapses du cortex et de l'HPC contiennent principalement des récepteurs pré-synaptiques GluN1/GluN2B (Woodhall et al., 2001 ; Brasier and Feldman, 2008) alors que dans le cerveau juvénile, le cortex visuel contient essentiellement des récepteurs NMDA pré-synaptiques tri-hétéromériques contenant la sous-unité GluN3A (Larsen et al., 2011).

Enfin, l'expression hétérogène des sous-unités GluN2 dans le SNC est aussi complexifiée par leur présence dans les membranes des astrocytes et des oligodendrocytes (Henson et al., 2010 ; Burzomato et al., 2010).

c) Propriétés biophysiques

(1) Perméabilité et propriétés d'ouverture

Les récepteurs di-hétéromériques contenant les sous-unités GluN2A ou GluN2B sont caractérisés par une conductance élevée (d'environ 50 pS) accompagnée d'une grande sensibilité au Mg^{2+} à bloquer le canal (IC50 d'environ 15 μM à -70 mV) et d'une forte perméabilité calcique (pCa/pCs

d'environ 7,5) (Paoletti et al., 2013) (Figure 18). Par comparaison, les récepteurs di-hétéromériques contenant les sous-unités GluN2C ou GluN2D montrent une conductance plus faible (37 pS), une sensibilité au Mg^{2+} moins importante (IC_{50} de 80 μM) et une plus faible perméabilité calcique (p_{Ca}/p_{Cs} d'environ 4,5). L'ensemble de ces paramètres serait conditionné par un petit nombre d'acides aminés composant le segment transmembranaire M3 des sous-unités GluN2 (Siegler Retchless et al., 2012).

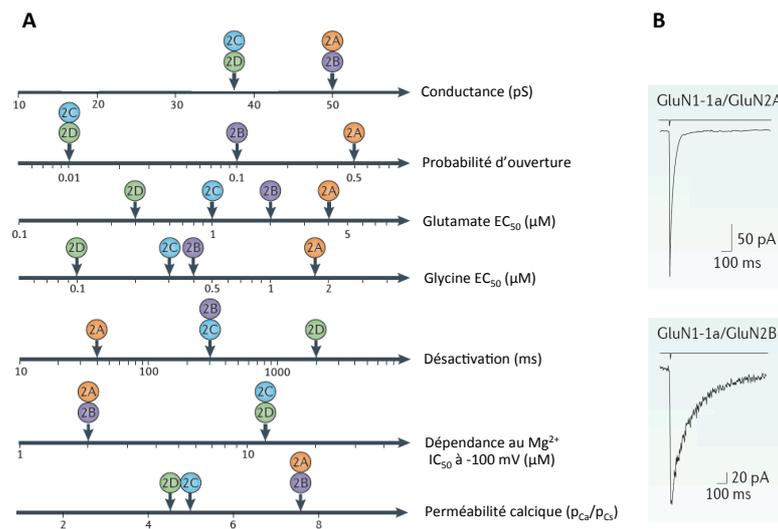


Figure 18 : La composition en sous-unités GluN2 détermine les propriétés du récepteur NMDA. (A) Perméabilité et propriétés d'ouverture du canal ionique. Valeurs données pour des formes di-hétéromériques GluN1-1a/GluN2. (B) Influence des sous-unités GluN2A et GluN2B sur la cinétique de désactivation du récepteur mesurée sur des cellules embryonnaires rénales humaines (HEK) suite à l'application brève (<5 ms) d'une concentration saturante de glutamate (1 mM). Les récepteurs contenant la sous-unité GluN2A se désactivent plus rapidement que ceux contenant la sous-unité GluN2B. D'après Paoletti et al., 2013.

Les récepteurs GluN1/GluN2A ont une probabilité d'ouverture supérieure aux récepteurs GluN1/GluN2B et même encore plus grande par rapport aux récepteurs contenant les sous-unités GluN2C ou GluN2D. En revanche les récepteurs GluN1/GluN2A présentent une moindre affinité pour le glutamate et la glycine par rapport aux autres sous-types. La vitesse de désactivation du récepteurs NMDA, laquelle gouverne la durée des courants post-synaptiques excitateurs, varie d'un facteur 50 entre sous-types (Vicini et al., 1998 ; Erreger et al., 2005 ; Prybylowski et al., 2002), les récepteurs GluN1/GluN2A ayant la plus rapide (40 ms) et GluN1/GluN2D la plus lente (2 s). Ces dernières propriétés seraient contrôlées par le domaine N-terminal des sous-unités GluN2 (Gielen et al., 2009). La vitesse de désactivation est aussi influencée par la nature des isoformes GluN1, les isoformes GluN1-b se désactivant plus vite que les GluN1-a (Rumbaugh et al., 2000).

Bien que le pic de courant médié par les récepteurs GluN1/GluN2B soit plus faible que celui dépendant des récepteurs GluN1/GluN2A, ces premiers transportent deux fois plus de charges par événements synaptiques que les seconds. Ceci s'explique par le fait que la vitesse de désactivation des récepteurs GluN1/GluN2B est suffisamment lente pour compenser leur plus faible probabilité d'ouverture (Erreger et al., 2005). Ainsi, l'influx calcique au travers des récepteurs contenant la sous-unité GluN2B serait plus importante bien que cette propriété soit toujours soumise à débat (Erreger et al., 2005).

Contrairement aux récepteurs NMDA di-hétéromériques, très peu de choses sont connues quant aux propriétés biophysiques des récepteurs tri-hétéromériques (Hansen et al., 2014). Néanmoins, les récepteurs tri-hétéromériques GluN1/GluN2A/GluN2B semblent présenter des propriétés intermédiaires entre les deux sous-types di-hétéromériques.

(2) Propriétés pharmacologiques

Les récepteurs NMDA sont équipés d'un grand nombre de sites de liaisons pour des ligands agissant comme modulateurs allostériques positifs ou négatifs (Figure 19) (Paoletti et al., 2013).

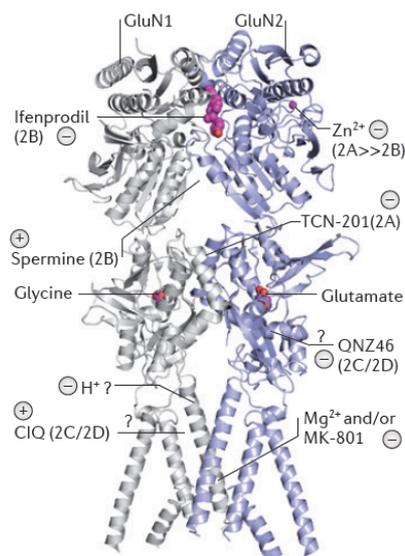


Figure 19 : Les différents sites de liaison pour de multiples modulateurs allostériques positifs et négatifs du récepteur NMDA. Modèle d'un hétérodimère GluN1/GluN2 basé sur les structures « crystal X-ray » du DNT du récepteur GluN1/GluN2B et du DLA du récepteur GluN1/GluN2A. Les signes + et - indiquent respectivement des modulateurs positifs et négatifs ; les ? indiquent des incertitudes quant à la position des sites de liaison. Tiré de Paoletti et al., 2013.

Certains de ces modulateurs offrent la possibilité de pouvoir agir sélectivement sur un sous-type de récepteurs sans affecter le fonctionnement des autres. Plusieurs de ces modulateurs sont endogènes au SNC comme les protons (H^+), les polyamines et le zinc (Zn^{2+}) (Paoletti, 2011). Les protons et les polyamines respectivement inhibent et améliorent préférentiellement les récepteurs

contenant la sous-unité GluN2B (Banke et al., 2005 ; Mony et al., 2011). A l'inverse, de faibles concentrations de Zn^{2+} ($< 1 \mu M$) peuvent inhiber spécifiquement les récepteurs contenant la sous-unité GluN2A (Paoletti et al., 1997).

En plus de ces modulateurs endogènes, plusieurs agents pharmacologiques de synthèse ont été développés afin de disséquer la fonction de chaque sous-type de récepteurs NMDA. Le mieux caractérisé est sans doute l'ifenprodil et ses dérivés (tel le Ro 25-6981) qui inhibe spécifiquement les récepteurs contenant la sous-unité GluN2B en agissant à l'interface des sous-unités GluN1 et GluN2B au niveau du domaine N-terminal (Williams, 1993 ; Karakas et al., 2011). Plus récemment, de nouveaux modulateurs allostériques ont été conçus, dont le TCN-201 qui agit sélectivement sur les récepteurs contenant la sous-unité GluN2A (Bettini et al., 2010 ; Hansen et al., 2012) ou le QNZ46 et le CIQ, respectivement modulateurs négatifs et positifs des récepteurs contenant les sous-unités GluN2C et GluN2D (pour revue Paoletti et al., 2013).

La présence de récepteurs tri-hétéromériques tend à compliquer l'interprétation des résultats pharmacologiques. En effet, les récepteurs GluN1/GluN2A/GluN2B lient le Zn^{2+} , l'ifenprodil et le TCN-201 avec une assez forte affinité mais l'inhibition reste assez faible (environ 25 %) (Hatton and Paoletti, 2005 ; Hansen et al., 2014). Ainsi, un effet mineur de l'ifenprodil par exemple, ne signifie pas nécessairement que les sous-unités GluN2B sont absentes mais peut aussi indiquer leur association aux sous-unités GluN2A pour former un complexe tri-hétéromérique.

(3) *Trafic et partenaires intracellulaires*

L'extrémité C-terminale est le domaine le moins conservé entre les différentes sous-unités. Il rentre ainsi en jeu dans plusieurs processus spécifiques à chacune des sous-unités, incluant leur mobilité intracellulaire ou membranaire, leur localisation subcellulaire et leur implication dans diverses voies de signalisation intracellulaire (Sprengel et al., 1998 ; Sanz-Clemente et al., 2012).

De façon schématique, les récepteurs NMDA sont assemblés dans le réticulum endoplasmique (RE) avant d'être adressés au compartiment synaptique grâce à des vésicules de transport intracellulaire (Wenthold et al., 2003). Le contenu synaptique en récepteurs NMDA semble reposer ensuite sur un équilibre entre les processus d'endocytose et d'exocytose d'une part et la diffusion latérale du récepteur entre les espaces synaptiques et extra-synaptiques d'autre part. La dynamique synaptique des récepteurs NMDA est par ailleurs fortement régulée (via leur domaine intracellulaire)

par leur interaction avec de nombreuses protéines kinases et phosphatases et par leur interaction avec le domaine PDZ des protéines MAGUKs (membrane-associated guanylate kinase) composant la densité post-synaptique ; en particulier avec celle de la famille de la PSD-95 (Lau and Zukin, 2007 ; Prybylowski et al., 2005 ; Bard and Groc, 2011). GluN2A et GluN2B interagissent avec les quatre membres de la famille de PSD-95 comprenant en plus de celle-ci, PSD-93, SAP102 (synapse-associated protein 102) et SAP97. SAP97 et SAP102 jouent un rôle important dans le trafic intracellulaire et l'adressage à la synapse des récepteurs (Sans et al., 2003, 2005 ; Jeyifous et al., 2009 ; Gardoni et al., 2003 ; Mauceri et al., 2007).

Par ailleurs, il semble que la rétention de GluN2B dans la synapse requiert son ancrage au domaine PDZ des protéines MAGUKs, alors que GluN2A pourrait être maintenue dans la membrane post-synaptique même sans liaison au domaine PDZ (Prybylowski et al., 2005), bien que ces résultats restent controversés (Bard et al., 2010). Par ailleurs, comme mentionnée précédemment, la distribution des sous-unités GluN2 est assez hétérogène entre les espaces synaptique, péri- et extra-synaptique. Les protéines MAGUKs pourraient en être aussi un des mécanismes de régulation. En effet, SAP102 colocalise préférentiellement avec GluN2B à la périphérie de la synapse alors que GluN2A semble interagir préférentiellement avec PSD-95 au centre de celle-ci (Sans et al., 2000 ; Zhang and Diamond, 2009), bien que ces résultats soit soumis à controverse (Al-Hallaq et al., 2007).

D'autre part, de solides évidences révèlent une interaction préférentielle des sous-unités GluN2B avec la CaMKII (Strack et al., 2000 ; Bayer et al., 2001 ; Barria and Malinow, 2005). En raison du rôle crucial de la CaMKII dans l'induction de la PLT_{NMDA} (Lisman et al., 2002, 2012) et dans la plasticité structurale (Gambrill and Barria, 2011 ; Elgaamouch et al., 2012), l'interaction GluN2B-CaMKII pourrait aussi être essentielle à la plasticité synaptique sous-tendant les processus mnésiques (Lismaan et al., 2002). GluN2A semble aussi posséder des partenaires privilégiés, notamment avec la « nitric oxide synthase » (Al-Hallaq et al., 2007), suggérant une implication de GluN2A dans l'induction de formes présynaptiques de PLT et de DLT.

2. La composition en sous-unités GluN2 régule les propriétés associatives des récepteurs NMDA

En raison de la présence d'ions Mg^{2+} obstruant le canal cationique au potentiel membranaire de repos, l'activation du récepteur et donc l'initiation des processus de plasticité requiert la libération de neurotransmetteur par l'élément pré-synaptique et la dépolarisation du neurone post-

synaptique ; le récepteur NMDA étant le médiateur moléculaire de l'association entre ces deux événements. Cette propriété permet à la cellule de distinguer des stimuli corrélés dans le temps de stimuli temporellement distants. Les récepteurs contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B, qui sont caractérisés par une forte dépendance au Mg^{2+} , sont de très bons détecteurs de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique et donc des médiateurs essentiels aux apprentissages associatifs dépendant des récepteurs NMDA. Cependant, les sous-unités GluN2A et GluN2B se distinguent par des délais d'inactivation différents, GluN2A restant ouvert moins longtemps en comparaison de GluN2B (Figure 20).

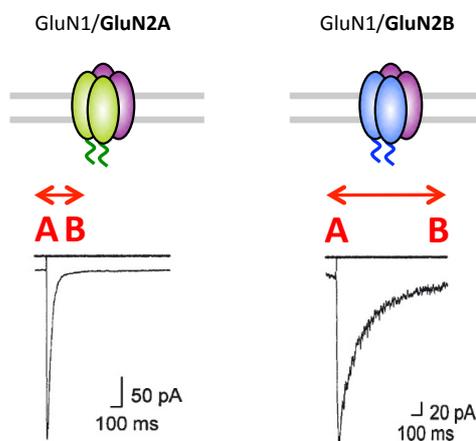


Figure 20 : Schéma illustrant les propriétés associatives des récepteurs GluN1/GluN2A et GluN1/GluN2B. En raison d'une cinétique de désactivation plus lente, les récepteurs GluN1/GluN2B offrent une plus large fenêtre temporelle pour détecter la coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique et potentiellement associer les stimuli A et B. Tracés électrophysiologiques tirés de Vincini et al., 1992.

Dès-lors, un faible ratio GluN2A/GluN2B au niveau post-synaptique pourrait favoriser l'encodage de nouveaux souvenirs associatifs en étendant la fenêtre temporelle durant laquelle la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique peut être opérée par le récepteur NMDA. A l'inverse, un ratio GluN2A/GluN2B élevé réduit cette fenêtre temporelle et ainsi augmente la contrainte temporelle pour détecter la coïncidence de leur activité. Cet effet améliorerait la résolution temporelle des apprentissages associatifs, seuls des stimuli réellement corrélés seraient ainsi associés en limitant le risque de formation d'associations inappropriées ou des réponses non-sélectives (Medina et al., 2001). Dans ce sens, quand une odeur neutre est appariée à un choc électrique périphérique léger (stimulus aversif) ou à la distribution de lait maternel (stimulus appétitif) chez des jeunes rats âgés d'une semaine, présentant donc un niveau élevé de sous-unités GluN2B, le choc électrique ou la prise de lait maternel induisent la même réponse comportementale. A P12, quand la sous-unité GluN2A est exprimée dans le cortex sensoriel ou l'amygdale, une distinction se met en place entre conditionnement aversif et appétitif à l'odeur (Camp and Rudy, 1988).

3. Rôle des récepteurs NMDA dans la métaplasticité

Une avancée majeure dans l'étude des mécanismes sous-tendant les processus de plasticité synaptique a été la découverte que les récepteurs glutamatergiques sont mobiles au sein de la membrane post-synaptique. La dynamique de leur redistribution s'opère sur différents intervalles de temps et en réponse à différents stimuli, en accord avec la grande variété des processus de plasticité synaptique (Pérez-Otaño and Ehlers, 2005). Comme mentionné précédemment, les mécanismes cellulaires sous-tendant les formes classiques de plasticité hebbienne ont été très étudiés et impliquent notamment une redistribution rapide des récepteurs AMPA au sein de la membrane post-synaptique (Kessels and Malinow, 2009). Depuis le début des années 2000, le trafic des récepteurs NMDA est quant à lui considéré comme un mécanisme plus lent contribuant essentiellement au contrôle homéostatique de la plasticité des synapses glutamatergiques (Watt et al., 2000 ; Pérez-Otaño and Ehlers, 2005). Un nombre croissant d'études démontre comment la dynamique de surface, et plus globalement la mobilité des sous-unités GluN2A et GluN2B, participe à moduler la capacité des synapses à subir des modifications plastiques en réponse à des variations d'activité synaptique ou neuronale.

a) L'activité neuronale contrôle la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B

La composition synaptique en sous-unités GluN2 est régulée par l'activité synaptique ou neuronale : une augmentation du niveau d'activité synaptique ou neuronale conduit à une élévation du ratio synaptique GluN2A/GluN2B et inversement (Watt et al., 2000 ; Barria and Malinow, 2002 ; Ehlers, 2003 ; Bellone and Nicoll, 2007 ; Jung et al., 2008 ; Lau and Zukin, 2007 ; Yashiro and Philpot, 2008 ; Paoletti et al., 2013). Dans la plupart de ces études, la redistribution des sous-unités GluN2 a été étudiée suite à des manipulations de l'activité globale, comme par exemple un traitement chronique avec un antagoniste NMDA, une expérience sensorielle ou suite à un protocole d'induction de la plasticité synaptique (Barria and Malinow, 2002 ; Groc et al., 2006 ; Hoffmann et al., 2000 ; Yashiro et al., 2005 ; Quinlan et al., 1999b ; Bellone and Nicoll, 2007 ; Peng et al., 2010). Cependant, le ratio GluN2A/GluN2B diffère entre les synapses d'un même neurone au niveau de l'HPC ou du cortex (Arrigoni and Greene, 2004 ; Ito et al., 1997, 2000 ; Kawakami et al., 2003 ; Kumar and Huguenard, 2003 ; Sobczyk et al., 2005 ; Wu et al., 2005), suggérant l'existence d'une régulation à l'échelle synaptique et non neuronale.

Dès lors, la question suivante peut se poser : comment le niveau d'activité régule-t-il le ratio des deux sous-unités GluN2 ? Un certain nombre d'études effectuées sur cellules en culture ont révélé différents modes de régulation des sous-unités GluN2A et GluN2B impliquant leur synthèse, leur mobilité et leur dégradation (Figure 21).

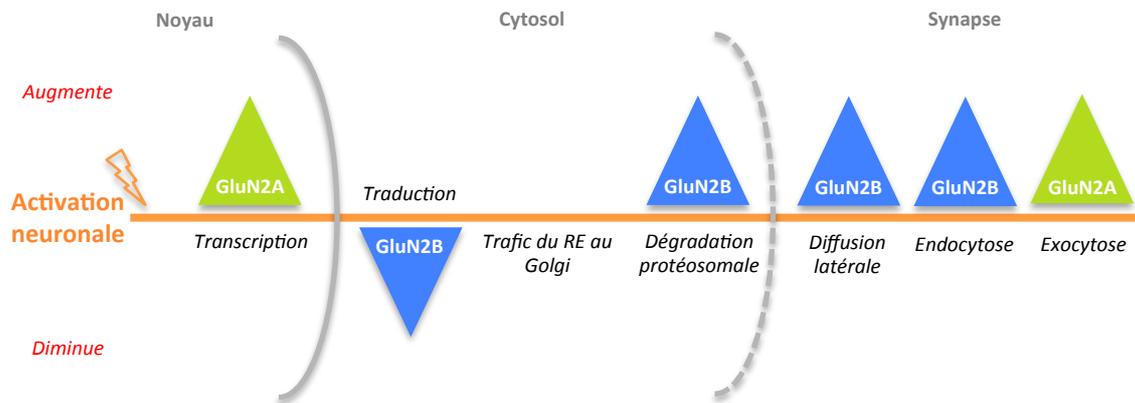


Figure 21 : L'activité neuronale contrôle la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B. Alors que l'activité neuronale facilite la transcription et l'exocytose des sous-unités GluN2A, elle réduit la traduction des sous-unités GluN2B et facilite leur dégradation, leur diffusion latérale et leur endocytose. Voir texte pour détails. D'après Yashiro and Philpot, 2008.

(1) Transcription et traduction

D'importantes différences ont été révélées selon le niveau de maturité des neurones corticaux en culture. A un stade précoce de développement (DIV 9-15), l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B serait principalement dû à une augmentation de la synthèse des ARNm codants GluN2A induite par l'activation des récepteurs NMDA eux-mêmes (Hoffmann et al., 2000). Les raisons de cette réponse transcriptionnelle différentielle entre GluN2A et GluN2B sont encore inconnues. Sur des cellules corticales plus âgées (DIV 22-30), l'activité neuronale semble augmenter le ratio GluN2A/GluN2B en inhibant la traduction des sous-unités GluN2B (Chen and Bear, 2007). Dans les deux cas, l'augmentation de l'activité neuronale élève le ratio GluN2A/GluN2B.

(2) Trafic intracellulaire

Les sous-unités NMDA sont assemblées dans le réticulum endoplasmique (RE), modifiées dans le RE et l'appareil de Golgi avant d'être incorporés dans la membrane plasmique. GluN2A et GluN2B expriment une séquence d'export depuis le RE, localisé dans le domaine C-terminal (pour revue Yashiro and Philpot, 2008). Différents mécanismes régulent le trafic intracellulaire de chacune des

sous-unités en réponse à des variations d'activité neuronale. L'incorporation de nouvelles sous-unités GluN2A requiert la liaison du glutamate aux récepteurs NMDA, alors que l'accumulation de sous-unités GluN2B serait indépendante du niveau d'activité synaptique ou de la liaison du glutamate (Barria and Malinow, 2002).

(3) Diffusion latérale

La diffusion latérale des récepteurs glutamatergiques a émergé récemment comme un processus cellulaire important dans la régulation de la composition synaptique en récepteurs (Choquet and Triller, 2003). Longtemps considérés comme relativement stable dans la membrane plasmique, la combinaison d'outils électrophysiologiques couplés à des techniques d'imagerie cellulaire de haute résolution a permis de fournir des preuves directes que les récepteurs NMDA expriment une grande mobilité en diffusant vers l'intérieur et l'extérieur de la synapse, selon le type de sous-unités qui les composent. De plus, il a été montré que les récepteurs NMDA sont plutôt internalisés soit dans l'espace péri-synaptique (en bordure de la densité post-synaptique), soit dans l'espace extra-synaptique (Blanpied et al., 2002 ; Petralia et al., 2003). De ce fait, le modèle actuel suggère que le contenu synaptique en récepteurs NMDA est contrôlé par la diffusion latérale des récepteurs vers le centre ou l'extérieur de la synapse, et par ailleurs par un processus d'endocytose et d'exocytose dans l'espace extrasynaptique (Choquet and Triller, 2013).

Dans une étude pionnière, Tovar and Westbrook (2002) ont démontré sur des cultures de neurones hippocampiques immatures que les courants post-synaptiques excitateurs dépendant des récepteurs NMDA réapparaissent lentement après blocage permanent de ces récepteurs avec le MK-801. Ce retour des courants NMDA a été interprété comme le résultat de la diffusion latérale des récepteurs NMDA (non bloqués par le MK-801) entre les compartiments synaptiques et extra-synaptiques (Tovar and Westbrook, 2002). Plus récemment, la redistribution latérale des récepteurs NMDA a été décrite avec plus de détails grâce au « tracking » de récepteurs uniques à la surface membranaire (Groc et al., 2004, 2006, 2007). Cette méthode a permis de montrer que les récepteurs contenant la sous-unité GluN2A sont moins mobiles que ceux contenant la sous-unité GluN2B (Groc et al., 2006) (Figure 22). Dans cette étude réalisée sur des neurones hippocampiques immatures *in vitro*, seulement 30 à 40 % des récepteurs NMDA sont mobiles et ces récepteurs (principalement des récepteurs contenant la sous-unité GluN2B) diffusent entre les espaces synaptiques et extra-synaptiques (Groc et al., 2006 ; Bard et al., 2010).

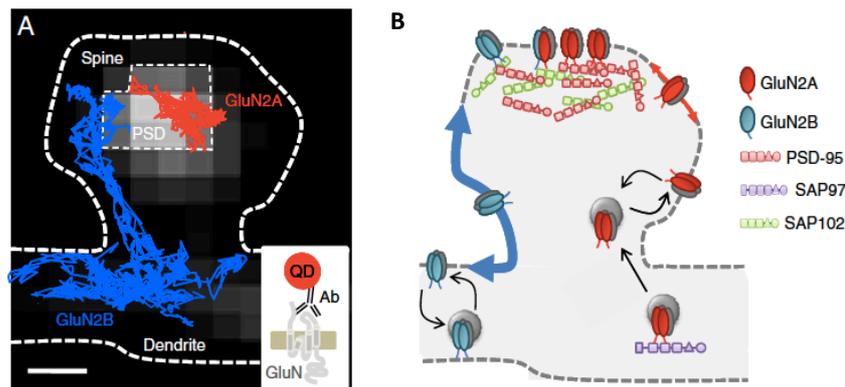


Figure 22 : *Dynamique de surface des récepteurs NMDA contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B. (A) Trajectoires représentatives (durant 50 sec) des récepteurs GluN1/GluN2A (rouge) et GluN1/GluN2B (bleu) dans une épine dendritique d'un neurone hippocampique. La dynamique de chaque récepteur est visualisée au cours du temps grâce à un Quantum Dot (QD) fusionné à un anticorps dirigé contre ce récepteur. Chaque trajectoire représente ainsi la diffusion d'un unique complexe récepteur-QD. Les récepteurs GluN1/GluN2A sont confinés dans la DPS, les récepteurs GluN1/GluN2B diffusent de l'espace extra-synaptique jusque dans la DPS dans laquelle ils sont retenus de façon transitoire. Barre d'échelle : 200 nm. (B) Représentation schématique de la dynamique de surface et intracellulaire des deux isoformes de récepteurs NMDA dans l'épine dendritique. Adapté de Bard and Groc, 2011.*

Cette diffusion latérale semble être régulée notamment par la composition du récepteur en sous-unités (Groc et al., 2006), la matrice extracellulaire (Groc et al., 2007a ; Michaluk et al., 2009), des protéines kinases (Groc et al., 2004), le stade développemental des neurones (Groc et al., 2006) et l'activité neuronale (Groc et al., 2004 ; Dupuis et al., 2014). Les propriétés de diffusion distinctes entre GluN2A et GluN2B suggèrent l'existence de mécanismes de régulation propre à chacune des deux sous-unités. Parmi ces mécanismes, leur interaction avec les protéines de la densité post-synaptique apparaît comme essentielle (Bard et al., 2010). Enfin, il est important de noter que ces études ont été réalisées *in vitro*, sur des neurones en culture où la densité de cellules est plus faible que sur tranches de cerveaux ou *in vivo*. Ainsi, en raison de contraintes technologiques encore importantes, la dynamique de surface des récepteurs NMDA *in vivo* reste très peu documentée et pourrait être assez différente de celle observée *in vitro*.

(4) Dégradation

Comme on l'a vu, le ratio GluN2A/GluN2B est modulé en réponse à des variations du niveau d'activation neuronale. Cette modulation peut être altérée par des inhibiteurs du protéasome (Ehlers, 2003), indiquant que la dégradation protéique est nécessaire à la régulation du niveau d'expression des sous-unités GluN2. Une étude plus récente démontre que GluN2B peut être

ubiquitinylé par une ligase E3 nommée Mind bomb 2 (Mib2), étiquetant ainsi GluN2B pour sa dégradation par le protéasome lorsque la tyrosine 1472 du motif YEKL est phosphorylé par Fyn (Jurd et al., 2008). Parce que l'activation neuronale facilite la phosphorylation de GluN2B et la liaison à Mib2, celle-ci pourrait jouer un rôle important dans sa dégradation. Concernant GluN2A, les mécanismes sous-tendant sa dégradation restent peu connus.

Il semble également que la nature de la sous-unité GluN2 influence le devenir des récepteurs après endocytose. GluN2A et GluN2B contiennent un motif permettant leur adressage au complexe endosome/lysosome, où ils seront dégradés. Cependant, GluN2B possède un motif supplémentaire lui permettant d'être orienté vers une voie de recyclage (Scott et al., 2004). Par conséquent, les récepteurs contenant la sous-unité GluN2B seraient préférentiellement recyclés à la surface membranaire, alors que ceux contenant la sous-unité GluN2A seraient plus probablement dégradés après endocytose. Cependant, l'impact de l'activité synaptique sur l'endocytose et le recyclage des sous-unités GluN2 reste peu documenté.

En conclusion, l'activité neuronale ou synaptique régule le ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B grâce à la superposition de plusieurs processus régulant leur synthèse, leur adressage à la membrane, leur dynamique de surface et leur dégradation.

b) La composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B module la plasticité synaptique

En augmentant le seuil d'induction de la plasticité synaptique, les processus métoplastiques permettraient par exemple d'éviter la sur-potentialisation des synapses déjà actives ou potentialisées. Ces mêmes mécanismes peuvent également permettre aux synapses silencieuses (ou inactives) d'être potentialisées plus facilement. Ainsi la métoplasticité, en maintenant les synapses dans un état fonctionnellement dynamique, pourrait moduler à la fois l'encodage de nouveaux souvenirs et le stockage des souvenirs anciens (Abraham, 2008).

La plupart des travaux théoriques ou expérimentaux sur la métoplasticité ont suggéré que la régulation des propriétés plastiques des synapses se met en place à l'échelle du neurone entier ce qui ajuste la capacité du neurone à répondre aux variables de son environnement. Cependant, la métoplasticité implique aussi des processus à l'échelle des synapses spécifiquement modifiées par le flux d'activité. Une très belle démonstration a été publiée en 2010 par l'équipe de Michael D. Ehlers. Travaillant avec des neurones en culture, leur étude a consisté à « éteindre » l'activité pré-synaptique (grâce à une toxine tétanique supprimant la libération de neurotransmetteurs) au niveau

de quelques synapses au sein d'une population d'autres synapses normalement actives (Lee et al., 2010). Grâce à l'utilisation de la microscopie bi-photonique couplée à l'application locale de glutamate (« glutamate engagé ») pour visualiser et stimuler individuellement les synapses, les auteurs ont évalué la redistribution des récepteurs NMDA au niveau des synapses rendues silencieuses comparées à leurs voisines actives et déterminé les conséquences sur les seuils d'induction de la plasticité synaptique. Ils ont démontré une augmentation significative de l'expression des récepteurs contenant la sous-unité GluN2B dans les synapses rendues silencieuses en comparaison des synapses voisines actives. Alors que ces synapses silencieuses présentaient des courants AMPA similaires aux synapses actives, les courants NMDA ainsi que l'influx post-synaptique de Ca^{2+} étaient quant à eux augmentés de façon significative. Comme attendu, cette forte diminution du ratio synaptique GluN2A/GluN2B a fortement influencé l'induction de la plasticité synaptique au niveau des synapses silencieuses. La stimulation répétée des synapses induit la potentialisation et l'élargissement des épines au niveau des synapses silencieuses mais peu au niveau des synapses précédemment actives. Ainsi, dans ces conditions les synapses silencieuses sont dans un état métaplastique les rendant plus facilement modifiables par l'activité synaptique (en raison d'un seuil d'induction plus bas). Ces résultats sont majeurs car ils ont démontré pour la première fois que la métaplasticité peut être spatialement délimitée à un sous-ensemble de synapses.

Par ailleurs, plusieurs études ont suggéré que les récepteurs NMDA pouvaient jouer un rôle dans la formation et la stabilisation des épines dendritiques accompagnant les processus mnésiques (Alvarez et al., 2007 ; Akashi et al., 2009). Cependant, jusqu'à récemment, il n'était pas connu si et comment le ratio synaptique GluN2A/GluN2B influence les processus de synaptogénèse, de maturation et de stabilisation synaptique. Dans une étude datée de 2011, AC. Gambrill et A. Barria ont évalué l'implication des sous-unités GluN2 dans le processus de synaptogénèse sur des tranches d'HPC en culture préparées à partir de cerveau de jeunes rats (P6-7), un âge durant lequel l'expression et l'incorporation synaptique des sous-unités GluN2A commence à se mettre en place (Gambrill and Barria, 2011). Ils ont démontré que l'expression précoce de la sous-unité GluN2A durant la période de synaptogénèse réduit le nombre de synapses ainsi que le volume et la dynamique des épines dendritiques. A l'inverse, la surexpression de GluN2B n'affecte pas le nombre ou la croissance des synapses mais améliore la motilité des épines en augmentant le rythme auquel elles sont ajoutées puis rétractées. Ces premiers résultats ont permis de renforcer l'idée que GluN2B serait essentiel à la formation de nouvelles synapses en conférant aux épines dendritiques un dynamisme suffisant pour trouver un partenaire pré-synaptique et établir de nouveaux contacts synaptiques. Les auteurs ont démontré ensuite que l'extrémité C-terminale de GluN2B, et en particulier sa capacité à lier la CaMKII, est nécessaire et suffisante pour permettre la synaptogénèse.

En revanche, l'extrémité C-terminale de GluN2A est suffisante pour stopper le développement de nouvelles synapses et leur croissance. Ces résultats ont ainsi révélé que le ratio GluN2A/GluN2B via l'extrémité C-terminale des sous-unités GluN2 contrôle la formation de nouvelles synapses ainsi que leur stabilisation. Ainsi, sur la base de ces résultats et en association avec d'autres (Ewald et al., 2008 ; Sepulveda et al., 2010 ; Brigman et al., 2010), il a été proposé que GluN2B faciliterait la formation de nouvelles synapses en favorisant la motilité des épines dendritiques. L'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B permettrait la stabilisation des synapses en rendant les changements structuraux plus difficiles. Ce modèle est cohérent avec le constat que l'augmentation *in vivo* du ratio synaptique GluN2A/GluN2B au cours du vieillissement est corrélée avec une diminution de la motilité des épines dendritiques dans le cerveau des mammifères (Dunaevsky et al., 1999).

En conclusion, ces résultats ont pu fournir une nouvelle démonstration que l'état du ratio GluN2A/GluN2B varie selon le niveau d'activité synaptique, ce qui en retour ajuste la capacité des synapses à subir de nouvelles modifications plastiques (Yashiro and Philpot, 2008). On peut imaginer que la facilité des synapses silencieuses (enrichies en sous-unités GluN2B) à subir des modifications fonctionnelles et structurales pourrait leur permettre d'être facilement intégrées dans un réseau de neurones recruté lors de l'encodage d'un nouveau souvenir. A l'inverse, la plus grande difficulté des synapses actives (plus riches en sous-unités GluN2A) à être remodelées pourrait protéger de l'oubli les souvenirs anciens encodés par ces synapses.

Ces changements d'états métoplastiques ne sont probablement pas liés uniquement à des variations dans l'expression synaptique des sous-unités GluN2, mais implique aussi certainement d'autres protéines synaptiques et d'autres voies de signalisation intracellulaires. Dans ce sens, une étude antérieure de l'équipe de Michael D. Ehlers démontrait que des variations globales d'activité synaptique conduisaient à des changements durables, bidirectionnels et réversibles dans la composition de la densité post-synaptique (pas uniquement des récepteurs NMDA) via la mise en jeu du protéasome (Ehlers, 2003).

c) Implication des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les processus de PLT et de DLT

Les récepteurs NMDA, comme source principale de Ca^{2+} post-synaptique, initient des formes rapides de plasticité hebbienne (PLT et DLT). La modification prolongée de l'activité synaptique module l'influx calcique à travers les récepteurs NMDA en ajustant leur nombre (Watt et al., 2000), et leur composition en sous-unités GluN2 (Quinlan et al., 1999a, Philpot et al., 2001 ; Ehlers, 2003). En conséquence, les variations du ratio GluN2A/GluN2B moduleraient les seuils d'induction de la PLT

et de la DLT, influençant fortement la direction des futurs changements synaptiques (Yashiro and Philpot, 2008).

Cependant, sur la base de nombreuses études génétiques ou pharmacologiques, il apparaît que l'implication respective des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les processus de PLT et de DLT est bien plus complexe que ne le décrit la plupart des modèles théoriques ; raison pour laquelle ce sujet est actuellement soumis à d'intenses débats. Deux revues, celle de Min Zhuo (2009) et celle de Sun et al. (2016), illustrent de manière détaillée l'hétérogénéité des résultats obtenus et suggèrent que la relation entre les sous-unités GluN2 et la PLT/DLT dépend *a minima* de leur localisation subcellulaire, de l'âge des animaux, de la région cérébrale étudiée et du protocole d'induction utilisé. Enfin, la question est d'autant plus complexe si l'on considère l'existence de récepteurs trihétéromériques contenant les deux sous-unités GluN2A et GluN2B (cf Paoletti et al., 2013 pour une mise à jour des modèles précédents).

4. Implications fonctionnelles des sous-unités GluN2A et GluN2B dans divers processus sensoriels et cognitifs *in vivo*

a) Continuum

L'apprentissage, la mémoire et le développement cérébral ont en commun d'être associés à des modifications durables des synapses guidées par des profils spécifiques d'activité neuronale. En 2010, Hubener et Bonhoeffer proposent que les mécanismes neuronaux impliqués dans les processus mnésiques s'inscrivent dans la continuité des mécanismes sous-tendant la plasticité corticale observée au cours du développement (Hubener and Bonhoeffer, 2010). Les études du développement cortical pourraient donc selon eux fournir de solides pistes permettant d'éclairer les mécanismes neuronaux impliqués dans le stockage mnésique. Ils relançaient ainsi une idée déjà énoncée par Eric Kandel vingt ans auparavant, selon laquelle le développement du cortex et le stockage de nos souvenirs pourraient partager des bases cellulaires communes (Kandel and O'Dell, 1992). Par exemple, la mise en place et la maturation des connexions synaptiques du cortex visuel durant le développement post-natal sont connues pour mettre en jeu des mécanismes métaplastiques dépendant des récepteurs NMDA et régulant la capacité des connexions synaptiques à subir des modifications plastiques. Ces changements synaptiques et leurs bases moléculaires pourraient se révéler pertinents pour l'étude des mécanismes sous-tendant la consolidation des traces mnésiques au niveau cortical.

D'autre part, la mémoire peut être considérée comme un processus général durant lequel le cerveau est remodelé par création et destruction de connexions synaptiques de façon à adapter son comportement aux variations de son environnement, ce qui conditionne au sens darwinien du terme, le « fitness » soit la valeur adaptative des individus. Les adaptations à son environnement incluent également un remodelage cérébral lorsque la capacité sensorielle à percevoir et à traiter les informations en provenance de son environnement est modifiée. Ainsi, les processus de plasticité synaptique sous-tendant la mémoire peuvent être considérés en un sens comme un continuum des adaptations synaptiques observées lors de changements dans l'environnement sensoriel.

Comme mentionné précédemment, la composition synaptique en sous-unités GluN2 n'est pas statique mais peut subir des modifications dynamiques en réponse à des variations d'activité neuronale ou synaptique induites *in vivo* par différentes expériences sensorielles ou cognitives. Alors que ces phénomènes ont longtemps été considérés comme spécifiques du cerveau en développement, un nombre croissant d'études démontre leur existence chez l'adulte (pour revue Kopp et al., 2007 ; Finnie and Nader, 2012). Sur la base de leurs propriétés respectives, ces changements dans la composition en sous-unités GluN2A et GluN2B pourraient influencer durablement les processus de plasticité synaptique accompagnant la consolidation mnésique.

b) Modifications de la composition synaptique en sous-unités GluN2 durant le développement post-natal

Durant les premières semaines suivant la naissance, l'expression des sous-unités GluN2B diminue alors que celle des sous-unités GluN2A augmente (Sheng et al., 1994 ; Hestrin, 1992 ; Nase et al., 1999 ; Quinlan et al., 1999b). Ces changements d'expression se produisent dans la quasi-totalité des régions cérébrales et se trouvent conservés au cours de l'évolution, des amphibiens jusqu'aux primates (Roberts and Ramoa, 1999 ; Chen et al., 2000). De plus, ils coïncident avec la fin d'une période dite « critique » durant laquelle les circuits neuronaux se forment grâce à un niveau très élevé de plasticité synaptique. L'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B est donc corrélée à une maturation synaptique, un affinage des circuits neuronaux et à l'acquisition des capacités d'apprentissage (Dumas, 2005). Dans certaines régions cependant, l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B n'est probablement pas le seul facteur régulant la période critique au cours du développement (Rumbaugh et al., 2000, Barth and Malenka, 2001 ; Lu et al., 2001a).

Les mécanismes cellulaires et moléculaires responsables de ces changements d'expressions sont loin d'être pleinement définis. Dans l'HPC comme dans le cortex en développement, la redistribution

synaptique des sous-unités GluN2 dépendrait de l'activation des récepteurs métabotropiques glutamatergiques de type 5 (mGluR5), de la phospholipase C, de la PKC, et de la caseine kinase 2 (CK2) (Matta et al., 2011 ; Sanz-Clemente et al., 2010 ; Sanz-Clemente et al., 2013). Cependant, le lien entre ces différents acteurs moléculaires reste peu connu. Au niveau génétique, le répresseur transcriptionnel REST (repressor element1-silencing transcription factor) participe à réduire l'expression de GluN2B via le remodelage épigénétique du gène *Grin2b* (Rodenas-Ruano et al., 2012).

L'importance de l'expérience sensorielle pour réguler la composition synaptique en sous-unités GluN2 a été particulièrement bien étudiée dans les cortex visuels et somatosensoriels (Yashiro and Philpot, 2008). La privation sensorielle, par exemple en élevant les animaux dans l'obscurité, permet de prolonger l'expression des sous-unités GluN2B et ainsi d'étendre la période « critique » nécessaire à une forte plasticité synaptique dans le cortex visuel. Chez ces animaux, l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B peut être rapidement induite par l'exposition des animaux à la lumière (Quinlan et al., 1999a ; Philpot et al., 2001 ; Liu et al., 2004b). De façon intéressante, des conditions stressantes ou pathologiques durant la période « critique », comme la privation maternelle ou l'exposition *in utero* à la cocaïne, retarde aussi l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B (Rodenas-Ruano et al., 2012 ; Bellone et al., 2011). Par ailleurs, la privation visuelle induit une réduction significative du ratio GluN2A/GluN2B mais de façon intéressante, cette privation affecte très peu l'expression des sous-unités GluN1 (Quinlan et al., 1999b), suggérant que la régulation des processus de plasticité serait médiée davantage par l'état du ratio GluN2A/GluN2B que par le nombre absolu de récepteurs NMDA exprimés à la synapse.

c) Acquisition des capacités d'apprentissage d'une mémoire associative

Plusieurs régions corticales ou sous-corticales impliquées dans les apprentissages associatifs subissent des modifications anatomiques, physiologiques, cellulaires et moléculaires au cours du développement mais aussi à différents âges après la naissance (Vogt and Rudy, 1984). Généralement, l'expérience sensorielle précoce conduit à une augmentation de l'activité au sein des réseaux neuronaux, laquelle active et initie la machinerie de production et d'adressage des différentes sous-unités GluN2, ce qui en retour confère aux synapses glutamatergiques la capacité de réguler leur niveau de plasticité. Via ce mécanisme, les différentes structures cérébrales acquiert une organisation leur permettant un traitement des informations mnésiques optimal en lien avec les modalités sensorielles auxquelles elles sont rattachées (gustative, visuelle, olfactive, auditive,...). En fonction du niveau de maturation de chacune de ces structures, l'acquisition des différentes formes d'apprentissage associatif (impliquant différentes modalités sensorielles) va émerger de manière séquentielle au sein de ces structures au cours du développement post-natal. On peut ainsi noter que le ratio GluN2A/GluN2B commence à augmenter successivement au cours du développement post-natal, d'abord dans le cortex somatosensoriel durant la première semaine, dans le cortex auditif et l'amygdale latérale durant la deuxième semaine, dans le cortex visuel durant la troisième semaine, et enfin dans l'HPC et le cervelet à la fin de la troisième semaine (pour revue Dumas, 2005).

A noter que malgré cette augmentation du ratio GluN2A/GluN2B très tôt au cours de la vie post-natale, la sous-unité GluN2B reste très fortement exprimée à l'âge adulte et notamment dans des régions cérébrales impliquées dans les processus cognitifs tels que le cortex, l'HPC ou l'amygdale. De plus, certaines régions conservent chez l'adulte un ratio GluN2A/GluN2B très faible, similaire à celui observé dans les premiers jours de vie. C'est le cas par exemple du noyau central de l'amygdale (Sah and Lopez De Armentia, 2003 ; Lopez De Armentia and Sah, 2003), du cortex moteur primaire (Sun et al., 2000) ou encore des couches 2/3 du cortex visuel (Erisir and Harris, 2003).

Maintenant, s'il on compare l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B avec l'acquisition des capacités d'apprentissage (Figure 23), des études ont montré une corrélation temporelle entre les deux. L'apparition développementale de la sous-unité GluN2A dans une région donnée précède de près l'émergence des capacités d'apprentissage en relation avec cette région (pour revue Dumas, 2005). Ainsi les capacités d'apprentissage et de mémoire impliquant différentes modalités sensorielles se mettent en place de manière séquentielle après la naissance.

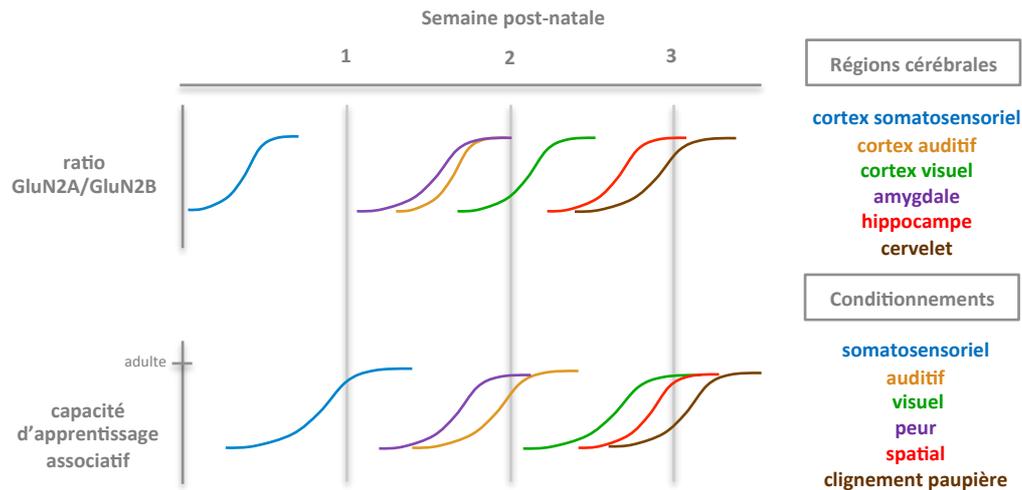


Figure 23 : Acquisition des capacités d'apprentissage au cours du développement post-natal. L'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans les différentes régions cérébrales précède la première expression comportementale de l'apprentissage associatif impliquant cette région. Par exemple, l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans le cortex somatosensoriel s'opère plus tôt que dans l'HPC. Les capacités de conditionnement impliquant ces deux structures émergent dans le même ordre. D'après Dumas, 2005.

La nécessité des récepteurs NMDA pour les apprentissages associatifs à l'âge adulte combinée aux changements d'expression des sous-unités GluN2 au cours du développement, supporte ainsi l'idée que l'émergence des capacités d'apprentissage est régulée par la dynamique des sous-unités GluN2.

d) Conséquences de la variation de la composition synaptique en sous-unités GluN2 au cours du vieillissement

Le ratio GluN2A/GluN2B augmente entre le développement post-natal et la maturité sexuelle puis plus progressivement tout au long de la vie adulte en raison principalement d'un appauvrissement du cerveau en sous-unité GluN2B (même si le nombre total de sous-unités NMDA diminue au cours du vieillissement, indépendamment du type de sous-unité). Cette chute progressive dans l'expression des sous-unités GluN2B conduit à un raccourcissement graduel de la durée des courants NMDA (Sheng, 1994 ; Hestrin et al., 1992 ; Carmignoto and Vicini., 1992 ; Monyer et al., 1994) et à un affaiblissement du recrutement de certaines protéines intracellulaires (comme la CaMKII). Ces changements sont corrélés à une altération de la plasticité synaptique et des capacités d'encodage et de flexibilité comportementale observées au cours du vieillissement chez un très grand nombre d'espèces animales incluant rongeurs, chats, lapins, oiseaux, grenouilles, primates humains et non-humains (Chen et al., 2000 ; Hensch, 2004 ; Magnusson et al., 2010 ; Watanabe et al., 1992 ; Clayton et al., 2002). Ce changement dans l'expression synaptique des sous-unités GluN2

est par exemple l'une des hypothèses avancées pour expliquer chez l'Homme la chute des capacités à apprendre une nouvelle langue étrangère sans accent après la puberté.

Il est difficile de tester les effets d'une augmentation du ratio GluN2A/GluN2B en comparant directement des sujets jeunes et âgés du fait que le vieillissement s'accompagne de changements dans l'expression d'une grande variété de gènes et pas seulement ceux codant les sous-unités GluN2. Depuis la fin des années 1990 et jusqu'à encore très récemment, l'équipe de Joe Z. Tsien ainsi que d'autres groupes de recherche ont su tirer avantage des progrès de la transgénèse pour générer des souris surexprimant directement ou indirectement les sous-unités GluN2A et GluN2B dans les neurones glutamatergiques.

La première étude a révélé que la surexpression de GluN2B dans le cerveau antérieur de souris transgéniques augmente la durée (d'environ 45 %) et l'amplitude (plus de trois fois) des courants NMDA. Cette modification des récepteurs NMDA a conduit à deux conséquences : 1) une augmentation de la PLT hippocampique en réponse à une stimulation tétanique (10-100 Hz) mais pas d'effet sur la DLT et la dépotentialisation à long terme (1-5 Hz) et 2) une amélioration des performances d'apprentissage et de mémoire dans six tâches comportementales différentes (test de reconnaissance du nouvel objet, conditionnement de peur au contexte et au son, extinction du conditionnement de peur au contexte et au son et labyrinthe aquatique de Morris) (Tang et al., 1999). Ces résultats ont ensuite été confirmés dans une très large variété de paradigmes comportementaux (Cao et al., 2007 ; Cui et al., 2011 ; Philpot et al., 2001 ; Tang et al., 2001 ; White et al., 2004 ; Jacobs and Tsien, 2012 ; Li et al., 2010). Une amélioration similaire de la PLT et des performances mnésiques a aussi été retrouvée chez des rats transgéniques surexprimant GluN2B, suggérant que les effets bénéfiques de GluN2B sur la plasticité et la mémoire seraient généralisables à plusieurs espèces animales (Wang et al., 2009). Ces résultats ont ainsi permis de confirmer qu'améliorer la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique peut améliorer les performances mnésiques chez l'animal adulte, confirmant la règle de Hebb selon laquelle l'apprentissage de la mémoire associative repose sur la modification de la forces des connexions synaptiques entre neurones simultanément actifs (Tsien, 2000).

En appui d'autres études (Clayton et al., 2002 ; Zhao et al., 2009), ils renforcent l'idée que l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B au cours du vieillissement élèverait progressivement les seuils d'induction de la plasticité synaptique sous-tendant les processus mnésiques de type associatifs, rendant plus difficile l'apprentissage et la mémoire de nouveaux souvenirs. Ainsi, surexprimer GluN2B chez des souris âgées exprimant des déficits mnésiques permet de rétablir des

capacités d'apprentissage et de mémoire similaires à celles observées chez des souris plus jeunes (Cao et al., 2007 ; Brim et al., 2013).

La suite logique a été de déterminer si la surexpression des sous-unités GluN2A produit les effets opposés à la surexpression de GluN2B. Pour répondre à cette question, l'équipe de Joe Z. Tsien a créé plus récemment des souris surexprimant la sous-unité GluN2A dans le cerveau antérieur (Cui et al., 2013). De façon surprenante, la surexpression de ces sous-unités n'affecte pas la DLT induite à 1 Hz ou la PLT induite à 100 Hz dans la région CA1, mais abolit spécifiquement la DLT induite à 3-5 Hz. Par ailleurs, ces souris présentent une mémoire à court terme intacte mais un déficit de mémoire à long terme évalué dans plusieurs paradigmes comportementaux (Cui et al., 2013 ; Jacobs and Tsien, 2014). Ces résultats ont démontré ainsi qu'augmenter le ratio GluN2A/GluN2B est effectivement un facteur important pouvant conduire aux déficits mnésiques observés au cours du vieillissement. La relation entre la suppression de la DLT (3-5 Hz) et le déficit spécifique de mémoire à long terme est intéressant du fait que contrairement à la PLT, l'implication de la DLT au cours des processus mnésiques reste peu connue (Kemp and Manahan-Vaughan, 2007 ; Manahan-Vaughan and Braunewell, 1999 ; Braunewell and Manahan-Vaughan, 2001 ; Massey and Bashir, 2007 ; Brigman et al., 2010 ; Ge et al., 2010). Les auteurs ont proposé un nouveau concept en postulant que les récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN2A pourraient être impliqués dans une forme de DLT permettant d'affiner ou de « sculpter » les réseaux neuronaux recrutés pour le stockage à long terme des souvenirs (Cui et al., 2013) ; une hypothèse cohérente avec l'idée d'une transformation des traces mnésiques au cours du processus de consolidation mnésique (Chen et al., 2009 ; Tsien, 2007 ; Winocur and Moscovitch, 2011).

Pris dans leur ensemble, ces études ont renforcé la thèse selon laquelle l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B est un facteur génétique important responsable du déclin graduel de la plasticité synaptique et de la fonction mnésique au cours du vieillissement (Lee and Silva, 2009 ; Bibb et al., 2010 ; Collingridge et al., 2013).

e) Contribution fonctionnelle des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les processus mnésiques

Depuis 1995, grâce au développement d'antagonistes sélectifs et à la création de souris KO pour ces sous-unités, l'implication fonctionnelle des sous-unités GluN2A et GluN2B au cours de divers processus mnésiques fait l'objet d'une intense investigation (Figure 24).

Figure 24 : Implication fonctionnelle des récepteurs NMDA contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B dans les processus mnésiques chez l'adulte

Référence	Processus mnésique	Espèce	Région cérébrale	Manipulation	Paradigme	Implication fonctionnelle
Sakimura et al., 1995	Apprentissage/Rappel	Souris	Toutes	GluN2A/-	Piscine de Morris	GluN2A
Kishimoto et al., 1997	Acquisition/Rappel	Souris	Toutes	GluN2A/-	Conditionnement de clignement des paupières	GluN2A
Kiyama et al., 1998	Acquisition/Rappel	Souris	Toutes	GluN2A/-	Conditionnement de peur au contexte et au son	GluN2A
Sprengel et al., 1998	Rappel à court et long terme	Souris	Toutes	GluN2A ΔC/AC	Conditionnement de peur au contexte	GluN2A
Moriya et al., 2000	Acquisition/Rappel à long terme	Souris	Amygdale latérale/basolatérale	GluN2A/-	Conditionnement de peur au son	GluN2A
Kishimoto et al., 2001	Acquisition	Rat	Toutes/Amygdale latérale	Injections i.p./intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de clignement des paupières	GluN2B
Rodrigues et al., 2001	Rappel	Rat	Toutes/Amygdale latérale	Injections i.p./intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au contexte et au son	GluN2B
Rodrigues et al., 2001	Rappel	Rat	Toutes/Amygdale latérale	Injections i.p./intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au contexte et au son	Pas d'effet
Clayton et al., 2002	Apprentissage	Rat	Hippocampe	GluN2B antisense oligonucleotides	Conditionnement de peur au contexte et au son	GluN2B
Guscott et al., 2003	Apprentissage/Rappel	Rat	Toutes	Injections i.p. de (F)-CP-101,606	Piscine de Morris	Pas d'effet
Higgins et al., 2003	Apprentissage/Rappel	Souris	Toutes	GluN2A/-	Piscine de Morris	GluN2A
Higgins et al., 2003	Apprentissage/Rappel	Rat	Toutes	Injections sous-cutanées de Ro 63-1908	Piscine de Morris	Pas d'effet
Higgins et al., 2003	Inhibition de la réponse	Rat	Toutes	Injections sous-cutanées de Ro 63-1908	Piscine de Morris	GluN2B
Takehara et al., 2004	Acquisition/Rappel	Souris	Toutes	GluN2B/-	Conditionnement de clignement des paupières	GluN2B
Higgins et al., 2005	Inhibition de la réponse	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro 63-1908/ifenprodil/Traxoprodil	5-CSRT	GluN2B
Zhao et al., 2005	Acquisition	Souris/Rat	Hippocampe	Injections intracérébrales de Ro 25-6981 et siRNA anti-GluN2B	Conditionnement de peur au contexte	Pas d'effet
Zhao et al., 2005	Acquisition	Souris/Rat	Cortex cingulaire antérieur	Injections intracérébrales de Ro 25-6981 et siRNA anti-GluN2B	Conditionnement de peur au contexte	GluN2B
Blair et al., 2005	Acquisition	Rat	Amygdale latérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Ma et al., 2006	Acquisition	Rat	Nombresuses	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Nakazawa et al., 2006	Acquisition	Souris	Cerveau antérieur	GluN2B YF/YF	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Ben Mamou et al., 2006	Reconsolidation (déstabilisation)	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Valenzuela-Harrington et al., 2007	Acquisition	Rat	Hippocampe	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Valenzuela-Harrington et al., 2007	Acquisition extinction	Rat	Toutes/Amygdale latérale	Injections i.p./intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Sotres-Bayon et al., 2007	"Reversal"	Souris	Toutes	Injections i.p. de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Duffy et al., 2007	Apprentissage/Rappel	Souris	Toutes	Injections i.p. de Ro 25-6981	Piscine de Morris	GluN2B
Hu et al., 2008	Acquisition extinction	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro 25-6981	Piscine de Morris	GluN2B
Dalton et al., 2008	Acquisition extinction	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au contexte et au son	GluN2B
Walker et al., 2008	Acquisition	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales de NVP-AAM077	Conditionnement de peur	GluN2A
Walker et al., 2008	Acquisition	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales de CP-101,606	Conditionnement de peur	GluN2B
Walker et al., 2008	Rappel	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales de NVP-AAM077	Conditionnement de peur	GluN2A
Walker et al., 2008	Rappel	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales de CP-101,606	Conditionnement de peur	Pas d'effet
Laurent and Westbrook, 2008	Acquisition extinction	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au contexte	GluN2B
Laurent and Westbrook, 2008	Ré-acquisition extinction	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au contexte	Pas d'effet
von Engelhardt et al., 2008	Acquisition/"reversal"	Souris	Cerveau antérieur	GluN2BAFb conditionnel	Piscine de Morris	GluN2B
von Engelhardt et al., 2008	Acquisition/"reversal"	Souris	Hippocampe	GluN2BAFb conditionnel	Piscine de Morris	GluN2B (mais voir détails)
Bannerman et al., 2008	Acquisition mémoire de travail	Souris	Toutes	GluN2A/-	Piscine de Morris	GluN2A
Bannerman et al., 2008	Acquisition mémoire de travail	Souris	Toutes	GluN2A ΔC/AC	Labyrinthe en T surélevé/Labyrinthe radial	GluN2A
Bannerman et al., 2008	Acquisition mémoire de référence	Souris	Toutes	GluN2A/-	Labyrinthe en T surélevé/Labyrinthe radial	GluN2A
Bannerman et al., 2008	Acquisition mémoire de référence	Souris	Toutes	GluN2A ΔC/AC	Piscine de Morris	Pas d'effet
Brigman et al., 2008	Apprentissage/"reversal"	Souris	Toutes	GluN2A ΔC/AC	Piscine de Morris	Pas d'effet
Zhang et al., 2008a	Acquisition/Rappel	Rat	Hippocampe	GluN2A/-	Discrimination visuelle appétitive	GluN2A
Zhang et al., 2008a	Acquisition/Rappel	Rat	Hippocampe	GluN2A ΔC/AC	Conditionnement de peur au contexte	GluN2B
Zhang et al., 2008a	Acquisition/Rappel	Rat	Hippocampe	GluN2A/-	Conditionnement de peur au contexte	GluN2A
Zhang et al., 2008a	Acquisition/Rappel	Rat	Hippocampe	GluN2A ΔC/AC	Conditionnement de peur au contexte	GluN2B
Zhang et al., 2008b	Acquisition	Rat	Amygdale basolatérale	GluN2A/-	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Zhang et al., 2008b	Acquisition	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Zhang et al., 2008b	Acquisition	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au son	GluN2B
Zhang et al., 2008b	Acquisition	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales de NVP-AAM077	Conditionnement de peur au son	GluN2A

Référence	Processus mnésique	Espèce	Région cérébrale	Manipulation	Paradigme	Implication fonctionnelle
Sotres-Bayon et al., 2009	Acquisition extinction	Rat	Toutes	Injections i.p. d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Sotres-Bayon et al., 2009	Acquisition extinction	Rat	Amygdale latérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	Pas d'effet
Sotres-Bayon et al., 2009	Acquisition extinction	Rat	Cortex préfrontal ventromédian	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Hu et al., 2009	Apprentissage/Rappel	Souris	Toutes	Injections i.p. de NVP-AAAM007	Piscine de Morris	GlUN2A
Wang et al., 2009	Reconsolidation (déstabilisation)	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Mathur et al., 2009	Acquisition/Rappel	Souris	Toutes	Injections i.p. de Ro25-6981	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2B
Ge et al., 2010	Consolidation	Rat	Hippocampe	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Piscine de Morris	Pas d'effet
Ge et al., 2010	Consolidation	Rat	Hippocampe	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Piscine de Morris	GlUN2B
Brigman et al., 2010	Apprentissage	Souris	Neurones pyramidaux du cortex et CA1	GlUN2B-/-	Piscine de Morris/Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Gao et al., 2010	Acquisition	Souris	Hippocampe	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2A
Gao et al., 2010	Acquisition	Souris	Hippocampe	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2A
Dalton et al., 2011	Acquisition	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro25-6981	Discrimination visuelle	Pas d'effet
Dalton et al., 2011	"Reversal"	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro25-6981	Discrimination visuelle	GlUN2B
Yin et al., 2011	Acquisition/Rappel	Souris	Cerveau antérieur	KIF17 -/-	Piscine de Morris/Reconnaissance du nouvel objet	GlUN2B
Yin et al., 2011	Acquisition/Rappel	Souris	Cerveau antérieur	KIF17 -/-	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2B
Corcoran et al., 2011	Rappel à court et long terme	Souris	Cortex rétrospécial	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2A
Andreescu et al., 2011	Acquisition	Souris	Toutes	GlUN2A-/- / GlUN2A AC/AC	Réflexe vestibulo-oculaire	GlUN2A
Lemay-Clermont et al., 2011	Apprentissage moteur	Souris	Striatum dorsal	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Rotarod	GlUN2A
Lemay-Clermont et al., 2011	Apprentissage moteur	Souris	Striatum dorsal	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Rotarod	Pas d'effet
Walker et al., 2012	Acquisition	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales de CP101,606	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Walker et al., 2012	Rappel	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales de CP101,606	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Dalton et al., 2012	Acquisition	Rat	Toutes	Injections i.p. de NVP-AAAM007	Conditionnement de peur au son	GlUN2A
Dalton et al., 2012	Acquisition	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro25-6981	Conditionnement de peur au contexte et au son	GlUN2A
Dalton et al., 2012	Extinction	Rat	Toutes	Injections i.p. de NVP-AAAM007	Conditionnement de peur au contexte et au son	Pas d'effet
Dalton et al., 2012	Extinction	Rat	Toutes	Injections i.p. de Ro25-6981	Conditionnement de peur au contexte et au son	GlUN2B
Descaiz et al., 2012	Acquisition	Souris	Cortex cingulaire antérieur	Injections intracérébrales de ifenprodil/Ro 25-6981	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2B
Corcoran et al., 2013	Extinction	Souris	Cortex rétrospécial	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Conditionnement de peur au contexte	Pas d'effet
Corcoran et al., 2013	Extinction	Souris	Cortex rétrospécial	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2B
Milton et al., 2013	Reconsolidation (restabilisation)	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Conditionnement de peur au son	GlUN2A
Milton et al., 2013	Reconsolidation (déstabilisation)	Rat	Amygdale basolatérale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Gilmartin et al., 2013	Acquisition	Rat	Cortex préfrontal médian prélimbique	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Conditionnement de peur au son	GlUN2A
Gilmartin et al., 2013	Acquisition	Rat	Cortex préfrontal médian prélimbique	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au son	GlUN2B
Leaderbrand et al., 2014	Extinction	Souris	Hippocampe	Injections intracérébrales de NVP-AAAM077	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2A
Leaderbrand et al., 2014	Extinction	Souris	Hippocampe	Injections intracérébrales de Ro 25-6981	Conditionnement de peur au contexte	GlUN2B
Kannagara et al., 2014	"Pattern separation"	Souris	Toutes	GlUN2A-/-	Tâche spatiale (voir détails)	GlUN2A
Zhang et al., 2015	Acquisition	Souris	Toutes	Injections i.p. de PEP-2	Conditionnement de peur au contexte et au son	GlUN2A
Lopez et al., 2015	Reconsolidation (déstabilisation)	Rat	Amygdale	Injections intracérébrales d'ifenprodil	Conditionnement de peur au son	GlUN2B

Cette méta-analyse nous renseigne plus en détails sur le rôle fonctionnel des récepteurs contenant la sous-unité GluN2A ou GluN2B dans les processus mnésiques. Il apparaît que les récepteurs contenant la sous-unité GluN2A sont nécessaires à l'acquisition de la mémoire dans un grand nombre de tâches comportementales spatiales et non spatiales. Concernant les récepteurs contenant la sous-unité GluN2B, il apparaît que ces derniers sont particulièrement impliqués dans de multiples formes de flexibilité comportementale. Ils semblent en effet nécessaires à la fois à l'acquisition de nouvelles informations (cf par exemple Rodriguez et al., 2001 ; Blair et al., 2005 ; Zhao et al., 2005 ; Walker et al., 2008 ; von Engelhardt et al., 2008 ; Descalzi et al., 2012 mais voir Dalton et al., 2011, 2012) et à la suppression ou à la modification de souvenirs déjà appris (cf par exemple Duffy et al., 2008 ; Higgins et al., 2003 ; Sotres-Bayon et al., 2007 ; Milton et al., 2013).

Par ailleurs, les études *in vitro* et *in vivo* durant le développement post-natal ont démontré que la balance entre GluN2A et GluN2B au niveau synaptique est un important corrélat moléculaire de l'état métaplastique des synapses. Or, un nombre croissant d'études révèle que les processus mnésiques sont associés à des changements dans la composition synaptique en sous-unités GluN2. Par exemple, l'apprentissage d'une tâche de discrimination olfactive augmente le seuil d'induction de la PLT dans le cortex piriforme après six jours d'apprentissage (Quinlan et al., 2004). Ce phénomène métaplastique est corrélé à une augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans ce même cortex. Sur la base de leurs propriétés respectives, la redistribution de ces sous-unités pourrait constituer un mécanisme de régulation de la plasticité pouvant aider à préserver la configuration des connexions synaptiques récemment mise en place suite à l'apprentissage, stabilisant ainsi les nouveaux souvenirs au niveau synaptique. Empêcher la mise en place de ce contrôle métaplastique pourrait ainsi perturber la persistance de la mémoire en diminuant sa résistance aux interférences potentiellement induites par l'encodage de nouveaux souvenirs.

Des variations similaires du ratio GluN2A/GluN2B ont aussi été obtenues suite à un conditionnement de peur (Zinebi et al., 2003 ; Wang et al., 2009). Cependant, savoir si la redistribution des sous-unités GluN2 au cours du délai de rétention est nécessaire à la formation de la mémoire à long-terme reste une question qui commence juste à être explorée (Lebel et al., 2006 ; Potier et al., 2015 ; Zhang et al., 2015). De plus, l'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux contenant les sous-unités GluN2A ou GluN2B au cours du processus de consolidation mnésique reste largement inexplorée. Ces questions sont au centre de ce travail de thèse.

V. OBJECTIFS GENERAUX

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre des études portant sur l'exploration des mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant la formation et le stockage de la mémoire à long terme. Comme cela a été mentionné dans cette introduction générale, les théories actuelles de la consolidation systémique s'accordent sur le fait qu'initialement encodés dans un réseau hippocampo-cortical, les nouveaux souvenirs déclaratifs deviennent progressivement de plus en plus dépendants d'un réseau distribué de neurones corticaux au fur et à mesure qu'ils mûrissent et se stabilisent au cours du temps. Alors que l'implication de l'HPC dans la formation des nouveaux souvenirs est au centre de nombreuses études, les mécanismes cellulaires et moléculaires grâce auxquels ces souvenirs sont stabilisés et stockés à long terme au niveau cortical ont suscité moins d'intérêt et les données actuelles méritent d'être davantage étayées.

Notre étude a été initiée par le postulat théorique qu'un stockage mnésique efficace au niveau cortical reposerait sur un équilibre régulé entre plasticité et stabilité des connexions synaptiques impliquées dans le stockage à long-terme des souvenirs. En effet, le réseau de neurones impliqué doit être suffisamment plastique pour permettre l'encodage d'un nouveau souvenir mais suffisamment stable pour permettre son maintien à long terme et limiter les risques d'interférence et d'oubli lors de l'encodage de futurs souvenirs.

Parmi l'ensemble des acteurs cellulaires pouvant être impliqués dans la régulation de ces processus, notre étude s'est focalisée sur les récepteurs NMDA et en particulier sur ceux contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B, principales sous-unités GluN2 exprimées dans le néocortex adulte.

De par leurs propriétés uniques dans l'induction et la régulation de différentes formes de plasticité synaptique, ces récepteurs glutamatergiques présentent un intérêt majeur pour la compréhension des mécanismes synaptiques nécessaires à la consolidation systémique de la mémoire. En effet, pour résumer très succinctement les propriétés respectives des sous-unités GluN2A et GluN2B (cf ci-dessus), on peut dire qu'en comparaison des récepteurs contenant les sous-unités GluN2A, ceux contenant les sous-unités GluN2B facilitent davantage l'induction de mécanismes de plasticité synaptique (fonctionnelle et structurale) en réponse à des stimuli de plus faible intensité et plus distants dans le temps. A l'inverse, les GluN2A tendent à restreindre les changements synaptiques en réponse à des stimuli de même nature. Ainsi, sur la base de leur capacité associative distincte et de leur aptitude à moduler les seuils d'induction de la plasticité synaptique, nous avons fait l'hypothèse que la consolidation systémique s'accompagnerait d'une redistribution synaptique des sous-unités GluN2A et GluN2B, se traduisant par une augmentation du

ratio GluN2A/GluN2B nécessaire à la stabilisation de la mémoire à long terme au sein des réseaux corticaux.

Plus généralement notre étude vise à apporter un éclairage nouveau 1) sur la façon dont les réseaux de neurones corticaux seraient sélectionnés dès l'encodage des nouveaux souvenirs grâce au processus d'étiquetage, 2) comment la configuration des connexions synaptiques acquises au sein de ces réseaux durant la consolidation mnésique pourrait être stabilisée pour assurer leur stockage à long terme et 3) comment leur déstabilisation pourrait fournir une explication cellulaire au processus d'oubli.

A. Chapitre I : Caractérisation et optimisation de la tâche de transmission sociale de préférence alimentaire pour l'étude de la consolidation mnésique chez le rat

L'ensemble des études comportementales présenté dans ce travail de thèse a été réalisé en utilisant un protocole de transmission sociale de préférence alimentaire (TSPA) chez le rat adulte. Ce paradigme comportemental offre plusieurs avantages à l'étude de la consolidation mnésique. Cette tâche 1) induit une mémoire robuste et durable, 2) permet une phase d'acquisition ponctuelle sans répétition des essais d'apprentissage afin d'offrir un contrôle rigoureux de la cinétique d'induction des mécanismes post-apprentissages impliqués dans la consolidation systémique, 3) offre une modalité associative qui nécessite l'implication fonctionnelle de régions hippocampiques et corticales, 4) est de nature non spatiale afin de restreindre l'implication fonctionnelle de l'hippocampe au processus de consolidation et non à la navigation spatiale. Cependant, cette tâche reste complexe car elle possède une large gamme de paramètres, chacun d'eux pouvant influencer la dynamique des échanges hippocampo-corticaux ou la persistance de la mémoire olfactive associative générée. Un de nos premiers objectifs a donc été de caractériser plus en détails cette tâche comportementale afin de sélectionner la configuration la plus adaptée à notre étude. Nous sommes partis du postulat que des variations dans le comportement social des rats durant l'apprentissage pourraient fortement influencer la force initiale de la mémoire olfactive associative et sa persistance au cours du temps. Nous avons donc effectué une série d'expériences visant à mesurer l'impact de la modulation de la dynamique et de l'efficacité des échanges sociaux entre les rats durant l'apprentissage sur les performances mnésiques à différents délais après l'acquisition.

B. Chapitre II : Evolution temporelle de la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B au sein des réseaux corticaux au cours de la consolidation systémique et du processus d'oubli

Selon certains modèles, la contribution de l'HPC serait d'orchestrer la consolidation mnésique au niveau cortical en induisant des changements graduels de l'organisation des réseaux neuronaux corticaux aboutissant au renforcement de la connectivité cortico-corticale garant de la stabilisation et du stockage à long terme des traces mnésiques (McClelland et al., 1995 ; Squire et Alvarez, 1995). Cette réorganisation corticale nécessiterait des réactivations répétées et synchrones des assemblées neuronales corticales dans la période qui suit l'acquisition (Marr 1970, 1971 ; Buzsaki, 1989 ; Wittenberg & Tsien, 2002). Sur la base d'études antérieures, effectuées principalement dans des conditions *in vitro* et *ex vivo*, nous avons fait l'hypothèse que l'élévation de l'activité synaptique au sein des réseaux corticaux au cours du dialogue hippocampo-cortical augmenterait le ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes post-synaptiques du cortex orbitofrontal (COF), identifié comme un « nœud critique » dans le stockage des informations olfactives associatives générées dans la tâche de TSPA (Lesburguères et al., 2011). Les expériences présentées dans ce chapitre ont donc eu pour objectifs 1) d'évaluer les variations du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF à différents délais suite à l'apprentissage puis 2) d'examiner la contribution de l'HPC à la modulation du ratio GluN2A/GluN2B au sein des neurones du COF au cours de la période précoce post-apprentissage abritant le dialogue hippocampo-cortical ou durant la période tardive caractérisée par une maturation cortico-corticale de l'engramme, indépendante de l'HPC.

C. Chapitre III : Implication fonctionnelle de la redistribution post-synaptique des récepteurs corticaux contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B au cours de la consolidation systémique et du processus d'oubli

Dans ce chapitre, nous avons voulu évaluer si les variations du ratio GluN2A/GluN2B observées dans les membranes post-synaptiques du COF durant l'intervalle de rétention sont nécessaires à la stabilisation des traces mnésiques à l'échelle systémique et à leur oubli au cours du temps. Deux stratégies différentes ont été utilisées. La première a consisté à inactiver pharmacologiquement les récepteurs NMDA contenant les sous-unités GluN2A (GluN2A-RNMDA) ou ceux contenant les sous-unités GluN2B (GluN2B-RNMDA) dans le COF durant une période précoce ou tardive de l'intervalle

de rétention, à l'aide de modulateurs allostériques négatifs sélectifs de chacun de ces deux sous-types de récepteurs NMDA. Sur la base des résultats de l'analyse des variations du ratio GluN2A/GluN2B, nous avons fait l'hypothèse d'une implication fonctionnelle différentielle entre les GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA selon la période d'inactivation. D'autre part, la seconde stratégie a consisté à bloquer artificiellement la dynamique de surface des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA entre les espaces synaptiques et extra-synaptique des neurones glutamatergiques du COF via l'injection intra-corticale d'anticorps spécifiques dirigés contre chacun des deux sous-type de récepteurs NMDA, soit durant la période post-apprentissage abritant le processus de consolidation de la mémoire ou pendant la période conduisant à l'oubli progressif de cette mémoire. Nous avons fait l'hypothèse que bloquer la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA vers l'extérieur de la synapse dans les jours suivant l'acquisition empêcherait la stabilisation des traces mnésiques dans le COF et conduirait à un oubli accéléré. En revanche, bloquer leur diffusion latérale vers le compartiment synaptique une fois ces traces mnésiques consolidées pourrait ralentir leur oubli.

D. Chapitre IV : Implication fonctionnelle des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le processus d'étiquetage cortical nécessaire à la formation de la mémoire à long terme

Dans ce chapitre, nous avons souhaité évaluer la contribution fonctionnelle des sous-unités GluN2A et GluN2B au cours de l'étiquetage cortical, un processus indispensable à l'initiation du dialogue hippocampo-cortical nécessaire à la stabilisation de la mémoire à long terme au sein des réseaux corticaux. Nous avons fait l'hypothèse que les synapses du COF enrichies en sous-unités GluN2B pourraient constituer un substrat idéal aux phénomènes de plasticité synaptique sous-tendant le processus d'étiquetage au sein des réseaux corticaux. Afin d'obtenir un élément de réponse, nos expériences ont consisté à inactiver pharmacologiquement les GluN2A-RNMDA et les GluN2B-RNMDA corticaux au moment de l'apprentissage et mesurer les effets de cette inactivation sur la formation de la mémoire à long terme. D'autre part, nous avons évalué l'implication fonctionnelle de l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII au moment du processus d'étiquetage cortical sur la formation de la mémoire à long terme. La stabilité du complexe GluN2B/CaMKII observé *in vitro* ou *ex vivo* pourrait constituer un mécanisme cellulaire permettant le maintien de l'étiquetage cortical nécessaire à l'initiation du dialogue hippocampo-cortical *in vivo*.

E. Chapitre V : Effets de la modulation du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B sur la cinétique du dialogue hippocampo-cortical et la formation de la mémoire à long terme

Selon certains modèles théoriques, le processus de consolidation mnésique permettant l'assimilation de nouvelles informations au niveau cortical serait lent afin de réduire le risque d'interférer avec le stockage de souvenirs plus anciens générés lors d'expériences antérieures (McClelland et al., 1995 ; Frankland and Bontempi, 2005). Dès-lors, en considérant que le processus de consolidation systémique reflète la maturation du réseau néocortical permettant d'augmenter la connectivité cortico-corticale, nous avons formulé l'hypothèse que certaines interventions participant à accélérer la maturation du réseau cortical, telle une augmentation rapide du ratio GluN2A/GluN2B, pourraient également accélérer la stabilisation des traces mnésiques dans ce réseau, et ce même en l'absence d'un schéma cortical pré-établi. L'objectif principal des expériences présentées dans ce dernier chapitre a donc été d'évaluer comment la modulation physiologique du ratio GluN2A/GluN2B au sein des membranes post-synaptiques du COF pouvait influencer la persistance de la mémoire olfactive associative à long terme et la cinétique du dialogue hippocampo-cortical nécessaire à la stabilisation de cette mémoire dans les réseaux corticaux. Nous avons tout d'abord évalué si la réactivation de la trace mnésique durant l'intervalle de rétention permettrait de maintenir un ratio GluN2A/GluN2B élevé, favorisant ainsi la stabilité de la trace mnésique au niveau cortical et la persistance de la mémoire ancienne. Dans un second temps, en considérant toujours que l'état du ratio GluN2A/GluN2B est corrélé positivement au niveau d'activité au sein des réseaux corticaux, nous avons développé un protocole permettant d'augmenter précocement l'activité neuronale dans le COF en soumettant chaque rat à plusieurs sessions d'apprentissage. Nous avons alors examiné l'effet de cet encodage renforcé 1) sur les performances mnésiques des animaux à court et long terme ; 2) sur la redistribution post-synaptique des sous-unités GluN2A et GluN2B ; 3) sur l'implication fonctionnelle de cette redistribution ; 4) et sur la cinétique du dialogue hippocampo-cortical en inactivant pharmacologiquement l'HPC ou le COF au moment du rappel de la mémoire acquise à différents délais après l'acquisition de la TSPA. Nous avons postulé que l'augmentation précoce et accrue de l'activité au sein des réseaux corticaux pourrait induire une augmentation plus rapide du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF, associée à une stabilisation accélérée des traces mnésiques au sein de ce cortex.



**Caractérisation et optimisation de la
tâche de transmission sociale de la
préférence alimentaire pour l'étude de
la consolidation mnésique chez le rat**

I. INTRODUCTION

L'ensemble des études comportementales présentées dans ce travail de thèse a été réalisé en utilisant la tâche de transmission sociale de préférence alimentaire (TSPA) chez le rat adulte. En comparaison de la majorité des paradigmes modélisant la cognition chez l'animal, cette tâche utilise un comportement inné chez le rongeur qui met en jeu la formation et l'expression d'une mémoire olfactive associative « naturelle ». De plus, ce test offre de nombreux avantages pour l'étude de la mémoire à long terme chez le rongeur.

A. Principes éthologiques de la tâche de TSPA

Les rongeurs présentent une néophobie naturelle face à de la nourriture inconnue. En milieu naturel, identifier une nouvelle nourriture peut passer par l'expérience personnelle d'un individu : la sentir, la goûter. Cette préexposition va permettre de diminuer la néophobie naturelle des rongeurs à l'encontre des nouvelles nourritures présentes dans leur environnement (Posadas-Andrews and Roper, 1983). Cependant une simple exposition à l'odeur de la nouvelle nourriture ne suffit pas à augmenter durablement la consommation de cette nourriture. Il s'agit là d'un effet éphémère et peu robuste de la familiarité.

Une autre façon d'acquérir des informations sur la comestibilité d'une nouvelle nourriture passe également par des interactions entre les membres d'une même espèce qui échangent et se transmettent des connaissances concernant la prise alimentaire. Les congénères s'avèrent être des sources d'informations cruciales et renseignent les autres rats sur l'endroit où se trouve la nourriture, le type de nourriture qui peut être consommé et les substances toxiques à éviter. Dès les années 80, les études de Galef chez le rongeur ont révélé l'importance de l'interaction sociale pour la transmission de préférence alimentaire entre les membres d'une même colonie. Il a montré que ces interactions sociales chez les rats de la lignée Norway vont conduire à l'apparition d'une préférence alimentaire durable pour la nourriture qui a été consommée par les autres congénères.

1. Principe de la tâche

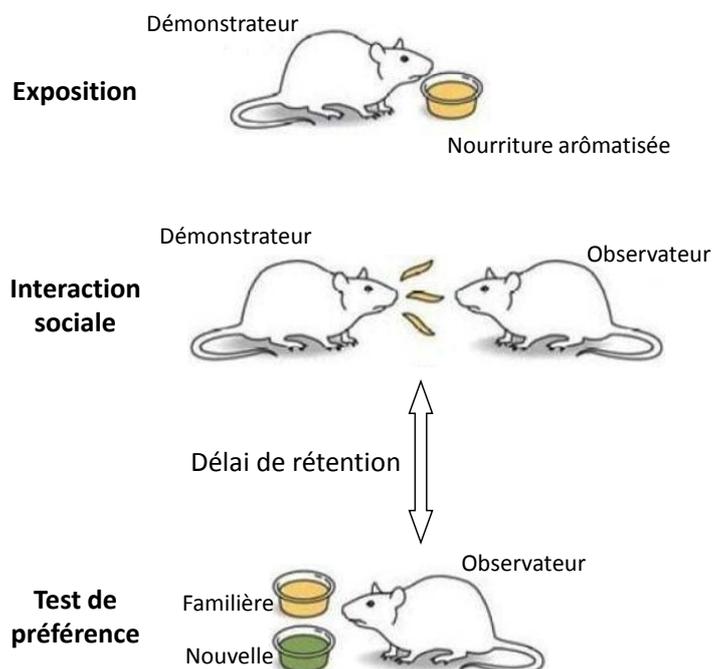


Figure I.1 : Principe du test de transmission sociale de la préférence alimentaire. Adapté de Lesburguères et al., 2011

Exposition : un rat « démonstrateur » est exposé à une nourriture aromatisée (par exemple au cumin)

Interaction sociale : le démonstrateur venant de consommer la nourriture aromatisée, interagit avec un rat dit « observateur ». Ce dernier forme une association entre le disulfure de carbone (CS₂) et l'odeur de la nourriture, tous deux présents dans l'haleine du démonstrateur.

Test de préférence : après un certain délai de rétention, l'observateur est soumis à un choix entre une nourriture nouvelle (par exemple aromatisée au thym) et la nourriture correspondant à celle que le démonstrateur a consommée. Le rat observateur va alors exprimer la mémoire de l'association précédente en consommant préférentiellement la nourriture dont il a senti l'odeur dans l'haleine du démonstrateur, car celle-ci est considérée comme comestible et sans danger. La performance mnésique des rats observateurs sera ainsi exprimée en pourcentage de nourriture familière consommée.

2. Quelques caractéristiques

Pendant une vingtaine d'années, Galef et ses collaborateurs ont cherché à définir les différents critères qui supportent cet échange particulier d'informations sur la prise alimentaire. Nous en résumerons ici les principaux paramètres révélés par leurs nombreuses études :

- la simple exposition à la nourriture aromatisée n'induit aucune préférence durable (Galef, 2002, 2003; Galef et al., 1983) l'interaction sociale avec un autre congénère est essentielle pour le développement d'une préférence alimentaire durable (Galef and Beck, 1985);
- la préférence alimentaire nécessite la présence simultanée d'un congénère et de l'odeur de la nourriture aromatisée (Galef, 2002, 2003; Galef et al., 1983);
- le changement de comportement alimentaire de l'observateur après l'interaction est influencé par la formation d'une association entre des composés chimiques volatiles à base de soufre (le carbonyle de sulfure (COS) et le disulfure de carbone (CS₂)) et l'odeur de la nourriture, tous deux portés par l'haleine du démonstrateur (Galef et al., 1988);
- une interaction d'une durée variant entre 15 et 30 minutes assure la persistance de la préférence alimentaire pendant plusieurs jours (Galef and Stein, 1985) ;
- une seule interaction, même si elle est répétée plusieurs jours d'affilés, a beaucoup moins d'effet sur le maintien de la préférence dans le temps que plusieurs interactions journalières (Galef and Whiskin, 1998)
- la longévité de la préférence alimentaire est améliorée en augmentant le nombre d'interactions avec le même congénère plus que le nombre de démonstrateurs au cours d'une seule interaction (Galef and Whiskin, 1998) ;
- la préférence alimentaire est plus durable lorsque le démonstrateur a atteint l'âge adulte (Galef and Whiskin, 1998);
- la transmission de la préférence alimentaire est plus efficace et plus durable lorsque l'observateur interagit avec un démonstrateur inconnu plutôt qu'un démonstrateur familial (Galef and Whiskin, 2008) ;
- le contexte spatial de l'apprentissage de la TSPA apparaît négligeable face à l'importance du contexte social (Strupp and Levitsky, 1984) ;
- la préférence alimentaire des rats observateurs ne va se maintenir que si l'information portée par le démonstrateur concerne de la nourriture nouvelle (Galef and Whiskin, 2000) (Galef and Whiskin, 2000).

B. Pertinence de la TSPA pour l'étude de la formation de la mémoire à long terme

Cette tâche appétitive est basée sur le fait que les rongeurs développent une préférence naturelle pour la nourriture qu'ils ont récemment sentie dans l'haleine d'autres congénères et elle offre plusieurs avantages pour l'étude des mécanismes sous-tendant la formation de la mémoire à long terme. Elle requiert un apprentissage rapide, se réalise en un seul essai (une interaction de quelques minutes), et va produire un changement robuste dans le comportement alimentaire de l'observateur.

Au plan mnésique, le paradigme de la TSPA offre des caractéristiques qui appartiennent à la mémoire déclarative ou relationnelle (Alvarez et al., 2001; Bunsey and Eichenbaum, 1995; Cohen and Eichenbaum, 1991; Squire, 1992). Ce type de mémoire requiert la mise en relations de différents stimuli distincts et l'expression flexible de la mémoire de ces associations dans des situations nouvelles (Eichenbaum, 2000). De façon similaire, la tâche de TSPA implique : 1) la formation d'une association spécifique entre deux stimuli (disulfure de carbone + odeur de la nourriture) présents dans l'haleine du démonstrateur, association qui informe l'animal que la nourriture est comestible et sans danger, et 2) l'expression de cette association dans une situation de choix entre deux nourritures et dans un contexte spatial qui est complètement différent de la situation d'apprentissage initiale tributaire d'un contexte social. De plus, les rats observateurs doivent recourir à une utilisation flexible de l'information acquise car un seul des stimuli de l'association mémorisée (disulfure de carbone + odeur de la nourriture) est présent au moment du test (i.e. l'odeur de la nourriture consommée par le démonstrateur sans disulfure de carbone).

Enfin, cette tâche non spatiale, facilement acquise en une seule session de quelques minutes permet de maîtriser facilement l'information à mémoriser et de dissocier aisément la phase d'encodage de la période de rétention pour laquelle la mémoire peut être testée immédiatement ou à différents délais après l'interaction, ce qui en fait une tâche idéale pour l'étude de la consolidation de la mémoire à long terme.

C. Objectifs

Le premier objectif de ce travail de thèse a été de valider l'utilisation de la tâche de TSPA pour l'étude de la formation de la mémoire à long terme chez le rat dans nos conditions expérimentales (Expérience 1 et 2). Dans un second temps, afin de caractériser plus en détails et de mieux optimiser cette tâche, nous avons examiné si la dynamique des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur pouvait influencer la rétention de la mémoire olfactive associative (Expérience 3 et 4). Des variations dans le comportement social du rat observateur ou du rat démonstrateur durant l'interaction sociale peuvent fortement influencer les performances mnésiques évaluées lors du test de préférence alimentaire. En effet, l'acquisition de la mémoire olfactive associative par l'observateur dépend premièrement de la quantité d'information olfactive fournie par le démonstrateur en sentant son haleine. Ainsi, nous avons postulé que le nombre et la durée des contacts « nez-à-nez » entre les deux rats pourraient constituer des facteurs modulateurs importants de la persistance de la mémoire olfactive associative au cours du temps.

II. CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES

A. Expérience 1 : Validation comportementale de la mémoire olfactive associative induite par la TSPA

1. Matériels et méthodes

a) Animaux

Les expériences présentées dans cette thèse ont été réalisées sur des rats mâles adultes âgés entre 2 et 5 mois, de la lignée Sprague-Dawley, provenant du centre d'élevage Janvier (Le Genest-St-Isle). A leur arrivée au laboratoire, les animaux ont été placés en cages collectives (2 ou 3 rats par cage) et ont disposé de nourriture et d'eau *ad libitum* dans une animalerie climatisée (22-23°C) équipée d'un cycle artificiel lumière-obscureté de 12 heures (7h00-19h00). Une semaine plus tard, les rats ont été placés en cages individuelles. Après une nouvelle semaine d'adaptation, les rats ont été manipulés quotidiennement par l'expérimentateur (à raison de 5 minutes en moyenne par animal pendant 7 jours). Toutes les expériences ont débuté au minimum après ces deux semaines

d'habituation, et ont eu lieu pendant la phase éclairée du cycle en accord avec les Directives européennes sur les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire (2010/63/UE).

b) Procédure comportementale de la transmission sociale de préférence alimentaire

La tâche de TSPA a été réalisée dans l'enceinte de l'animalerie, dans les cages individuelles d'élevage des animaux. Le test de TSPA exige des animaux une consommation alimentaire. Les rats ont donc été soumis à une privation alimentaire partielle afin d'augmenter leur motivation. Ils ont d'abord été pesés afin de déterminer leur poids de référence avant la privation, puis la quantité de nourriture disponible a été progressivement réduite afin de les ramener à 85% de leur poids de référence. Une ration adéquate (environ 15 g) a ensuite été distribuée quotidiennement afin de maintenir un niveau de privation constant chez tous les animaux. La procédure comportementale peut se diviser en trois étapes principales :

(1) Durant la phase de privation alimentaire, tous les animaux sont habitués à se nourrir dans des ramequins en porcelaine blanche (H : 6 cm, Ø : 10 cm) contenant la nourriture d'élevage en poudre. Les rats démonstrateurs sont partiellement privés de nourriture 5 jours avant l'interaction. Dès le deuxième jour, ils sont habitués, lors de séances quotidiennes de prise de nourriture de 30 minutes, à consommer de la nourriture en poudre aromatisée au cumin (0,5 %, i.e. 0,5 g de cumin mélangé à 99,5 g de nourriture nature), le dernier jour étant le jour de l'interaction. Parallèlement, les rats observateurs sont aussi privés de nourriture et habitués à se nourrir dans deux ramequins remplis de nourriture en poudre non aromatisée 3 jours avant l'interaction, à raison de 20 minutes par jour.

(2) Le jour de l'interaction sociale, un rat démonstrateur est exposé pendant 30 minutes à la nourriture aromatisée au cumin, puis est placé immédiatement dans la cage d'élevage d'un rat observateur. Dans la procédure testée initialement, les deux rats sont d'abord maintenus séparés l'un de l'autre par une grille durant 20 minutes. Puis la grille est retirée, permettant aux deux animaux d'interagir plus librement pendant encore 10 minutes. Après 30 minutes d'interaction, le rat démonstrateur est retiré de la cage du rat observateur.

(3) Les rats observateurs sont remis en phase de privation alimentaire 3 jours avant le test de préférence. Lors de ce test, on place dans la cage des rats observateurs deux types de nourritures, l'une familière, aromatisée au cumin (0,5 %), l'autre nouvelle, aromatisée au thym (0,75 %). La

position dans la cage (gauche ou droite) du ramequin de nourriture familière est contrebalancée entre les animaux de chaque groupe. Après 20 minutes, les coupelles de nourriture sont retirées et pesées. L'indice de performance mnésique (reflet de l'efficacité de l'apprentissage) est exprimé en pourcentage de nourriture familière consommée (cumin), calculé selon la formule : (quantité de nourriture familière consommée / quantité totale de nourriture consommée) × 100.

c) Plan expérimental

Nous avons séparé les animaux en deux groupes : un groupe « expérimental » (EXP) et un groupe témoin « préférence alimentaire innée » (PAI). Dans chacun d'eux, les rats ont été soumis au test de préférence entre le cumin et le thym 1 jour, 30 jours ou 60 jours après l'interaction sociale. Les animaux des groupes EXP ont été soumis à une interaction sociale de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cumin. Les groupes témoins PAI ont quant à eux interagis avec un démonstrateur nourri avec de la nourriture non aromatisée. Ces groupes nous ont permis d'évaluer le niveau de préférence alimentaire innée pour le thym au moment du test de rétention aux différents délais. Les effectifs des différents groupes sont présentés dans le tableau suivant :

	J1	J30	J60
EXP	n=12	n=16	n=16
PAI	n=12	n=6	n=12

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 1

d) Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 5.00 (<http://www.graphpad.com>). De façon récurrente, « n » désigne le nombre de rats testés. Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentage de nourriture au cumin consommée et en quantité totale de nourriture consommée (± écart standard à la moyenne (ESM) pour chaque moyenne exprimée). Une ANOVA à deux facteurs (groupe : EXP vs PAI ; délai : J1 vs J30 vs J60) a été effectuée suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

2. Résultats

a) *Evaluation de la préférence alimentaire à court et à long terme (Figure I.2A)*

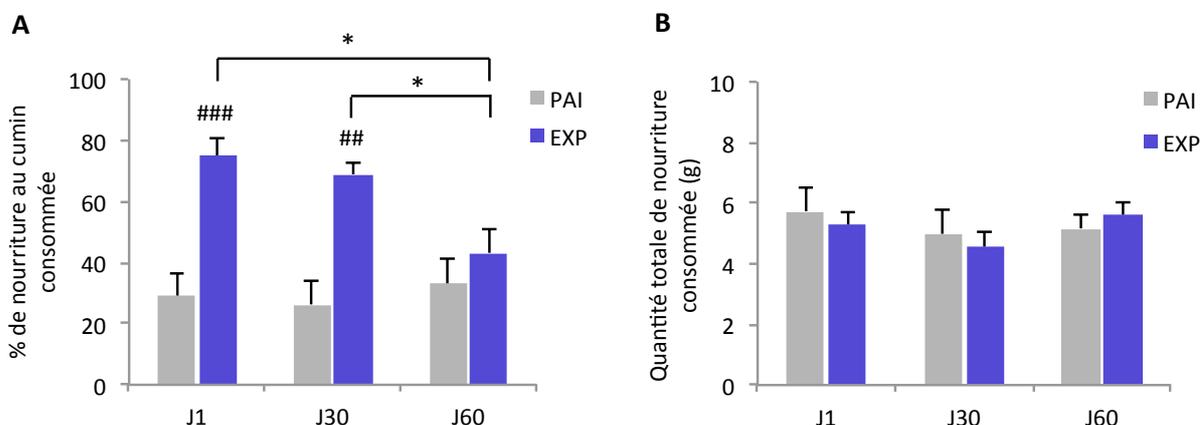


Figure I.2 : Résultats comportementaux des groupes témoins (PAI) et des groupes expérimentaux (EXP) 1, 30 et 60 jours après une interaction sociale avec un rat ayant consommé une nourriture non aromatisée (groupes PAI) ou aromatisée avec du cumin (groupes EXP). (A) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme). ###p<0,01 ; ###p<0,001 versus PAI ; *p<0,05 entre les groupes indiqués.

Une ANOVA à deux facteurs (groupe x délai) révèle un effet du groupe ($F_{(1, 68)} = 30,75$, $p < 0,0001$), du délai ($F_{(2, 68)} = 8,256$, $p < 0,05$) et de l'interaction groupe x délai ($F_{(2, 68)} = 4,176$, $p < 0,05$). Un jour après l'interaction sociale, les rats du groupe PAI montrent une préférence alimentaire pour le thym qui reste stable au cours du temps. L'interaction avec un démonstrateur ayant consommé du cumin (groupe EXP) inverse cette préférence mesurée 1 jour ($p < 0,001$ versus PAI) ou 30 jours ($p < 0,01$ versus PAI) après l'apprentissage. La mémoire formée lors de l'interaction sociale, apparaît donc robuste et durable, car insensible à l'oubli sur la période testée de 30 jours. En revanche, la performance mnésique des rats du groupe EXP testés 60 jours après l'interaction n'est pas différente ($p > 0,05$ versus PAI) de celle exprimée par les rats du groupe PAI (préférant le thym), révélant un oubli significatif de la mémoire olfactive associative à ce délai de 60 jours.

b) *Evaluation de la quantité totale de nourriture consommée (Figure I.2B)*

Aucune différence significative dans la quantité totale de nourriture consommée lors des tests de rétention n'a été observée entre les groupes (ANOVA : interaction groupe x délai : $F_{(2, 68)} =$

0,4742 , $p > 0,05$). Les différences de performances mnésiques observées entre les groupes ne sont donc pas la conséquence de disparités dans le niveau de motivation des animaux testés.

3. Conclusion

Dans le cadre de cette thèse nous avons choisi d'utiliser principalement la paire d'odeur thym/cumin car les rats Sprague-Dawley préfèrent naturellement le thym au cumin. En effet, nous montrons dans cette première expérience que les rats témoins PAI consomment environ 80% de thym contre 20 % de cumin. Cette préférence innée s'inverse après interaction avec un rat démonstrateur ayant consommé du cumin. Ainsi lors du test de rétention, les rats observateurs consomment jusqu'à 80% de cumin. L'utilisation de cette paire biaisée nous a donc permis d'abaisser le niveau de « hasard expérimental » à 20% et donc d'accroître la possibilité de détecter des différences entre les performances mnésiques des groupes étudiés.

De plus, dans nos conditions expérimentales, la procédure de TSPA conduit bien à la mise en place d'un comportement de préférence alimentaire pour une nourriture qui a été initialement consommée par le démonstrateur. En effet, la TSPA génère une mémoire robuste et durable puisque la préférence alimentaire persiste sur une période minimale de 30 jours. Par ailleurs, cette mémoire apparaît sensible à l'oubli observé 60 jours après l'apprentissage. Ces premiers résultats nous ont donc permis de confirmer la validité de ce test et de nos conditions expérimentales pour l'étude de la consolidation systémique et du processus d'oubli.

Comme mentionné précédemment, la tâche de TSPA implique la formation d'une association entre le disulfure de carbone et l'odeur de la nourriture présents dans l'haleine du démonstrateur, association qui informe l'animal que la nourriture est comestible et sans danger. Ainsi la mémoire générée peut être divisée en une composante sociale tributaire de l'interaction avec le rat démonstrateur et en une composante olfactive conditionnée par l'exposition à l'odeur de la nourriture dans l'haleine du démonstrateur. Comme le confirme l'analyse des performances des groupes témoins PAI, la seule composante sociale, en absence de composante olfactive, ne suffit pas à générer une mémoire olfactive associative. Dans l'expérience suivante nous avons évalué si la simple exposition à l'odeur de cumin, donc en l'absence de composante sociale, est suffisante pour induire une mémoire durable.

B. Expérience 2 : Effet de la dissociation des composantes sociale et olfactive inhérentes à la tâche de TSPA sur la formation de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

Nous avons généré un groupe « expérimental » (EXP), un groupe « préférence alimentaire innée » (PAI) et un groupe « contrôle odeur » (CO). Dans chacun de ces trois groupes, les rats ont été soumis au test de préférence entre le cumin et le thym à J1 ou J30. Les animaux des groupes EXP ont été soumis à une interaction sociale de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cumin. Les groupes PAI ont interagi durant 30 min avec un démonstrateur nourri avec de la nourriture non aromatisée. Enfin, les animaux des groupes CO ont été simplement exposés à l'odeur du cumin durant 30 min, en l'absence de rat démonstrateur. Les effectifs des différents groupes sont présentés dans le tableau suivant :

	J1	J30
EXP	n=12	n=12
PAI	n=12	n=8
CO	n=10	n=10

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 2

b) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM) et en quantité totale de nourriture consommée (\pm ESM). Une ANOVA à deux facteurs (groupe : EXP vs PAI vs CO ; délai : J1 vs J30) a été effectuée suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

2. Résultats

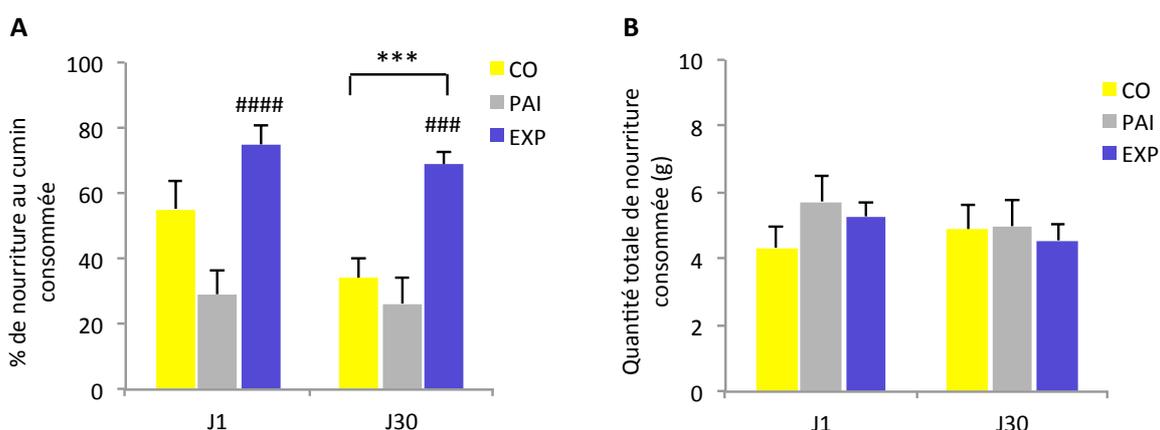


Figure 1.3 : Résultats comportementaux des groupes (CO), (PAI) et (EXP) 1 et 30 jours après la simple exposition à l'odeur de cumin (CO), une interaction sociale avec un rat ayant consommé une nourriture non aromatisée (PAI) ou aromatisée avec du cumin (EXP). (A) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme). #### $p < 0,0001$; ### $p < 0,001$ versus PAI ; *** $p < 0,001$ entre les groupes indiqués.

Concernant la part de cumin consommée, une ANOVA à deux facteurs (groupe x délai) révèle un effet du groupe ($F_{(2, 60)} = 25,36$, $p < 0,0001$) et de l'interaction groupe x délai ($F_{(2, 60)} = 11,281$, $p < 0,05$) mais pas du délai seul ($F_{(1, 60)} = 2,705$, $p > 0,05$). Seule une interaction sociale avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cumin (groupe EXP) permet d'inverser durablement la préférence alimentaire pour le thym exprimée par les groupes PAI à court et à long terme. Les animaux seulement exposés à l'odeur de cumin (groupe CO) tendent à inverser leur préférence alimentaire à court terme (testée à J1) malgré l'absence de différence significative en comparaison des performances exprimées par les rats des groupes PAI ou EXP. En revanche, cette mémoire pour l'odeur du cumin semble moins marquée, et surtout ne persiste pas à long terme (testée à 30 jours) ($p > 0,05$ versus PAI), contrairement à la mémoire générée dans le groupe EXP ($p < 0,001$ versus PAI).

Par ailleurs, la quantité totale de nourriture consommée reste similaire entre les groupes (ANOVA : interaction groupe x délai : $F_{(2, 60)} = 0,7501$, $p > 0,05$), révélant que les rats présentaient le même niveau de motivation au cours du test de rappel.

3. Conclusion

Cette expérience nous a permis de vérifier que la création d'une mémoire olfactive associative durable nécessite une interaction sociale avec un démonstrateur ayant consommé une

nourriture aromatisée, seule condition garante de la création d'une association entre les composantes sociale et olfactive de la tâche de TSPA.

Parce que l'acquisition de la mémoire olfactive associative par le rat observateur dépend en grande partie de la quantité d'information olfactive fournie par l'haleine du démonstrateur, nous avons postulé que le nombre et la durée des contacts « nez-à-nez » entre les deux rats pourraient constituer des facteurs modulateurs importants de la persistance de la mémoire olfactive associative au cours du temps. Cette hypothèse est testée dans les expériences suivantes.

C. Expérience 3 : Effets de la modulation des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur sur la persistance de la mémoire olfactive associative au cours du temps

1. Matériels et méthodes

a) Système de détection vidéo

Afin d'explorer comment la dynamique des interactions entre le rat observateur et le rat démonstrateur au cours de l'acquisition influence les performances mnésiques à long terme du rat observateur durant le test de préférence, nous avons équipé le dispositif comportemental d'un système d'enregistrement vidéo (EthoVision XT5, Noldus Information Technology) permettant de détecter et de suivre simultanément la position du rat observateur et du rat démonstrateur durant l'interaction sociale. L'utilisation du module « *Social interaction* » nous a permis de quantifier les contacts « nez-à-nez » entre les deux rats au sein de la même cage grâce à la détection de marques colorée apposées entre les deux yeux de chaque rat, chacun étant identifié séparément de son congénère grâce à une couleur distincte (Figure I.4). Après détection, le logiciel extrait la position des deux marques colorées dans chaque image afin d'établir en temps réel leur proximité respective. Cette mesure de proximité nous a ainsi permis d'évaluer la fréquence et la durée des contacts « nez-à-nez » entre les deux rats durant l'interaction sociale.

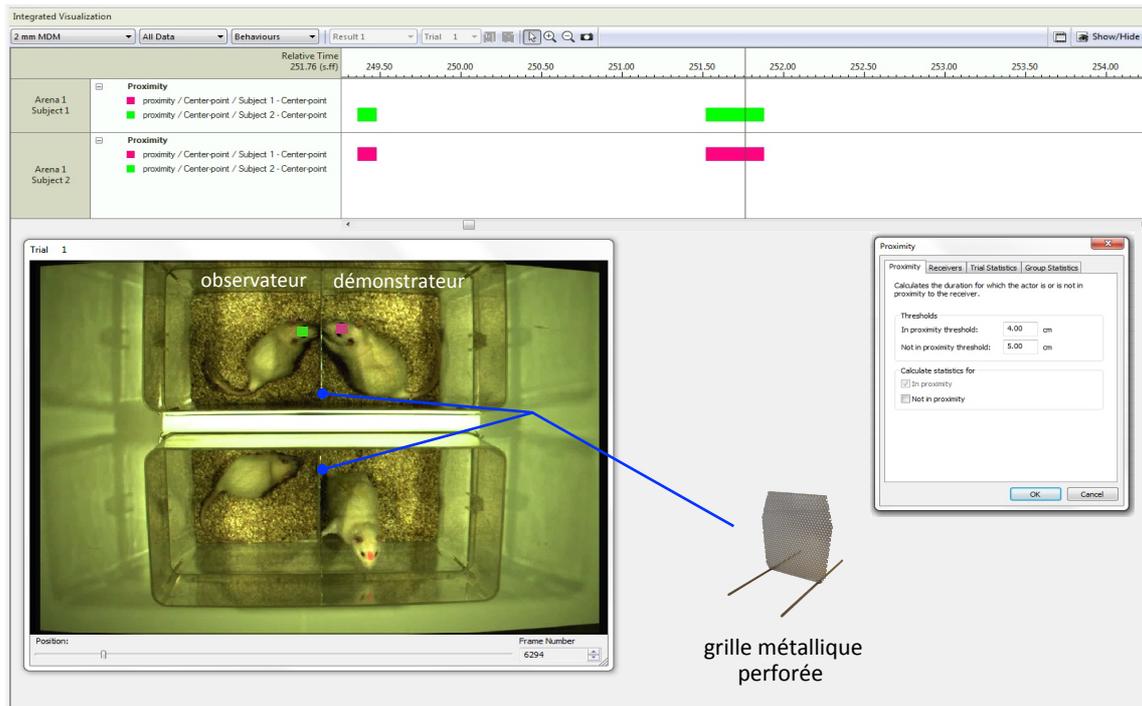


Figure I.4 : Montage photographique illustrant la détection par le logiciel EthoVision XT de la proximité des deux marques colorées portées par chacun des deux rats durant l'interaction sociale. Une grille métallique perforée sépare physiquement les deux rats, ce qui permet de moduler la dynamique de leurs interactions.

b) Méthode de modulation des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur

Afin de moduler la dynamique et l'efficacité des échanges sociaux entre les deux rats durant l'interaction sociale, nous avons utilisé une grille métallique perforée les séparant physiquement l'un de l'autre (Figure I.4). Nous avons testé l'impact de trois configurations différentes, d'une part sur le nombre et la durée des contacts nez-à-nez durant l'interaction de 30 min, puis d'autre part sur la rétention de la mémoire testée 30 jours plus tard. Les trois configurations sont : 1) 30 min d'interaction sociale sans grille, 2) 20 min avec grille + 10 min sans grille, 3) 30 min avec grille.

c) Analyses statistiques

Les résultats issus de la quantification des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur sont exprimés en nombre total de contacts nez-à-nez (\pm ESM) et en durée cumulée des contacts (\pm ESM) (en secondes). Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM) et en quantité totale de nourriture consommée (\pm ESM). Une ANOVA à un facteur (groupe : sans grille vs 20 min avec grille vs 30 min avec grille) a été effectuée suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Tukey. L'analyse corrélative du

nombre ou de la durée des contacts nez-à-nez avec les performances mnésiques a été effectuée grâce au test de Pearson. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

2. Résultats

a) Effets de la grille sur le nombre et la durée cumulée des contacts nez-à-nez durant une interaction sociale de 30 min

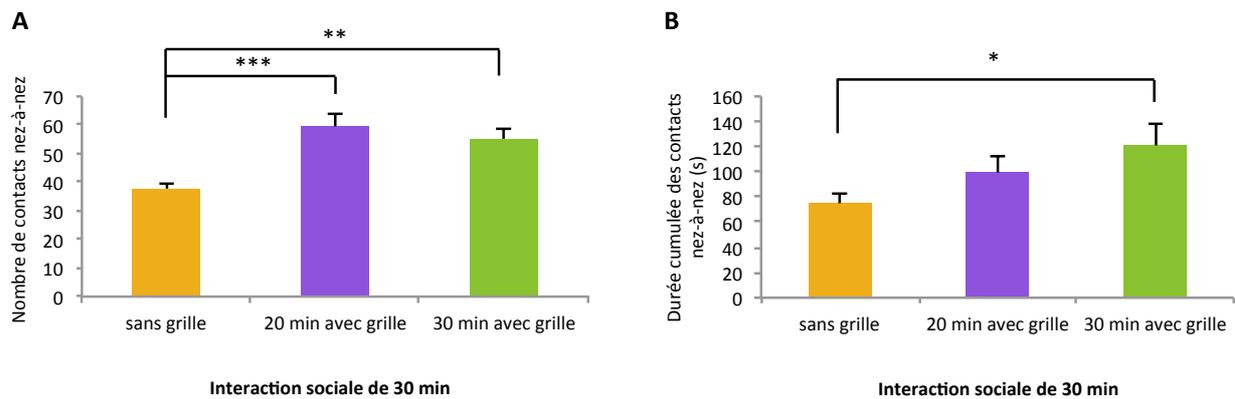


Figure I.5 : Comparaison du nombre (A) et de la durée cumulée (B) des contacts nez-à-nez durant une interaction sociale (cumin) de 30 min sans grille, avec une grille durant 20 min ou pendant la durée complète de l'interaction. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; $n = 8$ rats par groupe.

La présence de la grille durant 20 min ou durant toute la durée de l'interaction sociale augmente significativement le nombre (ANOVA : $F_{(2,21)} = 11,93$, $p < 0,001$) et la durée des contacts nez-à-nez (ANOVA : $F_{(2,21)} = 3,153$, $p < 0,05$) entre le rat observateur et le rat démonstrateur. Qu'en est-il de l'impact de cette modulation des contacts entre les deux rats sur les performances mnésiques des rats observateurs à court et à long terme ?

b) Effets de la grille sur la force initiale de la mémoire olfactive associative et sur sa persistance au cours du temps

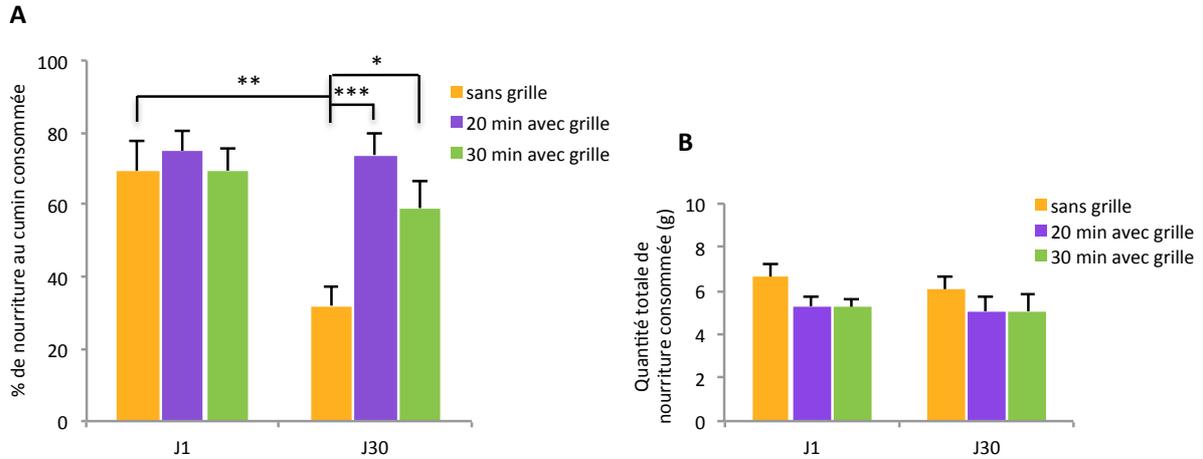


Figure 1.6 : Résultats comportementaux 1 jour ou 30 jours après une interaction sociale (cumin) de 30 min sans grille, avec une grille durant 20 min ou durant la durée complète de l'interaction. (A) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme). *p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 entre les groupes indiqués. J1 : n = 6 rats par groupe ; J30 : n = 8 rats par groupe.

Concernant le pourcentage de cumin consommé, une ANOVA à deux facteurs (grille x délai) révèle un effet de la grille ($F_{(3, 102)} = 35,07$, $p < 0,0001$), du délai ($F_{(1, 102)} = 10,06$, $p < 0,01$) et de l'interaction grille x délai ($F_{(3, 102)} = 3,262$, $p < 0,05$). L'absence ou la présence de la grille pendant l'interaction sociale n'affecte pas le rappel à court terme de la mémoire testée 1 jour après l'interaction sociale avec un démonstrateur ayant consommé du cumin. La grille ne semble donc pas modifier la force initiale de l'apprentissage. En revanche, l'absence de la grille durant l'interaction altère la persistance de la mémoire testée 30 jours après l'apprentissage, en comparaison des performances des animaux ayant interagit en présence d'une grille et présentant une mémoire à long terme sans oubli significatif. La présence de la grille semble donc améliorer la persistance de la mémoire à long terme.

La quantité totale de nourriture consommée est similaire entre les groupes (ANOVA : interaction grille x délai : $F_{(3, 102)} = 0,2867$, $p > 0,05$), révélant que les rats présentaient le même niveau de motivation au cours du test de rappel.

c) Evaluation de la corrélation entre le nombre ou la durée des contacts nez-à-nez et les performances mnésiques à long terme

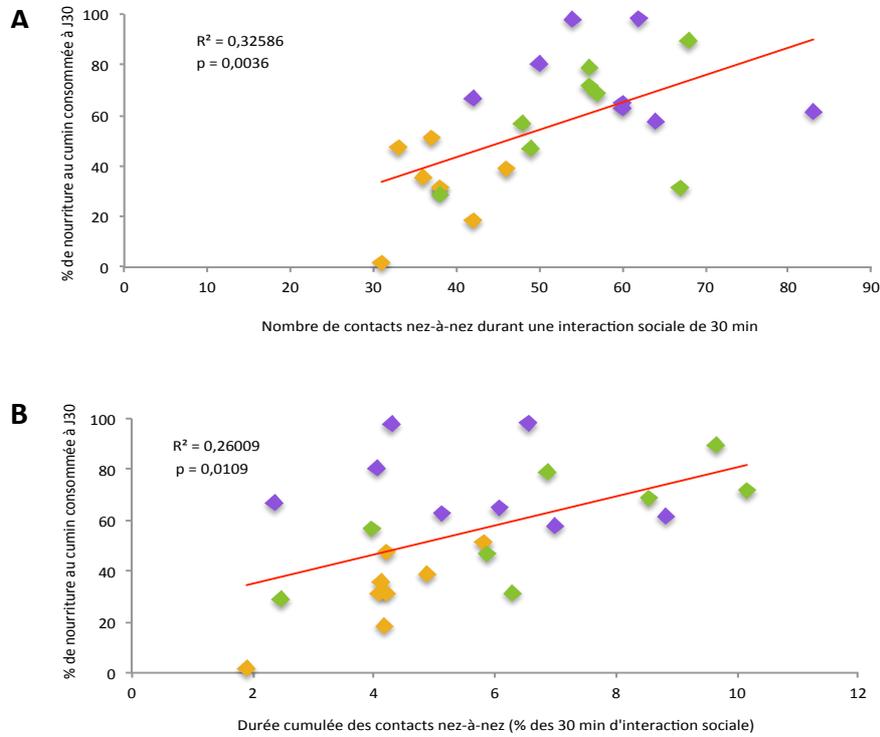


Figure 1.7 : Relation de corrélation entre le nombre de contacts nez-à-nez (A) ou la durée cumulée de ces contacts (B) durant une interaction (cumin) de 30 min et le pourcentage de nourriture au cumin consommée à J30. Points jaunes : sans grille ; points violets : 20 min avec grille ; points verts : 30 min avec grille. n = 8 rats par groupe.

Nos résultats indiquent une corrélation positive entre le nombre (Pearson : $t = 3,261$, $df = 22$, $p = 0,003578$) ou la durée cumulée des contacts nez-à-nez (Pearson : $t = 2,7809$, $df = 22$, $p = 0.0109$) durant une interaction (cumin) de 30 min et le pourcentage de nourriture au cumin consommée à J30. Ainsi, nous montrons qu'un plus grand nombre ou une plus grande durée des contacts entre le rat observateur et le démonstrateur durant l'interaction sociale sont corrélés à une meilleure rétention de la mémoire à long terme.

La dernière expérience de ce chapitre vise à évaluer s'il existe un possible lien de causalité entre la dynamique des échanges sociaux durant l'interaction et les performances mnésiques à long terme. Autrement dit, le nombre ou la durée des contacts nez-à-nez déterminent-ils le niveau de performance des animaux lors du rappel des informations anciennes ?

D. Expérience 4 : Effets de la restriction du nombre ou de la durée des contacts nez-à-nez entre le rat observateur et le rat démonstrateur sur la persistance de la mémoire olfactive associative

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

Trois groupes de rats ont été constitués, tous les trois ont été soumis à une interaction sociale avec un démonstrateur nourri avec de la nourriture aromatisée au cumin. Dans le premier groupe, les rats observateurs ont subi une interaction de 30 min en absence de grille ; dans le second les rat ont interagit durant 30 min en présence de la grille ; enfin dans le troisième les rats ont subis une interaction de seulement 15 min en présence d'une grille. L'objectif de ce troisième groupe a été de restreindre le nombre et la durée des contacts à un niveau similaire habituellement obtenu suite à une interaction de 30 min en absence de grille. Si le nombre et la durée des contacts nez-à-nez sont déterminants dans le contrôle de la persistance de la mémoire à long terme, les performances mnésiques des animaux du troisième groupe devraient être similaires à celles générées par une interaction de 30 min sans grille. Tous les animaux ont été soumis au test de préférence entre le cumin et le thym 30 jours après l'interaction sociale.

b) Analyses statistiques

Les résultats issus de la quantification des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur sont exprimés en nombre total de contacts nez-à-nez (\pm ESM) et en durée cumulée des contacts (\pm ESM) (en secondes). Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM) et en quantité totale de nourriture consommée (\pm ESM). Une ANOVA à un facteur (groupe : 15 min avec grille vs 30 min sans grille vs 30 min avec grille) a été effectuée suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Tukey. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

2. Résultats

a) Effets des 15 min d'interaction avec grille sur le nombre et la durée cumulée des contacts nez-à-nez

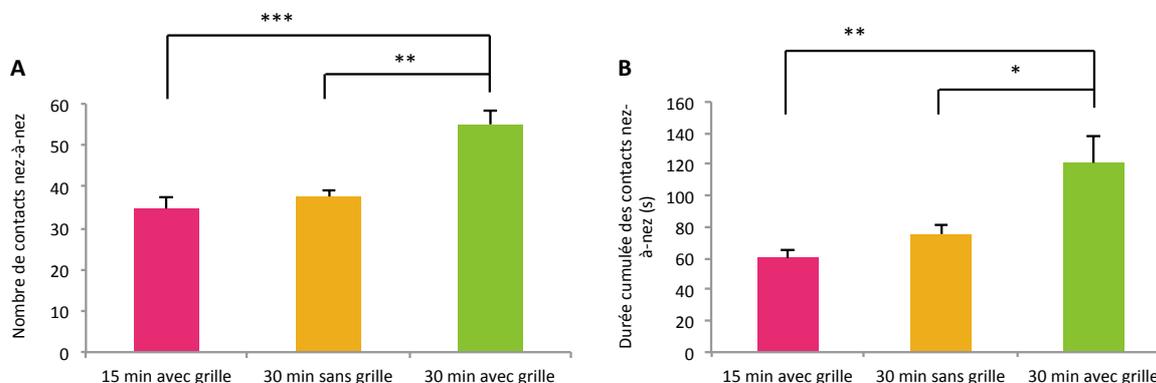


Figure 1.8 : Comparaison du nombre (A) et de la durée cumulée (B) des contacts nez-à-nez durant une interaction sociale de 15 min avec grille, une interaction de 30 min sans grille ou une interaction de 30 min avec grille durant la durée complète de l'interaction. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; $n = 8$ rats par groupe.

Limiter la capacité d'interaction à seulement 15 min en présence d'une grille réduit de façon significative le nombre (ANOVA : $F_{(2,21)} = 14,724$, $p < 0,001$) et la durée cumulée des contacts nez-à-nez (ANOVA : $F_{(2,21)} = 9,2481$, $p < 0,001$) entre le rat observateur et son démonstrateur à un niveau similaire à celui obtenu suite à une interaction sans grille ($p > 0,05$ versus 30 min sans grille).

b) Effets des 15 min d'interaction avec grille sur la rétention de la mémoire à long terme

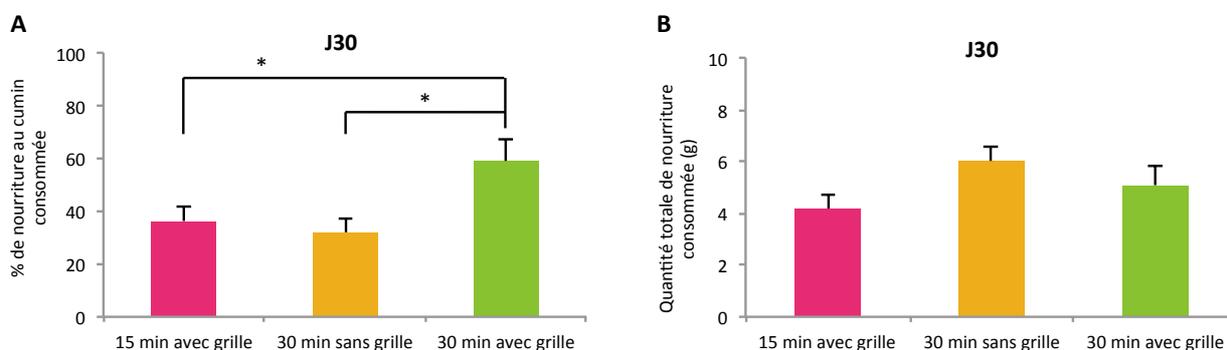


Figure 1.9 : Résultats comportementaux 30 jours après une interaction sociale (cumin) de 15 min avec grille, de 30 min sans grille ou de 30 min avec une grille durant la durée complète de l'interaction. (A) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme). * $p < 0,05$ entre les groupes indiqués ; $n = 8$ rats par groupe.

Limiter la capacité d'interaction à seulement 15 min en présence d'une grille accélère l'oubli de la mémoire testée à J30, de façon similaire à une interaction de 30 min sans grille. Parmi les trois conditions étudiées, seule l'interaction de 30 min avec grille permet de générer une mémoire durable (ANOVA : $F_{(2,21)} = 4,7701$, $p < 0,05$). La quantité totale de nourriture consommée est similaire entre les groupes (ANOVA : $F_{(2,21)} = 2,193$, $p > 0,05$), révélant que les rats présentaient le même niveau de motivation au cours du test de rappel.

3. Conclusion

Cette dernière série d'expériences a permis de démontrer que le nombre et la durée cumulée des contacts entre les deux rats au cours de l'interaction sociale sont des facteurs critiques conditionnant la persistance de la mémoire olfactive associative au cours du temps.

III. DISCUSSION

A. La TSPA génère une mémoire olfactive associative

Comme mentionné précédemment, la tâche de TSPA implique la formation d'une association spécifique entre deux stimuli (disulfure de carbone + odeur de la nourriture) présents dans l'haleine du démonstrateur, association qui informe l'animal que la nourriture est comestible et sans danger. Ainsi elle peut être divisée en une composante sociale et en une composante olfactive. Nos résultats confirment que seule la présence simultanée de ces deux composantes permet de générer une mémoire olfactive associative durable (groupe « expérimentaux » EXP). En effet, une interaction sociale avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture non aromatisée (donc en l'absence de composante olfactive – groupe témoin « préférence alimentaire innée » PAI) ou la simple exposition à l'odeur de cumin (donc en l'absence de composante sociale - groupe témoin « contrôle odeur » CO) ne suffit pas à générer une mémoire persistante. Il est à noter cependant que l'exposition à l'odeur de cumin constitue un stimulus suffisant pour modifier leur préférence alimentaire à court terme (testée à J1). Cependant, cette mémoire pour l'odeur du cumin n'est pas assimilable à la mémoire olfactive associative induite par la tâche de TSPA : la préférence alimentaire testée à 30 jours semble en effet moins marquée, et surtout elle ne persiste pas dans le temps.

Parmi les deux groupes témoins (PAI et CO), nous avons donc décidé d'utiliser dans la quasi-totalité de la suite de notre étude le groupe témoin PAI permettant notamment de révéler le niveau

de préférence alimentaire innée pour le thym dans nos différentes conditions expérimentales, à court comme à long terme.

B. Modulation de la persistance de la mémoire induite par la TSPA

Au cours de cette première étude, l'utilisation d'une grille séparant le rat observateur du rat démonstrateur nous a permis de moduler la dynamique et l'efficacité des échanges sociaux durant une interaction sociale de 30 min. Nous avons testé trois conditions différentes : 1) 30 min d'interaction sociale sans grille, 2) 20 min avec grille + 10 min sans grille, 3) 30 min avec grille. Comme attendu, ces trois configurations modulent différemment la persistance de la mémoire acquise en TSPA. Pour la suite de ce travail de thèse, nous avons décidé d'utiliser une seule de ces trois configurations afin de garantir l'homogénéité de la procédure d'apprentissage. Nous avons ainsi retenu la configuration « 20 min avec grille + 10 min sans grille » pour plusieurs raisons. Ce schéma d'apprentissage a déjà été utilisé dans une étude antérieure (Lesburguères et al., 2011), nous connaissons ainsi la dynamique des interactions hippocampo-corticales induite par cette configuration et sur laquelle se base ce travail de thèse. Par ailleurs, cette configuration est la seule permettant de générer un niveau de performance à long terme (30 jours après l'interaction) satisfaisant, similaire à celui obtenu à court terme (1 jour après l'interaction). Enfin, cette configuration offre l'avantage de pouvoir étudier le processus d'oubli (60 jours après l'interaction) des souvenirs anciens précédemment consolidés.

C. Une meilleure standardisation de la TSPA pour une plus grande fiabilité de l'étude de la mémoire à long terme

Nos résultats confirment que la dynamique des échanges sociaux entre le rat observateur et le rat démonstrateur est un facteur modulateur essentiel déterminant la persistance de la mémoire olfactive associative au cours du temps. Notre conclusion est que la quantité d'informations sociales olfactives fournie aux rats observateurs durant l'interaction devrait être contrôlée afin d'éviter certains effets confondants sur les performances mnésiques exprimées par différents groupes expérimentaux, notamment lorsque les rats sont sous l'influence d'une drogue durant l'interaction sociale. Globalement, cette étude a permis le développement d'une procédure comportementale mieux standardisée et plus fiable pour l'investigation des mécanismes neuronaux sous-tendant le processus de consolidation mnésique chez le rat.



CHAPITRE II

Evolution temporelle de la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B au sein des réseaux corticaux au cours de la consolidation systémique et du processus d'oubli

I. INTRODUCTION

A. Régions cérébrales impliquées dans le rappel des mémoires récente et ancienne induites par la TSPA

Ce travail de thèse s'est construit en grande partie sur la base des résultats obtenus par l'équipe de Bruno Bontempi et publiés dans *Science* quelques mois avant mon arrivée dans le laboratoire. Les résultats rapportés par Lesburguères et al. (2011) montrent que la consolidation de la mémoire induite par la TSPA se traduit par un désengagement progressif de l'HPC associé au recrutement de régions néocorticales spécifiques, corroborant ainsi les prédictions décrites par le modèle standard de la consolidation mnésique qui attribue à l'HPC un rôle temporaire dans l'établissement et le rappel à long terme d'une mémoire de type déclaratif dépendante de l'HPC (Squire and Alvarez, 1995).

En effet, l'inactivation transitoire de l'HPC dorsal au moment de l'acquisition de la tâche de TSPA est suffisante pour induire une amnésie antérograde dans cette tâche non spatiale, validant le fait que l'intégrité fonctionnelle de cette structure est cruciale pour la formation d'une mémoire olfactive associative. Ces observations sont par ailleurs en accord avec les données obtenues précédemment dans cette tâche suite à des lésions de l'HPC dorsal (Clark et al., 2002; Winocur, 1990; Winocur et al., 2001) ou à la délétion sélective d'une voie de signalisation dans cette structure (Brightwell et al., 2005). De plus, ces données lésionnelles ou d'inactivations transitoires couplées à des études d'imagerie cellulaire (mesure des niveaux d'expression de la protéine Fos) révèlent que l'HPC joue un rôle prépondérant dans la stabilisation de la mémoire à long terme, mais ce rôle est limité dans le temps : alors qu'il est nécessaire pour le rappel des informations récemment acquises, il n'est plus requis pour le rappels des mémoires anciennes (Alvarez et al., 2001; Clark et al., 2002; Lesburguères et al., 2011; Winocur, 1990; Winocur et al., 2001).

Ainsi, il a été mis en évidence le rôle privilégié de diverses régions corticales dans le rappel des informations anciennes. En effet, plusieurs études indiquent une contribution particulièrement importante de plusieurs cortex associatifs dont le cortex préfrontal médian (CPFm), cingulaire antérieur (CCA) et orbitofrontal (COF) pour le rappel à long terme de la préférence alimentaire (Lesburguères et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006). Les données de Lesburguères et al. (2011) ont tout particulièrement pointé le rôle majeur joué par le COF dans le stockage et le rappel des informations olfactives associatives acquises dans la tâche de TSPA. Ce cortex constitue une zone de convergence de voies primaires olfactives, gustatives et visuelles, et reçoit d'importants signaux provenant du cortex piriforme et du thalamus médian (Price, 2007). Le COF est particulièrement

important pour la formation d'associations complexes à partir de stimuli olfactifs incluant des associations odeur-lieu (Lipton et al., 1999), odeur-toucher (Whishaw et al., 1992) et odeur-goût (Critchley and Rolls, 1996). Ce cortex a ainsi été reconnu comme un cortex associatif de haut niveau d'intégration, jouant un rôle non seulement dans la formation des représentations mnésiques de stimuli complexes (avec une composante olfactive), mais également dans l'intégration des situations d'acquisition et d'application de ces associations (Furuyashiki et al., 2008; Ramus and Eichenbaum, 2000). Le COF est donc un cortex capable de diriger le comportement en faisant prévaloir un choix parmi les différentes options présentes, afin d'obtenir la réponse la plus adaptée (Boulougouris et al., 2007; Cohen et al., 2008). Ainsi, la nature olfactive des stimuli présents lors de l'acquisition de la TSPA pourrait expliquer le recrutement privilégié de cette structure dans le rappel flexible de la mémoire associative induite par la TSPA (Ross and Eichenbaum, 2006; Ross et al., 2005; Schoenbaum and Eichenbaum, 1995a, 1995b)

Il semblerait donc que le réseau neuronal cortical impliqué dans le rappel des informations à long terme soit défini à la fois par 1) des structures corticales considérées comme des « noeuds critiques » qui, comme on le suppose pour le CCA et le CPFm, interviendraient de façon générique en tant que structures intégratrices, et dont le rôle serait de coordonner les multiples composantes de la trace mnésique distribuées dans divers modules corticaux (Frankland and Bontempi, 2005; Hasegawa, 2000; Jung et al., 2008; Takehara-Nishiuchi et al., 2005), et 2) et par des structures corticales dont la contribution reflèterait un rôle intégrateur également, mais avec une plus grande spécificité sensorielle, comme le COF dans le cas de la TSPA.

Enfin, Lesburguères et al. (2011) ont mis en évidence que le recrutement du COF pour le stockage à long terme de la mémoire induite dans la tâche de TSPA était accompagné d'une augmentation de la complexité de l'architecture des réseaux de neurones corticaux, avec notamment l'apparition de modifications structurales pré- et postsynaptiques (augmentation de l'expression de synaptophysine et de la densité des épines dendritiques), signes de l'existence d'un remodelage des réseaux corticaux. Ces résultats sont en accord avec les modèles connexionnistes qui postulent que l'établissement d'une mémoire à long terme nécessiterait un remaniement progressif des connexions cortico-corticales jusqu'à ce que le néocortex soit en mesure d'assurer le stockage permanent et le rappel de la mémoire sans contribution de l'HPC (Frankland and Bontempi, 2005; McClelland et al., 1995; Wiltgen et al., 2004).

B. Décours temporel du dialogue hippocampo-cortical au cours de la consolidation de la mémoire olfactive associative

Selon, le modèle standard de la consolidation systémique, la stabilisation progressive des traces mnésiques au sein des réseaux corticaux est tributaire d'un dialogue temporaire entre l'HPC et le néocortex dans les jours, voire les semaines, qui suivent l'apprentissage. Dans la tâche de TSPA, Lesburguères et al. (2011) ont mis en évidence l'existence d'une période critique dite « précoce » (correspondant aux deux premières semaines suivant l'interaction sociale) (Figure II.1) au cours de laquelle l'inactivation chronique, mais réversible de l'HPC dorsal, ou du COF, empêche l'établissement d'une mémoire à long terme. Ainsi, au cours de cette période précoce, la contribution conjointe de ces deux structures est cruciale pour la consolidation à long terme de la mémoire induite par la TSPA.

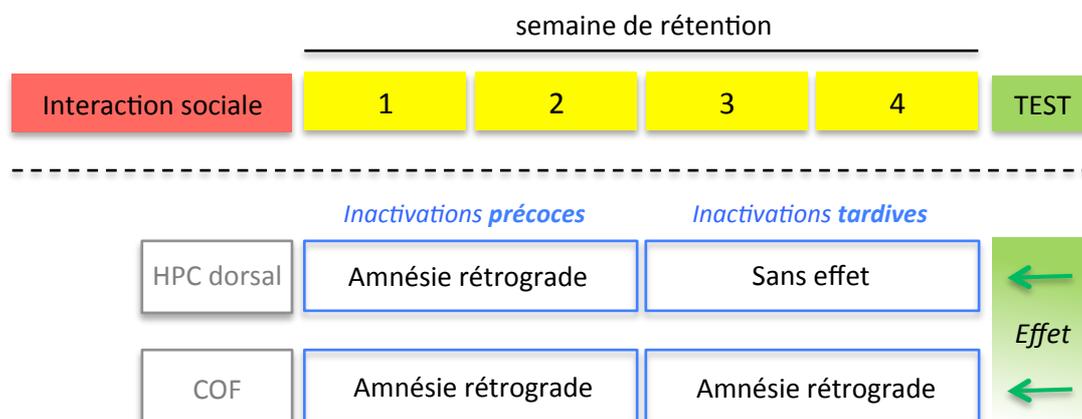


Figure II.1 : Schéma illustrant le décours temporel du dialogue hippocampo-cortical au cours de la consolidation de la mémoire olfactive associative d'après l'étude de Lesburguères et al., 2011.

En revanche, l'inactivation chronique de l'HPC dorsal au cours de la période post-apprentissage dite « tardive » (correspondant aux troisième et quatrième semaines suivant l'acquisition) (Figure II.1) s'est révélée sans effet sur la formation et le rappel de la mémoire à long terme. Ce résultat a pu confirmer un désengagement hippocampique durant les deux premières semaines post-acquisition (Clark et al., 2002; Winocur, 1990; Winocur et al., 2007) et suggère que les connexions cortico-corticales sont suffisamment renforcées pour que le réseau cortical puisse assurer seul le rappel de la représentation mnésique. Dans ce sens, seule l'inactivation du COF au cours de la période tardive a révélé une altération du rappel de la mémoire ancienne. Ce résultat suggère l'existence d'une phase critique tardive de maturation cortico-corticale indépendante de l'HPC, suggérant que le processus de consolidation n'est peut être pas achevé malgré la fin du dialogue hippocampo-cortical.

C. Contribution de l'HPC à la réorganisation des structures corticales au cours du processus de consolidation systémique

Selon certains modèles, la contribution de l'HPC serait d'orchestrer la consolidation et le stockage à long terme des souvenirs au niveau cortical en induisant des changements graduels de l'organisation des réseaux neuronaux corticaux (McClelland et al., 1995 ; Squire et Alvarez, 1995). Ainsi, le renforcement des connexions cortico-corticales au cours du processus de consolidation nécessiterait des réactivations répétées et synchrones des assemblées neuronales hippocampiques et corticales dans la période précoce qui suit l'acquisition (Buzsáki, 1989; Marr, 1970, 1971; Wittenberg and Tsien, 2002). En accord avec ces prédictions, Lesburguères et al. (2011) ont démontré que le blocage du dialogue hippocampo-cortical par l'inactivation de l'HPC dorsal au cours de la période post-apprentissage précoce abolit l'apparition des réarrangements architecturaux (révélées par quantification de la densité des épines dendritiques) au niveau des neurones du COF. En revanche, l'inactivation de l'HPC dorsal au cours de la période post-apprentissage plus tardive (suite au désengagement hippocampique) s'est révélée sans aucun effet sur la réorganisation structurale du COF, corroborant ainsi les résultats comportementaux décrits précédemment.

Si cette étude pointe le rôle fonctionnel du dialogue hippocampe-cortical pour permettre la réorganisation structurale des réseaux corticaux, l'impact de ce dialogue sur la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B des récepteurs NMDA dans le COF n'a pas été étudié.

D. Objectifs

Le premier objectif de cette étude a donc été d'évaluer l'impact de l'apprentissage sur la composition en sous-unités GluN2A et GluN2B dans les membranes post-synaptiques du COF durant l'intervalle de rétention. Dans une première expérience nous avons mesuré le ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B au sein du COF (et du PAR servant de région contrôle, car non impliqué dans la tâche de TSPA ; Lesburguères et al., 2011) de rats observateurs à différents délais après leur interaction sociale avec un rat démonstrateur.

Puis, comme nous l'avons décrit précédemment, l'exposition des rats à la simple odeur de cumin, sans interaction sociale avec un congénère, n'est pas suffisante pour générer une mémoire olfactive associative durable, celle-ci résultant de l'association entre la composante olfactive et la composante sociale inhérentes à la tâche de TSPA. Dans une seconde expérience, nous avons donc contrôlé l'influence de la simple exposition à l'odeur cumin sur les niveaux d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B. Si la corticalisation de la mémoire olfactive associative est associée à une

augmentation du ratio GluN2A/GluN2B, la seule composante olfactive ne devrait pas (ou peu) générer cette même augmentation.

Enfin, dans une troisième expérience, nous avons évalué la contribution de l'HPC dorsal à la modulation du ratio GluN2A/GluN2B au sein des neurones du COF au cours de la période précoce post-apprentissage abritant le dialogue hippocampo-cortical ou durant la période tardive caractérisée par une maturation cortico-corticale de l'engramme, indépendante de l'HPC. Si la modulation du ratio GluN2A/GluN2B au niveau cortical est dépendante de la réactivation récurrente du COF par l'HPC, l'inactivation chronique et transitoire de celui-ci au cours de la période post-apprentissage précoce devrait abolir la réorganisation du ratio GluN2A/GluN2B au niveau des neurones du COF. En revanche, l'inactivation de l'HPC dorsal au cours de la période post-apprentissage plus tardive pourrait être sans aucun effet sur les variations de ce même ratio.

II. CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES

A. Expérience 1 : Evolution temporelle du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B au sein du COF et du PAR suite à l'acquisition de la tâche de TSPA

1. Matériels et méthodes

a) Euthanasie et extraction du tissu cérébral

Les rats ont été euthanasiés par injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique (dose létale) (Ceva Santé Animale, 100 mg/kg) puis décapités. Les cerveaux ont été rapidement prélevés puis les différentes régions corticales analysées dans cette expérience (COF et PAR) (Figure II. 2) ont été disséquées à partir de tranches de tissu frais (150-250 μ m d'épaisseur) maintenues dans une solution de PBS 1X (pH 7,4) refroidie à 4°C. Les échantillons ont ensuite été stockés jusqu'à l'extraction des protéines à -80°C dans un tampon I (0,32 M sucrose, 10 mM HEPES, pH 7,4) supplémenté d'un cocktail d'inhibiteurs de protéases (1/200) et de phosphatases (1/200) (Sigma, L'Isle d'Abeau, France). Les échantillons de chaque animal ont toujours été analysés indépendamment les uns des autres.

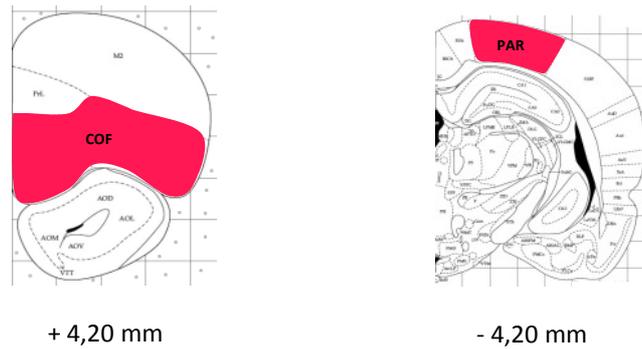


Figure II.2 : Schémas de sections frontales de cerveau de rat (adaptées de l'atlas de Paxinos et Watson, 1998) montrant les régions d'intérêt (en rouge) sélectionnées pour la quantification de l'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A et GluN2B. Le nombre placé au bas de chaque schéma indique la distance (en millimètres) de la section par rapport au bregma.

b) Fractionnement subcellulaire

Le fractionnement subcellulaire a été effectué comme décrits dans la Figure II.3. Durant toute la procédure, les échantillons de tissus ont été maintenus à 4°C en présence d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases. Les tissus ont été décongelés et broyés par aspiration et refoulement répétés au travers d'une aiguille 18G dans 500 µL de tampon I. Les homogénats ont ensuite été clarifiés par centrifugation à 1000 g durant 10 min puis le surnageant a été centrifugé à nouveau à 12000 g pendant 20 min afin de dissocier les membranes cellulaires du contenu cytosolique. Cette fraction membranaire a ensuite été re-suspendue dans 200 µL de tampon II (4 mM HEPES, 1 mM EDTA, pH 7,4) puis centrifugée à 12000 g pendant 20 min. Les culots contenant les synaptoneurosomes ont ensuite été re-suspendus dans un tampon III (20 mM HEPES, 100 mM NaCl, 0.5 % triton X100, pH 7,2) durant 15 min puis centrifugés à 12000 g durant 20 min. Le surnageant correspond alors à la fraction membranaire dite Triton sensible, appelée aussi fraction non-DPS (DPS = densité post-synaptique) ou encore extra-synaptique (Milnerwood et al., 2010). Le culot a alors été re-suspendu et incubé 60 min dans un tampon IV (20 mM HEPES, 0,15 mM NaCl, 1 % triton X100, 1 % acide deoxycholique, 1 % SDS, pH 7,5) avant d'être centrifugé à 10000 g durant 15 min. Le surnageant obtenu contient alors la fraction membranaire post-synaptique, appelée aussi fraction DPS. La concentration en protéines des fractions non-DPS et DPS a finalement été évaluée en utilisant le kit BCA (Pierce) en suivant les instructions du fournisseur.

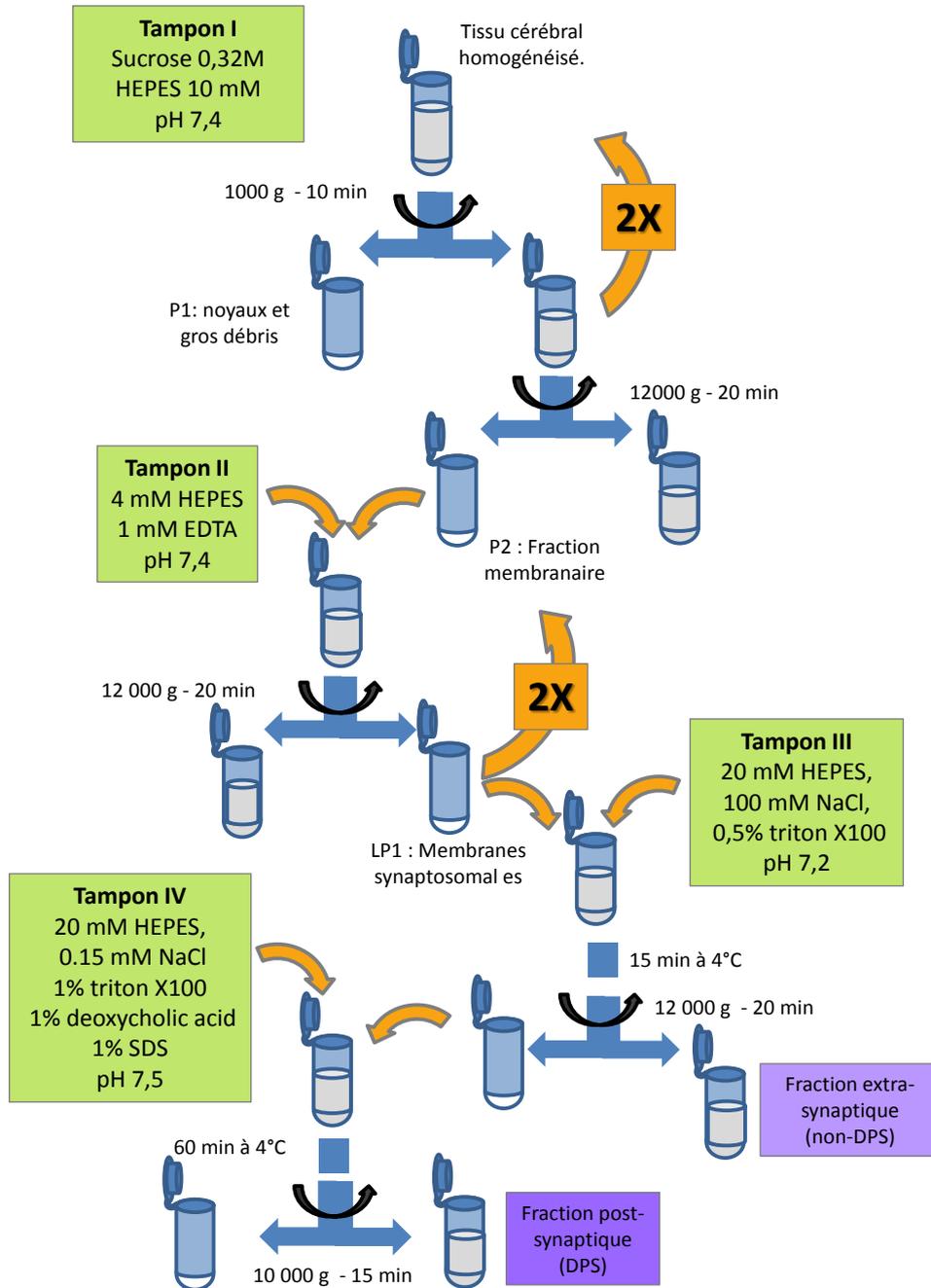


Figure II.3 : Description schématique du protocole de fractionnement subcellulaire utilisé pour isoler les récepteurs NMDA exprimés dans les membranes post-synaptiques de ceux exprimés au niveau extra-synaptique. A chaque étape figure la composition chimique des différents tampons de lyse (de I à IV) utilisés au cours du fractionnement subcellulaire.

c) Western blot

Pour chaque échantillon, un volume correspondant à 20 µg de protéines a été mélangé avec 6,25 µL de tampon de charge (4X) dilué dans du tampon IV pour atteindre un volume final avant charge de 25 µL. Les échantillons ont été dénaturés 10 minutes à 95°C puis immédiatement chargés sur un gel Bis-Tris polyacrylamide de 4-12% NuPAGE (Invitrogen, France) pendant 80 min à 120 V. Après cette séparation, les protéines ont été transférées sur une membrane de polyvinylidenedifluoride (PVDF) (Polyscreen membrane, Perkin Elmer, France).

d) Immunoblot

Après transfert, la membrane a été rincée dans une solution de TTBS (0.1% Tween 20, 200 mM Tris-HCl, pH 7,4) puis les sites non spécifiques ont été bloqués en incubant la membrane dans une solution de TTBS supplémentée avec 5 % de lait écrémé lyophilisé (Régilait, France) durant 30 min à température ambiante. La membrane a ensuite été incubée toute la nuit à 4°C en présence de l'anticorps primaire (Figure II.4) dilué dans une solution de TTBS-5% Régilait. Le jour suivant, les membranes ont été rincées 4 fois pendant 10 minutes dans la solution de TTBS à température ambiante puis incubées en présence de l'anticorps secondaire couplé à un fluorochrome (Figure II.4) dilué dans la solution de TTBS pendant une heure à température ambiante. Après trois lavages en TTBS et un lavage en PBS 1X, la membrane a été scannée en utilisant le système Licor Aerus.

Marqueur	Antigène	Espèce	Dilution	Référence
Membranes post-synaptiques	PSD-95	souris	1 / 1000.	VAM-PS001 ; Assay Designs
Membranes extra-synaptiques	Synaptophysine	lapin	1 / 1000.	MAB368 ; Millipore
Sous-unité GluN	GluN2A	lapin	1 / 1000.	04-901 ; Millipore
Sous-unité GluN	GluN2B	souris	1 / 1000.	MAB5778 ; Millipore
Protéine de référence	Actine	lapin	1 / 5000.	A2066 ; Sigma-Aldrich
Anti-lapin IR Dye® 800 CW LI-COR	Immunoglobuline de lapin	chèvre	1 / 2000.	926-32211 ; Eurobio
Anti-souris IR Dye® 680 RD LI-COR	Immunoglobuline de souris	chèvre	1 / 2000.	926-68070 ; Eurobio

Figure II.4 : Références et concentrations des différents anticorps primaires (bleu) et secondaires (rose) utilisés dans cette étude.

e) Quantification

Les quantités relatives de protéines ont été évaluées en mesurant la densité optique des bandes d'intérêt et rapportées pour chaque protéine à un contrôle de charge, l'actine, qui a été révélée sur la même membrane.

f) Analyses statistiques

Les résultats issus de la quantification des protéines sont exprimés sous la forme de trois ratios différents, chacun étant normalisé par rapport aux valeurs données par le groupe témoin PAI pour chaque délai testé : GluN2A/actine, GluN2B/actine, GluN2A/GluN2B (\pm écart standard à la moyenne (ESM) pour chaque moyenne exprimée). Une ANOVA à deux facteurs (groupe : EXP vs PAI ; délai : J1 vs J15 vs J30 vs J60) a été effectuée suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

g) Plan expérimental

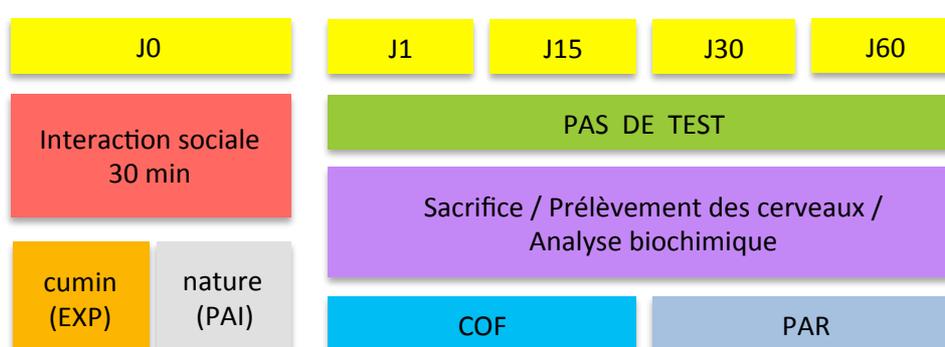


Figure II.5 : Plan expérimental de l'expérience 1

Les animaux ont été soumis à une interaction sociale de 30 min, puis ont été sacrifiés 1 jour, 15 jours, 30 jours ou 60 jours après l'interaction pour l'analyse biochimique des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF et le PAR. Aucun animal n'a été soumis au test de préférence alimentaire entre le cumin et le thym afin d'éviter que le rappel de la mémoire n'interfère avec le profil d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B généré au sein des réseaux corticaux durant l'intervalle de rétention. Pour chaque délai, nous avons comparé le niveau d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les fractions enrichies en protéines post-synaptiques issues du COF ou du PAR après l'interaction avec un démonstrateur préalablement nourri avec de la nourriture aromatisée au cumin (groupe EXP) ou avec un démonstrateur nourri avec de la nourriture non-aromatisée (groupe PAI). Les animaux ont donc été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

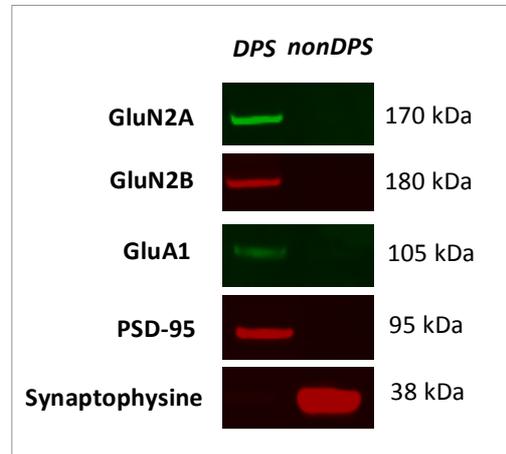
	J1	J15	J30	J60
EXP	n=9	n=6	n=8	n=5
PAI	n=8	n=5	n=6	n=4

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 1

2. Résultats

a) Validation en western blot (WB) du protocole de fractionnement subcellulaire pour isoler les fractions DPS et non-DPS

Figure II.6 : Validation en western blot (WB) du protocole de fractionnement subcellulaire. Suite au fractionnement subcellulaire, les fractions DPS et non-DPS ont été isolées et validées en WB en utilisant la PSD-95 comme marqueur de la fraction post-synaptique (DPS), et la synaptophysine comme marqueur de la fraction extra-synaptique (non-DPS). Comme illustré par les résultats de l'immunoblot ci-contre, les sous-unités GluN2A, GluN2B et GluA1 ont été essentiellement repérées dans la fraction DPS. Malgré de nombreuses tentatives (notamment en variant la quantité de protéines chargée sur le gel ou les concentrations d'anticorps utilisées pour l'immunoblot), nous ne sommes pas parvenus dans nos conditions expérimentales à repérer de manière efficace et correctement quantifiable ces mêmes sous-unités dans la fraction non-DPS.



b) Evolution temporelle du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B dans le COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA

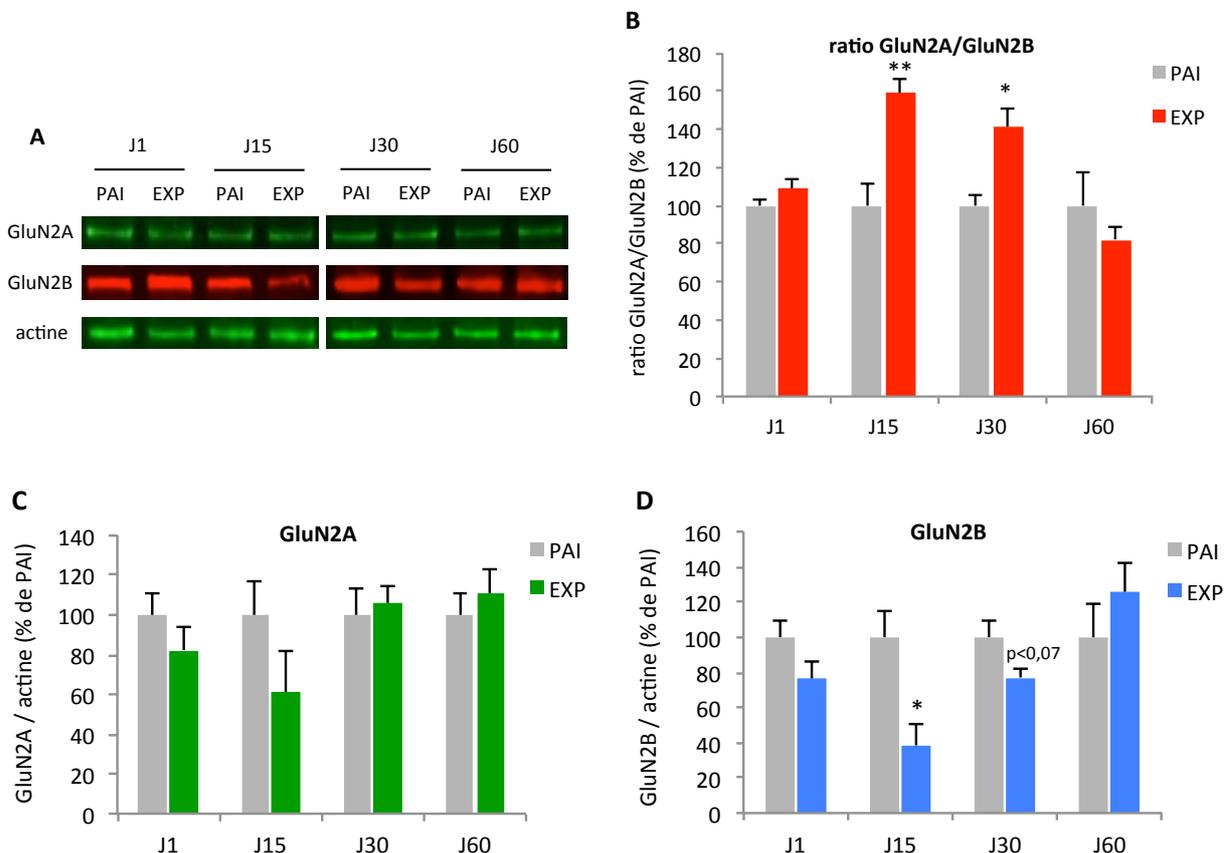


Figure II.7 : (A) Illustration représentative d'une membrane sur laquelle a été révélée en immunofluorescence les quantités de sous-unités GluN2A, GluN2B et d'actine mesurées dans les fractions DPS issues du COF. Evolution de l'expression post-synaptique du ratio GluN2A/GluN2B (B) et du détail des sous-unités GluN2A (C) et GluN2B (D) au sein du COF durant l'intervalle de rétention. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ versus PAI.

L'analyse des fractions enrichies en densités post-synaptiques du COF montre que la consolidation de la mémoire olfactive associative (groupe EXP) est associée à une augmentation du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B entre J1 et J15, en comparaison des animaux du groupe PAI. (ANOVA : groupe : $F_{(1,40)} = 14,830$, $p < 0,001$; délai : $F_{(3,40)} = 7,202$, $p < 0,001$; interaction groupe x délai : $F_{(3,40)} = 8,417$, $p < 0,001$). De plus, le ratio GluN2A/GluN2B reste élevé à J30 ($p < 0,05$ versus PAI) avant de retourner à son niveau basal, 60 jours après l'interaction sociale ($p > 0,05$ versus PAI). L'analyse détaillée des variations de chacune des deux sous-unités révèle que l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF est due à une réduction de l'expression des sous-unités GluN2B dans la fraction DPS (ANOVA : groupe : $F_{(1,40)} = 7,116$, $p < 0,05$; délai : $F_{(3,40)} = 3,653$, $p < 0,05$; interaction groupe x délai : $F_{(3,40)} = 3,211$, $p < 0,05$) bien qu'une légère diminution non significative de l'expression des sous-unités GluN2A soit observée 15 jours après l'acquisition (ANOVA : interaction groupe x délai : $F_{(3,40)} = 1,496$, $p > 0,05$).

c) Evolution temporelle du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B dans le PAR suite à l'acquisition de la tâche de TSPA

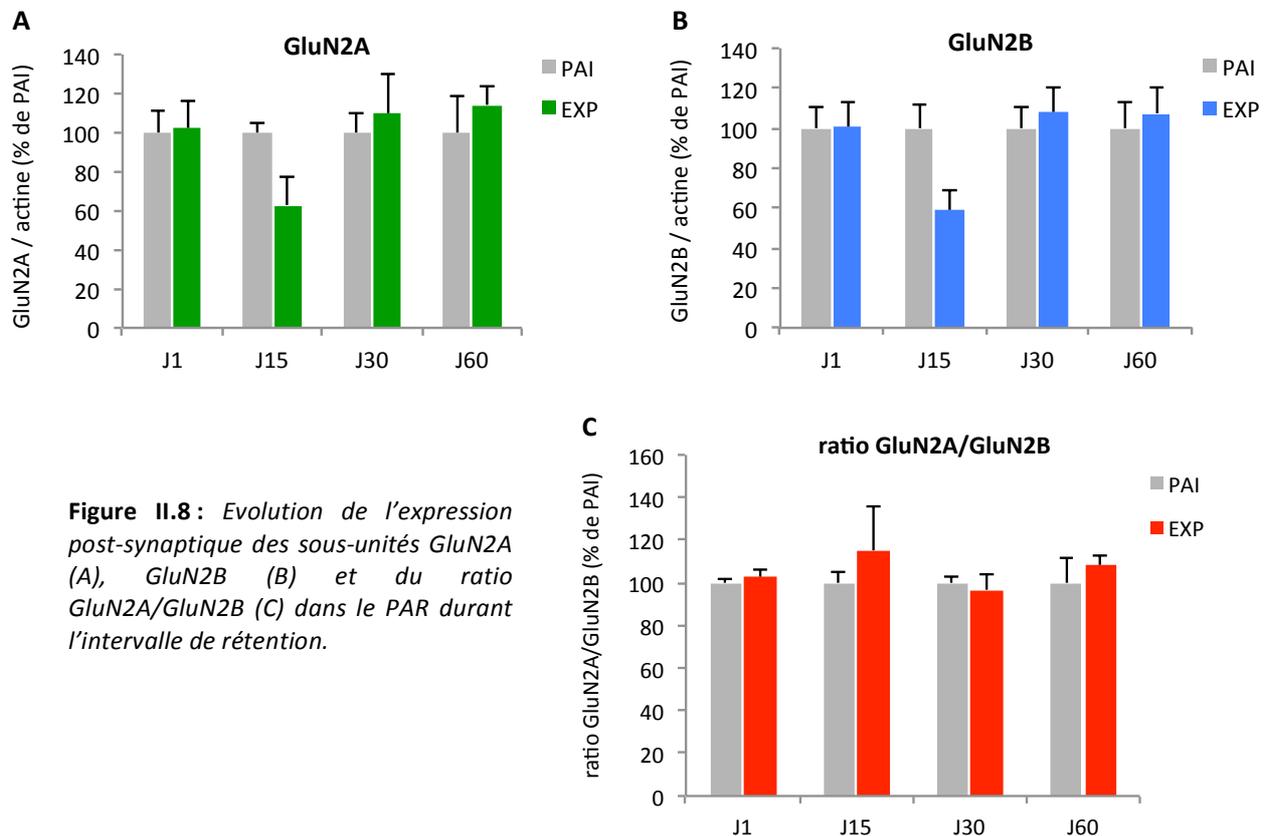


Figure II.8 : Evolution de l'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A (A), GluN2B (B) et du ratio GluN2A/GluN2B (C) dans le PAR durant l'intervalle de rétention.

Afin de s'assurer que les variations du ratio GluN2A/GluN2B observées dans le COF sont spécifiquement associées au processus de consolidation mnésique des traces mnésiques acquises dans la tâche de TSPA, nous avons mesuré le ratio GluN2A/GluN2B dans une autre structure cérébrale non impliquée dans cette tâche comportementale. Ainsi, le cortex pariétal (PAR) a été utilisé comme région contrôle. Ce cortex est connu pour être impliqué dans le traitement mnésique des informations spatiales (Maviel et al., 2004) mais n'est pas requis dans le traitement des informations acquises dans la TSPA (Lesburguères et al., 2011). Contrairement à ce que nous avons pu mettre en évidence dans le COF, l'analyse du ratio GluN2A/GluN2B dans les PAR issus des mêmes animaux, ne montre pas de variations significatives de l'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A (ANOVA : interaction groupe x délai : $F_{(3, 40)} = 0,7254$, $p > 0,05$), GluN2B (ANOVA : interaction : $F_{(3, 40)} = 1,101$, $p > 0,05$) ou de leur ratio (ANOVA : interaction : $F_{(3, 40)} = 0,5335$, $p > 0,05$) dans le PAR, 1, 15, 30 et 60 jours après l'encodage.

Afin d'isoler les effets sur le ratio GluN2A/GluN2B de la composante olfactive et de la composante sociale inhérentes à la tâche de TSPA, nous avons ensuite mesuré l'impact de la simple exposition à l'odeur cumin sur les niveaux d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B.

B. Expérience 2 : Evolution temporelle du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B au sein du COF suite à l'exposition à l'odeur de cumin (sans interaction sociale)

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental



Figure II.9 : Plan expérimental de l'expérience 2

Les animaux ont été soumis à une interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur nourri avec de la nourriture nature (groupe PAI) ou exposés à la simple odeur de cumin (groupe CO) durant 30 min (cf chapitre I), puis ont été sacrifiés après un délai d'1 jour, 15 jours ou 30 jours pour permettre l'analyse biochimique des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF. Les animaux ont été répartis en 6 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	J1	J15	J30
CO	n=6	n=6	n=6
PAI	n=9	n=9	n=9

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 2

2. Résultats

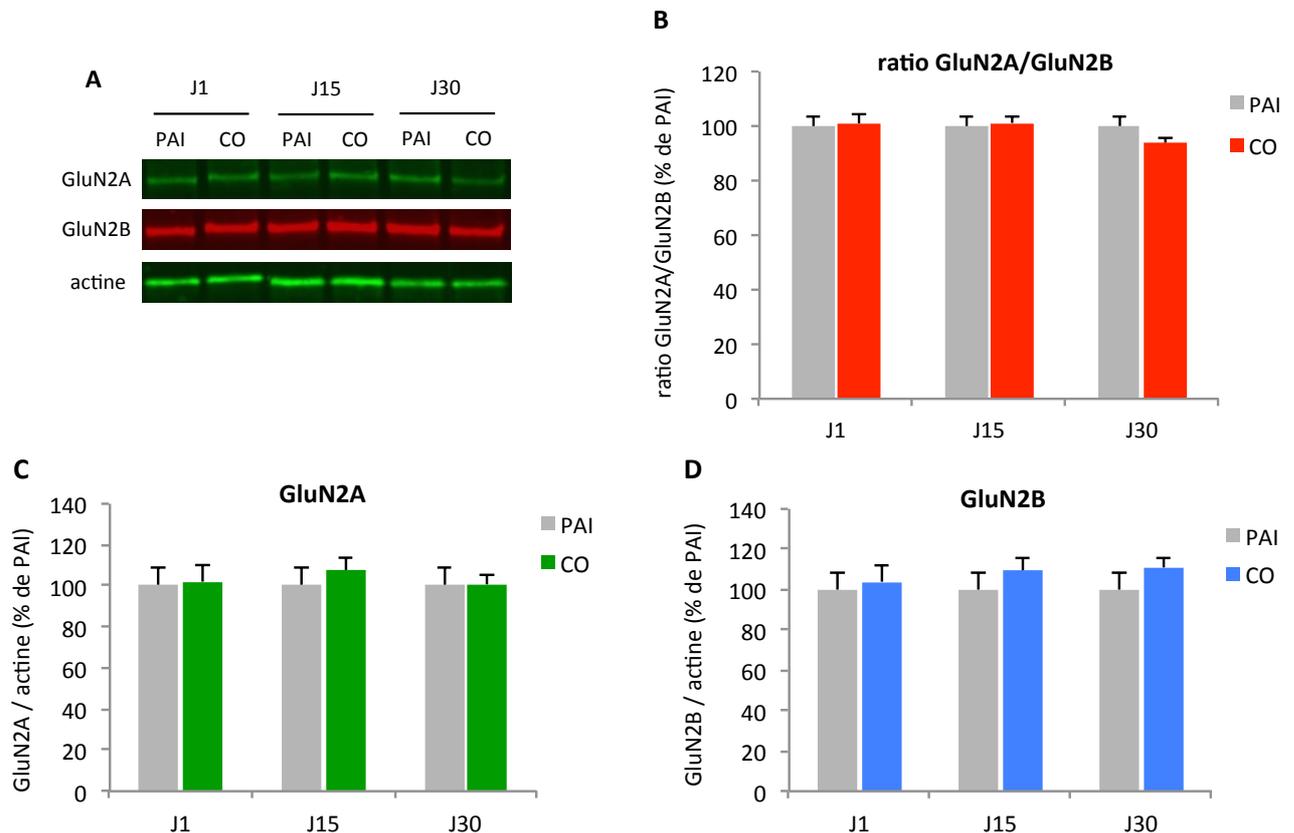


Figure II.10 : (A) Illustration d'un immunoblot représentatif révélant l'expression des sous-unités GluN2A, GluN2B et du gène de référence actine mesurée dans les fractions DPS issues du COF, 1, 15 ou 30 jours après avoir été exposé à une odeur de cumin (CO) ou après une interaction avec un démonstrateur ayant mangé une nourriture non aromatisée (PAI). La quantification de l'expression post-synaptique du ratio GluN2A/GluN2B (B) et des sous-unités GluN2A (C) et GluN2B (D) est exprimée en % par rapport à l'expression obtenue dans le groupe PAI.

Nos résultats indiquent que la simple exposition des rats à l'odeur de cumin durant 30 min (soit la même durée qu'une interaction sociale avec un démonstrateur ayant préalablement consommé une nourriture aromatisée au cumin) n'est pas suffisante pour induire un changement du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B dans le COF (ANOVA : interaction groupe x délai : $F_{(2, 39)} = 0,7407$, $p > 0,05$). Ainsi, nous confirmons que la réduction de l'expression synaptique des sous-unités GluN2B observée précédemment dans le COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA est bien associée au processus de consolidation d'une mémoire associative olfactive formée d'une composante sociale et d'une composante olfactive. En revanche, exposer les rats à une seule de ces deux composantes, ne permet pas de générer une mémoire associative olfactive à long terme et ne conduit pas aux variations d'expression du ratio GluN2A/GluN2B spécifiquement associées à cette mémoire.

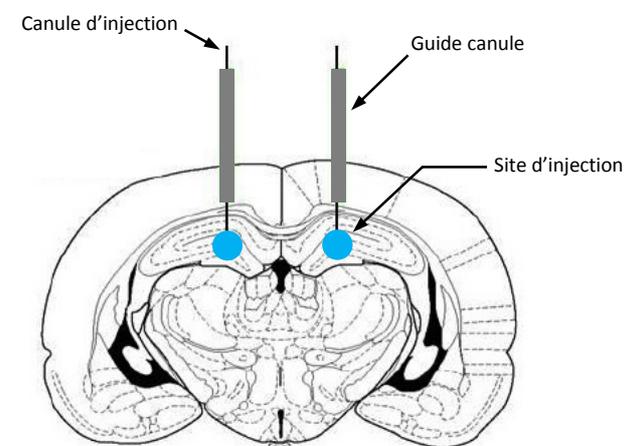
Parce que de nombreuses études ont révélé que le ratio GluN2A/GluN2B est régulé par l'activité synaptique (Yashiro and Philpot, 2008), nous nous sommes ensuite intéressés au rôle du dialogue hippocampo-cortical dans l'induction des changements du ratio GluN2A/GluN2B observés précédemment au niveau du COF.

C. Expérience 3 : Effet de l'inactivation chronique précoce ou tardive de l'HPC dorsal sur les variations du ratio synaptique GluN2A/GluN2B au sein du COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA

1. Matériels et méthodes

a) Procédure chirurgicale

Figure II.11 : Schéma d'implantation stéréotaxique des guide-canules dans l'HPC dorsal chez le rat (coupe frontale de cerveau tirée de l'atlas de Paxinos et Watson, 1998). Les coordonnées indiquées sont exprimées en référence au Bregma (en mm).



HPC dorsal
A/P : -3,8 ; D/V : -2,0 (guide), -3,5 (site) ; Lat : ±2,0

Des guides canules inoxydables (L : 8 mm, \varnothing ext : 0,460 mm, \varnothing int : 0,255 mm) ont été implantés bilatéralement sous contrôle stéréotaxique dans la calotte crânienne de chaque animal. La figure II.11 illustre un schéma d'implantation dans l'HPC dorsal. Les animaux ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (100 mg/kg) - xylazine (12 mg/kg), injecté par voie intrapéritonéale, avant d'être installés dans l'appareil stéréotaxique (Kofit Instruments®). La tête de l'animal a été maintenue immobile à l'aide de deux barres d'oreilles alors que son museau a été bloqué avec une pièce de gueule. Le scalp a été incisé et la surface du crâne nettoyée afin de rendre visible les différents points de référence nommés bregma (intersection entre la suture coronale et la suture sagittale) et lambda (intersection entre la suture lambdoïde et la suture sagittale). Les coordonnées des sites d'implantation de l'HPC dorsal ont été calculées à partir de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (1998), en utilisant le bregma comme point de référence : antéro-postérieur = -3,8 mm ; latéral = +/-2 mm ; dorso-ventral = -2 mm. Le crâne a été perforé au niveau de ces deux sites et deux guides canules ont été implantés et maintenus grâce à du ciment dentaire (Palarid®) renforcés par deux vis d'ancrage fixées dans l'os crânien. Chaque guide canule a été protégé de toutes obstructions grâce à des mandrins métalliques inoxydables. Les deux berges de la plaie ont été ensuite suturées avant de replacer les animaux dans leur cage d'origine. Suite à l'opération, les rats ont bénéficié de deux semaines de récupération avant d'être soumis à la phase d'apprentissage.

b) Substances pharmacologiques

Les différentes substances ont été injectées bilatéralement dans l'HPC dorsal à un volume de 1 μ l par hémisphère. Ce volume permet de traiter une zone étendue de l'HPC dorsal, tout en ciblant spécifiquement cette région (Lesburguères et al., 2011). Toutes les drogues utilisées ont été diluées dans du liquide cébrospinal artificiel (LCSa, Tocris) ; celui-ci a donc été utilisé comme solution véhicule dans les groupes d'animaux témoins. Sa composition est la suivante : 5mM de glucose, 125mM de chlorure de sodium (NaCl), 27mM de carbonate de sodium (NaHCO_3), 2,5mM de chlorure de potassium (KCl), 0,5mM de sodium dihydrogénophosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 1,2mM d'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4), 0,5mM de sulfate de sodium (Na_2SO_4), 1mM de chlorure de magnésium ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) et 1mM de chlorure de calcium ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

L'HPC dorsal a été inactivé par injection intracérébrale de CNQX (6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione, Sigma), un antagoniste compétitif des récepteurs AMPA, principal médiateur de la transmission synaptique excitatrice. En se fixant sur ces récepteurs, le CNQX empêche la fixation du glutamate et bloque l'ouverture du canal et la dépolarisation de l'élément post-synaptique. La

structure devient alors incapable d'émettre des potentiels d'action en réponse aux afférences excitatrices. Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé du CNQX à une concentration de 6 mM.

c) Injections intracérébrales

Durant les 3 jours précédant les séances d'injections intracérébrales, les rats ont été familiarisés à la procédure et les guide-canules ont été soigneusement nettoyés à l'aide de tire-nerfs. Les injections intracérébrales bilatérales ont été effectuées à l'aide de canules (\varnothing ext : 0,229 mm, \varnothing int : 0,127 mm) introduites dans les guide-canules et projetant 1,5 mm au-delà de l'extrémité du guide (Figure II.11), sur des animaux éveillés et libres de leurs mouvements. Chaque canule était connectée à une micro-seringue Hamilton® de 5 μ L via un cathéter flexible en polyéthylène. Pour les différentes solutions, 1 μ L a été injecté simultanément en bilatéral, à une vitesse constante de 0,8 μ L/min grâce à un pousse seringue motorisé (Harvard Apparatus®). A la fin des injections, les canules ont été laissées en place dans les guides canules durant 2 minutes afin de maximiser la diffusion de la substance dans la région ciblée.

d) Contrôle histologique

Une fois les régions corticales prélevées pour analyse biochimique, le positionnement des sites d'injection dans l'HPC dorsal a été évalué par un examen histologique. Pour cela, la région caudale des cerveaux a été congelée par immersion durant 3 minutes dans de l'isopentane liquide refroidi à environ -50°C par de la carboglace. Les cerveaux ont ensuite été coupés au cryostat (Leica®) à -21°C, en coupes frontales sériées de 50 μ m d'épaisseur. Les coupes ont été montées sur lame suivant l'axe rostro-caudal et laissées à sécher à température ambiante dans le noir pour un minimum de 24 heures. La position des guides canules a été ensuite vérifiée par la méthode de coloration classique à la thionine, puis observée sous loupe binoculaire. Seuls les rats bien implantés de façon bilatérale dans l'HPC dorsal ont été retenus pour analyse.

e) Analyses statistiques

Les résultats issus de la quantification des protéines sont exprimés sous la forme de trois ratios différents, chacun étant normalisé par rapport aux valeurs obtenues par le groupe PAI pour chaque période post-apprentissage : GluN2A/actine, GluN2B/actine, GluN2A/GluN2B (\pm écart standard à la moyenne (ESM) pour chaque moyenne exprimée). Pour chacune des deux périodes d'inactivation, les groupes PAI-LCSa et PAI-CNQX ont été fusionnés (les injections intracérébrales

chroniques de CNQX dans l’HPC dorsal ne modifiant pas le niveau basal d’expression des sous-unités GluN2 dans le COF) afin de simplifier l’analyse des résultats. Ainsi, une ANOVA à deux facteurs (traitement : LCSa vs CNQX vs PAI ; période post-apprentissage : précoce vs tardive) a été effectuée suivie d’une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

f) Plan expérimental

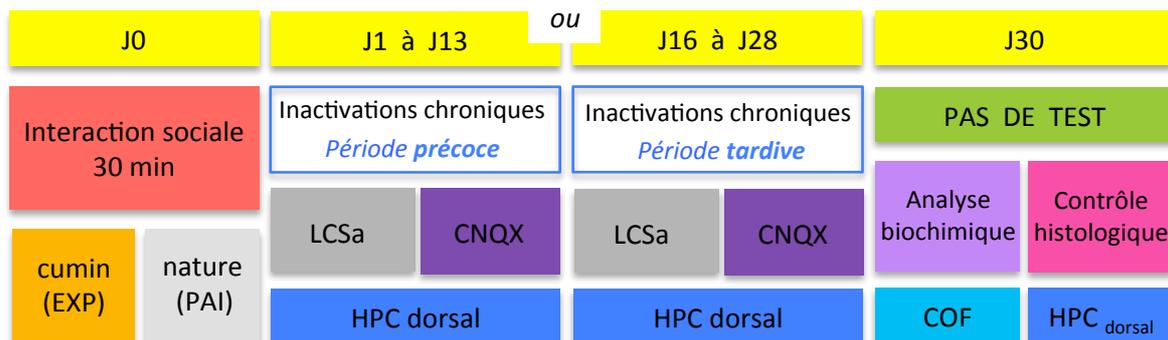


Figure II.12 : Plan expérimental de l’expérience 3

Après une interaction de 30 minutes avec un démonstrateur ayant consommé soit de la nourriture aromatisée au cumin, soit de la nourriture non-aromatisée, les animaux implantés bilatéralement dans l’HPC dorsal ont reçu des injections intracérébrales de LCSa ou de CNQX dans l’HPC dorsal, soit durant la phase précoce de l’intervalle de rétention (du jour 1 au jour 13), soit durant la période tardive (du jour 16 au jour 28). Ainsi, 7 injections intracérébrales ont été réalisées par animal au rythme d’une injection tous les deux jours et ont été arrêtées 2 jours avant la fin de chaque période pour que l’action du CNQX ne soit plus effective le dernier jour de chaque période d’inactivation (Lesburguères et al., 2011). Tous les cerveaux ont été prélevés 30 jours après l’interaction sociale pour l’analyse biochimique et histologique, sans soumettre les animaux au test de préférence entre le cumin et le thym. Ainsi, nous avons deux groupes EXP (EXP-LCSa et EXP-CNQX) pour chaque type de période (précoce vs tardive) et deux groupes témoins PAI (PAI-LCSa et PAI-CNQX) pour chacune de ces mêmes périodes afin de fournir le niveau basal d’expression des sous-unités GluN2 dans le COF et de façon à vérifier que les injections intracérébrales chroniques de CNQX dans l’HPC dorsal ne modifiaient pas ce niveau basal d’expression. Les animaux ont été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	Précoce		Tardive	
	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX
EXP	n=5	n=5	n=5	n=5
PAI	n=4	n=4	n=7	n=7

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 3

2. Résultats

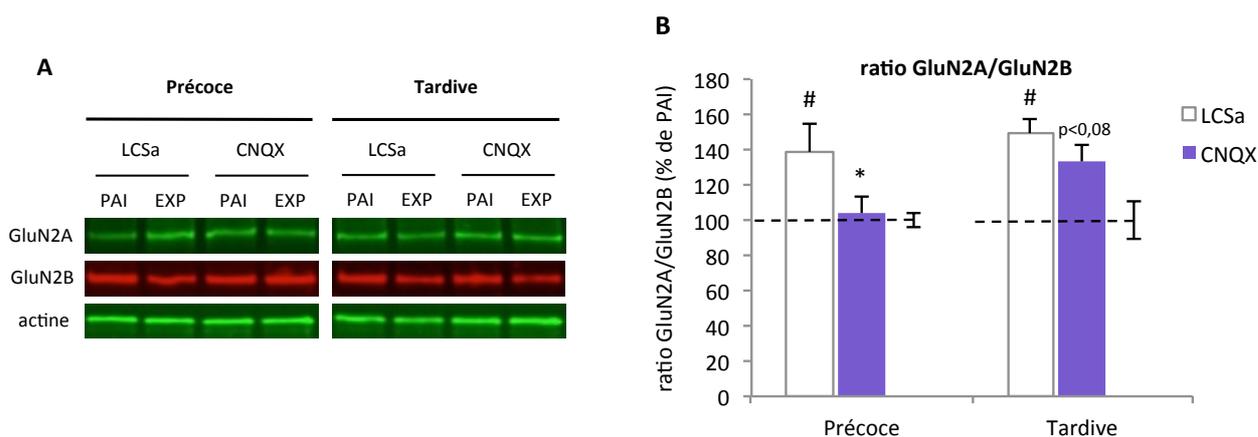


Figure II.13 : (A) Illustration représentative d'une membrane sur laquelle a été révélée en immunofluorescence l'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B ainsi que celle du gène de référence actine mesurée dans les fractions DPS issues du COF, 30 jours après l'interaction sociale et suite à l'inactivation pharmacologique chronique de l'HPC dorsal durant la période précoce ou tardive de l'intervalle de rétention. (B) Quantification du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B dans le COF. Les lignes pointillées représentent les résultats des groupes témoins PAI pour chacune des deux périodes d'inactivation (précoce : n=8 ; tardive : n=14). *p<0,05 versus LCSa ; #p<0,05 versus PAI ; p<0,08 versus PAI.

Une ANOVA à deux facteurs (traitement x période) révèle un effet du traitement ($F_{(2, 29)} = 9,859$, $p < 0,005$) mais pas d'effet de la période d'inactivation ($F_{(1, 29)} = 3,101$, $p > 0,05$) ni de l'interaction traitement x période ($F_{(2, 29)} = 0,9565$, $p > 0,05$). Malgré l'absence d'effet de l'interaction traitement x période, nous révélons que l'augmentation du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B observé dans le COF, 30 jours après l'interaction sociale (groupes EXP-LCSa – $p < 0,05$ versus PAI) est abolie par inactivation pharmacologique chronique de l'HPC dorsal avec du CNQX durant la période précoce post-acquisition ($p < 0,05$ versus LCSa) alors qu'elle tend à se maintenir suite à son inactivation durant la période tardive ($p > 0,05$ versus LCSa).

3. Conclusion

Nos résultats tendent à démontrer que l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B au sein des neurones du COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA est dépendante de la réactivation

récurrente du COF par l'HPC dorsal au cours de leur dialogue durant la période précoce de l'intervalle de rétention.

III. DISCUSSION

A. Une augmentation lente du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B au sein du COF au cours du dialogue hippocampo-cortical

La contribution fonctionnelle de l'HPC serait d'orchestrer la consolidation et le stockage à long terme au niveau cortical en induisant des changements graduels de l'organisation des réseaux neuronaux corticaux (McClelland et al., 1995; Squire and Alvarez, 1995). Lesburguères et al. (2011) a précédemment montré que la prise en charge corticale de la mémoire à long terme au cours de l'intervalle de rétention s'accompagnait d'un processus de synaptogénèse corticale (révélé par une augmentation de la densité des épines dendritiques). Le blocage du dialogue hippocampo-cortical par l'inactivation de l'HPC dorsal au cours de la période post-apprentissage précoce empêchait l'apparition de ces réarrangements architecturaux au niveau des neurones du COF. Dans la continuité de cette étude, nous démontrons à l'échelle synaptique que la stabilisation de la mémoire olfactive associative dans le COF s'accompagne d'une augmentation progressive du ratio GluN2A/GluN2B au sein des synapses de ce cortex. Cette augmentation s'opère principalement via une réduction de l'expression des sous-unités GluN2B, corroborant ainsi les résultats obtenues dans le cortex piriforme suite à l'apprentissage d'une tâche de discrimination olfactive (Lebel et al., 2006; Quinlan et al., 2004). Par ailleurs, le blocage du dialogue hippocampo-cortical par l'inactivation de l'HPC dorsal au cours de la période post-apprentissage précoce empêche la redistribution des récepteurs GluN2B-RNMDA au sein des synapses du COF. Bien que ce résultat renforce l'idée d'une action de l'HPC sur le COF, les connexions neuronales entre ces deux structures restent peu connues. Si l'existence de projections hippocampiques monosynaptiques sur les neurones du COF est peu probable, elles pourraient toutefois s'opérer par l'intermédiaire d'un relais au sein du CPFm. En effet, des études d'anatomie fonctionnelle ont décrit de nombreuses connexions bidirectionnelles entre la région HPC et le CPFm chez le rat (Jay and Witter, 1991; Jay et al., 1989). Le CPFm est connecté à de nombreuses autres régions corticales, et notamment de façon réciproque avec le cortex piriforme et le COF (Condé et al., 1995; Tronel and Sara, 2003). Ces connexions bidirectionnelles pourraient ainsi sous-tendre les interactions entre le COF et l'HPC. L'injection de traceur rétrograde dans le COF ou l'HPC pourrait apporter un éclairage nouveau sur la connectivité entre ces deux structures.

B. Corrélation entre niveau d'activité synaptique et niveau d'expression des sous-unités GluN2 au sein du COF au cours de la stabilisation et de l'oubli des informations olfactives associatives

Nous avons démontré que le processus de consolidation de la trace mnésique au niveau du COF est corrélé à une augmentation progressive du ratio GluN2A/GluN2B. Il semble que cette augmentation se mette en place durant les deux premières semaines de l'intervalle de rétention puis se maintient au moins durant les deux semaines qui suivent, comme le révèle nos analyses biochimiques effectuées un mois après l'acquisition. D'autre part, le processus d'oubli, observé 60 jours après l'interaction sociale (cf Chapitre I), est associé à un retour du ratio GluN2A/GluN2B au niveau basal. Bien que le niveau d'activité synaptique au sein des réseaux corticaux n'ait pas été mesuré durant l'intervalle de rétention, nos résultats suggèrent que de façon similaire aux observations faites *in vitro* ou *ex vivo* (Ehlers, 2003; Lau and Zukin, 2007), le niveau relatif d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B au sein du COF soit dépendant du niveau d'activité dans les réseaux neuronaux en charge du stockage de la trace mnésique. En effet, le dialogue hippocampo-cortical s'opérant durant les deux premières semaines post-acquisition et se traduisant par une forte activité dans les réseaux corticaux conduirait à l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B au sein des synapses du COF. Entre J30 et J60, alors que l'HPC ne participe plus à la réactivation récurrente de l'OFC et que la mémoire n'est pas soumise à un processus de rappel, le niveau d'activité neuronale dans le COF diminuerait progressivement durant ce délai, conduisant à une augmentation de l'expression post-synaptique des GluN2B-RNMDA et donc à une diminution du ratio GluN2A/GluN2B vers son niveau initial pré-acquisition. Ainsi la stabilisation de la mémoire à long terme au niveau cortical serait associée à une augmentation du ratio GluN2A/GluN2B alors que son oubli serait corrélé à la diminution de celui-ci. La contribution fonctionnelle de ces changements d'expression est évaluée dans le chapitre III.

C. Comment se maintient le ratio GluN2A/GluN2B dans le COF suite au désengagement hippocampique ?

Dans notre étude, nous avons mis en évidence que l'augmentation progressive du ratio GluN2A/GluN2B au sein des synapses du COF se met en place durant les deux premières semaines de l'intervalle de rétention puis se maintient au moins durant les deux semaines qui suivent, indépendamment d'une contribution hippocampique. Cette période tardive post-acquisition serait le siège d'une maturation cortico-corticale consécutive à la fin du dialogue hippocampo-cortical. Une question pertinente est alors de comprendre comment s'effectue le maintien du ratio

GluN2A/GluN2B durant cette période tardive alors que l'HPC est désengagé. Autrement dit, si l'on admet que ce maintien repose sur un niveau d'activation neuronale suffisant au sein du COF, quelle en serait l'origine ?

Il a d'ores et déjà été montré que certains cortex, tels que le CPFm et le CCA, joueraient un rôle d'intégrateur privilégié dans le rappel à long terme de la mémoire déclarative dans d'autres tâches initialement hippocampo-dépendantes (Bontempi et al., 1999; Frankland et al., 2004; Maviel et al., 2004; Takashima et al., 2006, 2009; Takehara et al., 2003; Takehara-Nishiuchi and McNaughton, 2008). Ainsi ces cortex, et plus particulièrement le CPFm, pourraient prendre en charge le rôle fonctionnel de l'HPC en assurant la réactivation des connexions cortico-corticales nécessaires au maintien du ratio GluN2A/GluN2B suite au désengagement hippocampique. Au vue de sa forte connectivité avec d'autres régions corticales (cf ci-dessus), le CPFm est comme l'HPC une structure adaptée pour l'intégration d'information provenant de multiples régions néocorticales (Blum et al., 2006; Miyashita, 2004). Il pourrait remplir la fonction de l'HPC en indexant les adresses néocorticales des assemblées neuronales étiquetées, recrutées au moment de l'acquisition dans les sites néocorticaux pour donner au rappel des mémoires anciennes une forme cohérente (Frankland and Bontempi, 2005, 2006). Ainsi, le rôle d'intégrateur initialement assuré par l'HPC consistant à réactiver les différents sites néocorticaux qui détiennent les éléments de la trace mnésique afin de renforcer leur connectivité au cours du dialogue hippocampo-cortical pourrait être graduellement transféré vers le CPFm au cours de la progression de la consolidation, conférant alors au CPFm un rôle actif privilégié dans la maturation du réseau cortico-cortical supportant le stockage de mémoires anciennes initialement hippocampo-dépendantes.

Ainsi le maintien du ratio GluN2A/GluN2B au sein du COF suite au désengagement hippocampique pourrait être assuré par le CPFm au cours d'un dialogue purement cortico-cortical. Si cette hypothèse est vraie, les résultats attendus pourraient être le « miroir » de ceux obtenus suite aux inactivations hippocampiques : l'inactivation pharmacologique chronique du CPFm durant la période post-acquisition précoce (entre J1 et J15) ne devrait pas perturber la réorganisation du ratio GluN2A/GluN2B au sein du COF (assuré par l'HPC), alors que son inactivation au cours de la période tardive de l'intervalle de rétention (entre J15 et J30, voire les jours suivants) devrait aboutir à un retour du ratio GluN2A/GluN2B proche de son niveau basal.



CHAPITRE III

Implication fonctionnelle de la redistribution post-synaptique des récepteurs corticaux contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B au cours de la consolidation systémique et du processus d'oubli

I. INTRODUCTION

A. Contribution fonctionnelle de la redistribution des récepteurs NMDA contenant les sous-unités GluN2 dans les processus mnésiques

Comme nous l'avons démontré précédemment, la composition synaptique en sous-unités GluN2 n'est pas statique mais peut subir des modifications dynamiques en réponse à des variations d'activité synaptique induites *in vivo* par différentes expériences sensorielles ou cognitives. Bien que ces phénomènes aient longtemps été considérés comme spécifiques du cerveau en développement (Yashiro and Philpot, 2008), un nombre croissant d'études démontre leur existence chez l'adulte (Sawtell et al., 2003 ; Yashiro et al., 2005 ; Tsanov and Manahan-Vaughan, 2007 ; He et al., 2006 ; Kim et al., 2006 ; Kopp et al., 2007 ; Finnie and Nader, 2012 ; Baez et al., 2013). Sur la base de leurs propriétés respectives, ces changements dans la composition en sous-unités GluN2 pourraient influencer durablement les mécanismes de plasticité synaptique accompagnant les processus mnésiques chez un grand nombre d'espèces animales.

Par exemple, chez les canaris adultes (*Serinus canarius*), l'apprentissage du chant reproducteur est associé à des changements d'expression des sous-unités GluN2 dans certaines régions cérébrales contrôlant ce comportement. En effet, bien que la plasticité vocale chez beaucoup d'oiseaux soit limitée à une période sensible, certaines espèces comme le canari conservent une capacité à modifier leur chant à l'âge adulte. Ainsi, le chant produit par le canari est stable durant la saison de reproduction (au printemps) mais peut-être modifié durant l'automne et l'hiver (Brenowitz, 2008). L'affinage et la stabilisation des nouveaux patterns vocaux au début du printemps est associé à une augmentation des taux plasmatiques de testostérone stimulée par un accroissement de la photo-période. Suite à la période de reproduction, les taux circulants de testostérone chutent ce qui coïncide avec une augmentation de la plasticité vocale (Singh et al., 2003). De manière très intéressante, le niveau d'ARNm codant pour la sous-unité GluN2B est corrélé négativement aux taux de testostérone, il est plus élevé durant les photo-périodes courtes et diminue pendant les photo-périodes longues, abaissant probablement les seuils d'induction de la plasticité synaptique et permettant la stabilisation du chant au début du printemps (Singh et al., 2003). Bien qu'un lien de causalité n'ait pas été exploré dans cette dernière étude, ces résultats supportent l'hypothèse que des changements dans l'expression des sous-unités GluN2B influencent fortement les processus de plasticité synaptique nécessaires à la réorganisation des chants saisonniers chez le canari adulte (Brenowitz, 2008).

Dans un autre contexte, l'équipe d'Elizabeth Quinlan fut la première à proposer que l'augmentation du ratio synaptique GluN2A/GluN2B observée au sein du cortex piriforme suite à l'apprentissage d'une tâche de discrimination olfactive chez le rat adulte pourrait constituer un mécanisme moléculaire permettant de limiter les processus de plasticité synaptique au niveau des synapses précédemment activées au moment de l'acquisition et ainsi permettre de stabiliser à long terme les nouveaux souvenirs au sein des réseaux corticaux (Quinlan et al., 2004). Par ailleurs, comme nous l'avons observé dans le COF au cours des expériences présentées dans le chapitre précédent, cette augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans le cortex piriforme résulterait principalement d'une réduction de l'expression des sous-unités GluN2B plutôt que d'une augmentation des sous-unités GluN2A (Lebel et al., 2006). Cependant, savoir si la redistribution des sous-unités GluN2 observée au cours du délai de rétention est nécessaire à la formation de la mémoire à long-terme reste une question qui commence juste à être explorée (Lebel et al., 2006 ; Potier et al., 2015 ; Zhang et al., 2015). Dans leur étude, Lebel et al. (2006) démontrent que l'apprentissage de la tâche de discrimination olfactive mentionnée ci-dessus peut s'opérer en l'absence de variations de l'expression des sous-unités GluN2B, suggérant que la redistribution des ces sous-unités n'est pas nécessaire à l'apprentissage de cette tâche. Cependant, ces auteurs ne montrent pas si l'absence de redistribution des sous-unités GluN2B affecte ou pas la rétention de la mémoire à long terme.

Le développement d'antagonistes sélectifs de chacune des sous-unités GluN2 et la création de souris KO pour ces sous-unités ont permis de grandes avancées sur la compréhension du rôle fonctionnel de chacune d'elles dans les processus mnésiques. Jusqu'à récemment, il n'était pas possible de bloquer les changements d'expression des sous-unités GluN2 sans affecter l'activité des récepteurs. Cependant les avancées réalisées sur la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant la régulation de la dynamique de surface des récepteurs NMDA ont permis la création d'outils moléculaires spécifiques capables de « figer » ces récepteurs à la surface des neurones. Ainsi, afin d'appréhender la dynamique fonctionnelle des sous-unités GluN2 au cours de la consolidation mnésique et du processus d'oubli, nous avons choisi une approche invasive utilisant à la fois des outils pharmacologiques classiques et une stratégie plus innovante permettant de figer les récepteurs NMDA à la surface des neurones corticaux.

B. Objectifs

Les expériences présentées dans ce chapitre ont eu pour objectif d'évaluer si les variations du ratio GluN2A/GluN2B observées dans le COF durant l'intervalle de rétention présentent une pertinence fonctionnelle au cours du processus de consolidation des traces mnésiques à l'échelle systémique et au cours du phénomène d'oubli. Afin de répondre à cette question, nous avons dans un premier temps inactivé pharmacologiquement les récepteurs NMDA contenant les sous-unités GluN2A (GluN2A-RNMDA) ou ceux contenant les sous-unités GluN2B (GluN2B-RNMDA) dans le COF durant la période *précoce* ou *tardive* de l'intervalle de rétention (Expériences 1 et 2). Nous avons également évalué l'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux dans le rappel des informations olfactives associatives récentes (J1) et anciennes (J30) (Expérience 3).

D'autre part, une seconde stratégie d'étude a consisté à figer artificiellement la dynamique de surface des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA entre les espaces synaptiques et extra-synaptique des neurones glutamatergiques du COF via l'injection intra-corticale d'anticorps (protocole appelé « cross-linking ») durant la période post-apprentissage abritant le processus de consolidation mnésique de la mémoire acquise en TSPA (entre J1 et J30) ou durant la période conduisant à l'oubli progressif de cette mémoire (entre J30 et J60) (Expériences 4 et 5). Cette approche moléculaire originale a ainsi permis d'évaluer la contribution fonctionnelle de la dynamique de surface des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA au cours des processus de consolidation mnésique et d'oubli.

II. CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES

A. Expérience 1 : Inactivations pharmacologiques chroniques précoces ou tardives des GluN2A-RNMDA ou des GluN2B-RNMDA du COF au cours de la consolidation systémique de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) Procédure chirurgicale

L'implantation stéréotaxique de guide-canules a été effectuée selon la procédure décrite dans l'expérience 3 du chapitre précédent. Pour chaque animal, deux guides canules ont été implantés bilatéralement dans le COF, 1,5 mm au-dessus du futur site d'injection (Figure III.1).

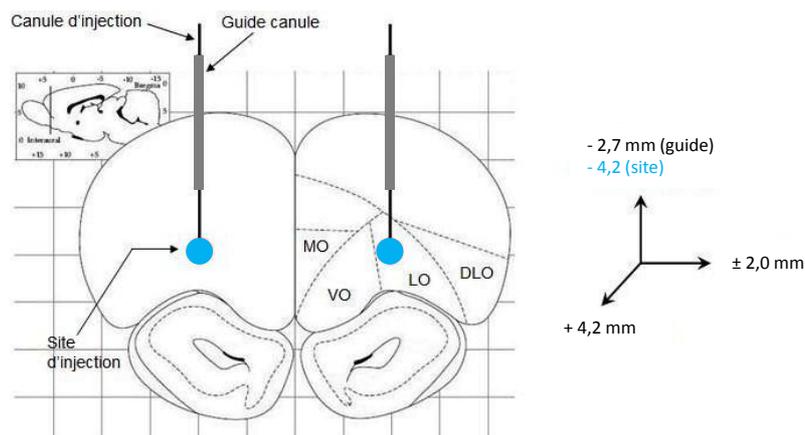


Figure III.1 : Schéma d'implantation stéréotaxique des guide-canules dans le COF chez le rat (coupe frontale de cerveau tirée de l'atlas de Paxinos et Watson, 1998). Les coordonnées indiquées sont exprimées en référence au Bregma. MO : région médiane, VO : région ventrale, LO : région latérale, DLO : région dorso-latérale.

Les coordonnées des sites d'implantation du COF ont été calculées à partir de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (1998), en utilisant le bregma comme point de référence : antéro-postérieur = +4,2 mm ; latéral = +/-2 mm ; dorso-ventral = -2,5 mm. Suite à l'opération, les rats ont bénéficié de deux semaines de récupération post-opératoire avant d'être soumis à la phase d'apprentissage.

b) Substances pharmacologiques et injections intracérébrales

Les différentes substances ont été injectées bilatéralement dans le COF à un volume de 1 μ L par hémisphère. Toutes les drogues utilisées ont été diluées dans du LCSa (Tocris) ; celui-ci a donc été utilisé comme solution véhicule dans les groupes d'animaux témoins. Afin de bloquer sélectivement les GluN2B-RNMDA, nous avons injecté 30 nmoles d'Ifenprodil (Tocris), un antagoniste non-compétitif des récepteurs GluN1/GluN2B (Williams, 1993). Le blocage sélectif des GluN2A-RNMDA a été obtenu en injectant 1 nmole de TCN-201 (Tocris), un antagoniste non-compétitif des récepteurs GluN1/GluN2A (Edman et al., 2012 ; Gipson et al., 2012). Les rats traités avec l'Ifenprodil ou le TCN-201 ont été comparés à deux groupes de rats témoins : l'un injecté avec de l'AP-5 (acide D-2-amino-5-phosphonopentanoïque ; 20 nmoles, Tocris), un antagoniste compétitif ciblant l'ensemble des récepteurs NMDA, ce qui a permis de contrôler l'implication de ces récepteurs dans les différentes phases de la consolidation ; l'autre injecté avec du LCSa servant de contrôle négatif (sham).

Durant les 3 jours précédant les séances d'injections intracérébrales, les rats ont été familiarisés à la procédure d'injection et les guide-canules ont été soigneusement nettoyés à l'aide

de tire-nerfs. Les injections intracérébrales bilatérales ont ensuite été effectuées selon la procédure décrite dans l'expérience 3 du chapitre précédent.

c) *Analyses statistiques*

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin ou cacao) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. Les résultats issus de la quantification des sous-unités GluN2 sont exprimés sous la forme de trois ratios différents, chacun étant normalisé par rapport aux valeurs obtenues par le groupe PAI : GluN2A/actine, GluN2B/actine, GluN2A/GluN2B (\pm ESM pour chaque moyenne exprimée). L'analyse statistique a été effectuée grâce à une ANOVA à deux facteurs (traitement : LCSa vs AP-5 vs TCN-201 vs Ifenprodil ; période post-apprentissage : précoce vs tardive) suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

d) *Plan expérimental*

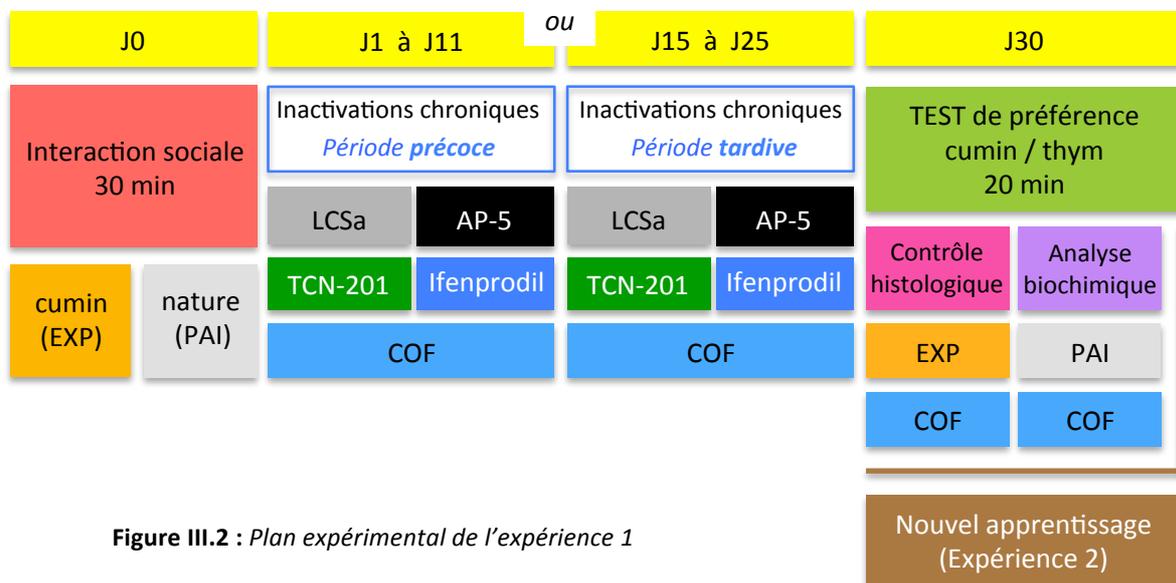


Figure III.2 : Plan expérimental de l'expérience 1

Suite à une interaction de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement dans le COF ont reçu des injections intracérébrales de LCSa, d'AP-5, de TCN-201 ou d'Ifenprodil dans le COF soit durant la phase précoce de l'intervalle de rétention (du jour 1 au jour 11), soit durant la période tardive (du jour 15 au jour 25). Ainsi, 6 injections intracérébrales

ont été réalisées par animal au rythme d'une injection tous les deux jours. Les injections durant la période tardive ont été arrêtées 5 jours avant le test de rétention afin de s'assurer que les différentes drogues ne soient plus effectives au moment du rappel mnésique. Le test de préférence a été effectué entre le cumin et le thym 30 jours après l'interaction sociale pour tous les animaux. Les performances des animaux témoins PAI ayant interagi avec un démonstrateur ayant consommé de la nourriture non aromatisée ont permis ainsi de fournir le niveau de préférence alimentaire innée pour le thym dans les conditions de l'expérience. Ces animaux ayant également subis le même protocole d'injection, cela nous a permis de vérifier que les injections ne modifiaient pas cette préférence innée ou les aspects motivationnels nécessaires à la réalisation de la tâche. A l'issue des 20 min du test de rétention, nous avons constitué trois groupes :

- Les cerveaux des rats EXP ayant reçu les injections de TCN-201 ou d'Ifenprodil ont été prélevés afin de vérifier la position des guides-canules au sein du COF. Seuls les rats bien implantés de façon bilatérale dans le COF ont été retenus pour analyse.
- Les cerveaux des rats PAI injectés avec le TCN-201 ou l'Ifenprodil et la moitié de ceux injectés avec le LCSa ou l'AP-5, ont été prélevés pour effectuer une quantification des sous-unités GluN2A et GluN2B exprimées dans les membranes post-synaptiques du COF (Expérience 1d).
- Les rats EXP et la moitié des rats PAI, précédemment injectés avec le LCSa ou l'AP-5 ont été soumis à une nouvelle interaction sociale (Expérience 2), afin de vérifier les effets réversibles des inactivations pharmacologiques chroniques sur la formation de la mémoire à long terme.

Les animaux ont donc été répartis en 16 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	Précoce				Tardive			
	LCSa	AP-5	TCN-201	Ifenprodil	LCSa	AP-5	TCN-201	Ifenprodil
EXP	n=11	n=8	n=10	n=8	n=12	n=8	n=9	n=10
PAI	n=6	n=6	n=3	n=3	n=6	n=6	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 1

2. Résultats

a) Effet de l'inactivation chronique précoce ou tardive des récepteurs NMDA du COF sur la préférence alimentaire innée

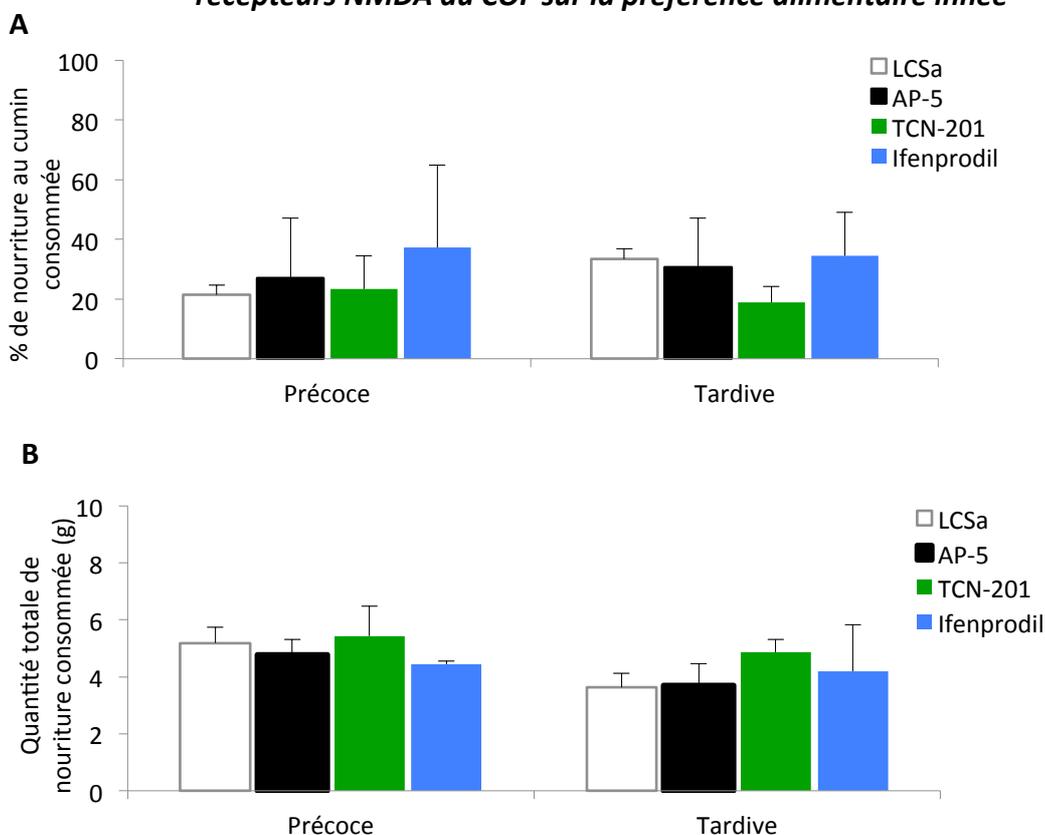


Figure III.3 : (A) Résultats comportementaux des groupes témoins PAI 30 jours après l'interaction sociale avec un rat ayant consommé une nourriture non-aromatisée. L'injection chronique des antagonistes durant la phase précoce ou tardive ne modifie pas les performances des animaux PAI exprimées en pourcentage de nourriture au cummin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence ne révélant aucune différence de motivation entre les rats injectés avec le LCSa ou ceux injectés avec les antagonistes des récepteurs NMDA.

Nous confirmons premièrement que les animaux témoins PAI consomment très peu de nourriture aromatisée au cummin et montrent bien une préférence alimentaire innée pour le thym. Les différentes injections intracérébrales effectuées soit durant la période précoce, soit dans la période tardive de l'intervalle de rétention n'ont pas d'effet ni sur cette préférence testée 30 jours après l'interaction sociale (ANOVA : interaction traitement x période d'inactivation : $F_{(3,16)} = 0,1222$, $p > 0,05$), ni sur la quantité totale de nourriture consommée (ANOVA : interaction traitement x période d'inactivation : $F_{(3,16)} = 1,604$, $p > 0,05$). Nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin ($n=18$ par période). La moyenne des performances comportementales de ces animaux nous a alors permis de générer les niveaux de préférence alimentaire innée pour le thym, représentés sur la figure suivante (Figure III.4).

b) Effet de l'inactivation chronique précoce ou tardive des récepteurs NMDA du COF sur la formation de la mémoire à long terme

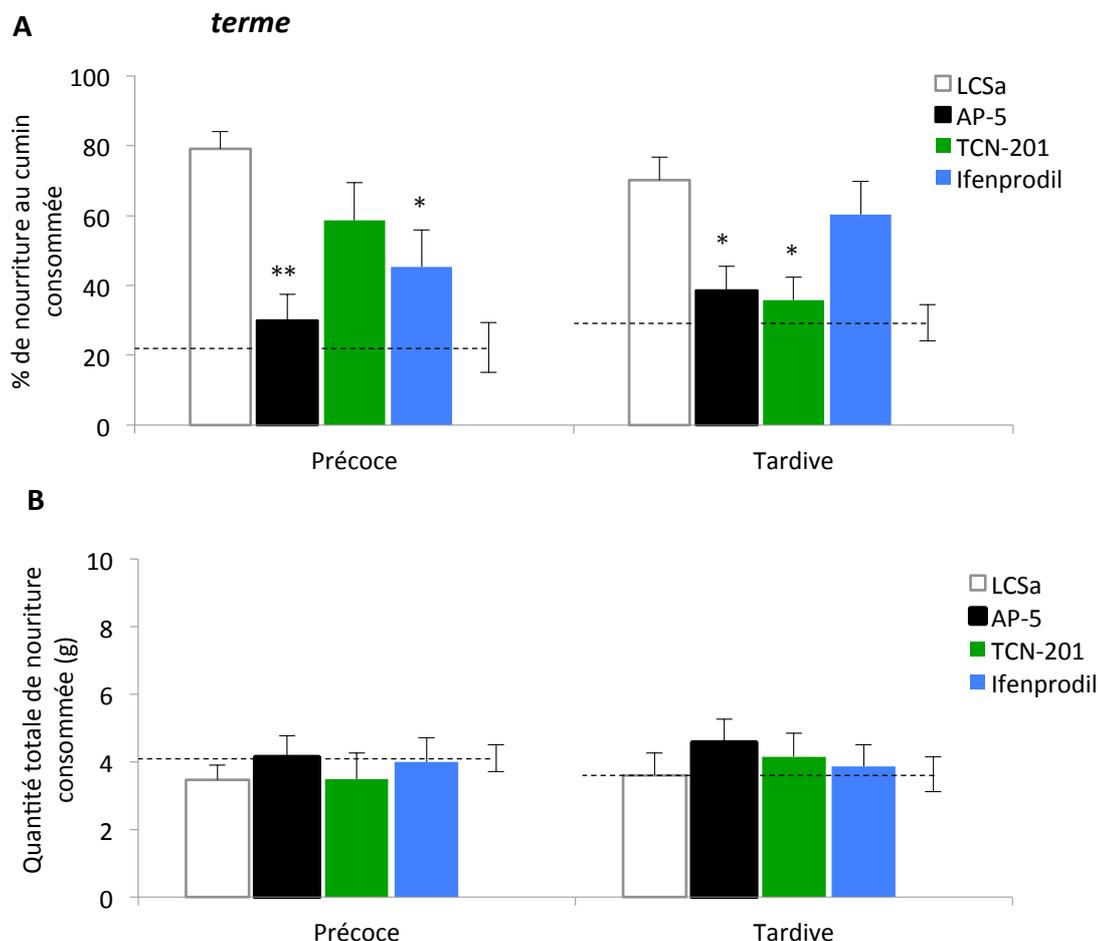


Figure III.4 : (A) Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) 30 jours après l'interaction sociale avec un rat ayant consommé du cumin et suite aux injections chroniques de LCSa, de l'AP-5, de l'ifenprodil ou de TCN-201 durant la phase précoce ou tardive de l'intervalle de rétention. Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. Les lignes en pointillé représentent la moyenne des performances des groupes témoins PAI (n=18 pour chaque période). *p<0,05 ; **p<0,01 versus LCSa.

Concernant la proportion de cumin consommée, une ANOVA à deux facteurs (traitement x période) révèle un effet du traitement ($F_{(3, 66)} = 9,742$, $p < 0,0001$) et de l'interaction traitement x période ($F_{(3, 66)} = 3,964$, $p < 0,05$) mais pas d'effet de la période d'inactivation seule ($F_{(1, 66)} = 0,2125$, $p > 0,05$). L'inactivation chronique des récepteurs NMDA corticaux par infusion d'AP-5 dans le COF durant la période précoce ou tardive de l'intervalle de rétention perturbe la consolidation de la mémoire olfactive associative testée 30 jours après l'interaction sociale (précoce : $p < 0,01$ vs LCSa; tardive : $p < 0,05$ vs LCSa). L'inactivation chronique et sélective des GluN2B-RNMDA par injection d'ifenprodil perturbe la formation de la mémoire quand celle-ci est réalisée durant la période précoce ($p < 0,05$ vs LCSa) mais pas durant la période tardive ($p > 0,05$ vs LCSa). Le pattern d'effets

est opposé suite à l'inactivation chronique des GluN2A-RNMDA. En effet, la capacité du TCN-201 à bloquer la consolidation mnésique est supérieure quand il est injecté durant la période tardive post-acquisition ($p < 0,05$ vs LCSa) en comparaison de la période précoce ($p > 0,05$ vs LCSa).

Aucune différence significative sur la quantité de nourriture consommée entre les groupes étudiés n'a été observée (ANOVA : interaction traitement x période : $F_{(3, 66)} = 0,2769$, $p > 0,05$) (cf Figure III.4B). L'effet comportemental de l'AP-5, du TCN-201 ou de l'ifenprodil observé précédemment n'est donc pas dû à une différence de prise alimentaire ou de niveau de motivation des animaux au moment du test de rétention.

c) Vérification de l'effet des inactivations pharmacologiques chroniques des récepteurs NMDA sur les changements d'expression post-synaptiques des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF

Des études antérieures ont démontré que l'inactivation chronique des récepteurs NMDA pouvaient modifier le niveau d'expression des sous-unités GluN2 (Folessa et al., 1996 ; Chen and Bear, 2006 ; Crump et al., 2001). Afin de vérifier que les effets observés lors des inactivations chroniques sont bien liés à un blocage de l'activité des différents récepteurs NMDA et non pas à un changement dans la proportion des sous-unités GluN2A et GluN2B exprimées au niveau synaptique, nous avons mesuré l'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF des animaux ayant subi des inactivations chroniques précoces ou tardives avec les différents antagonistes. Nous avons mesuré le ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B après le test de préférence entre le cumin et le thym, mais uniquement chez les rats du groupe PAI afin d'éviter un effet confondant entre la modification d'expression du ratio GluN2A/GluN2B induit par la consolidation systémique de la mémoire induite en TSPA et celle potentiellement induite par l'inactivation chronique précoce ou tardive des récepteurs NMDA.

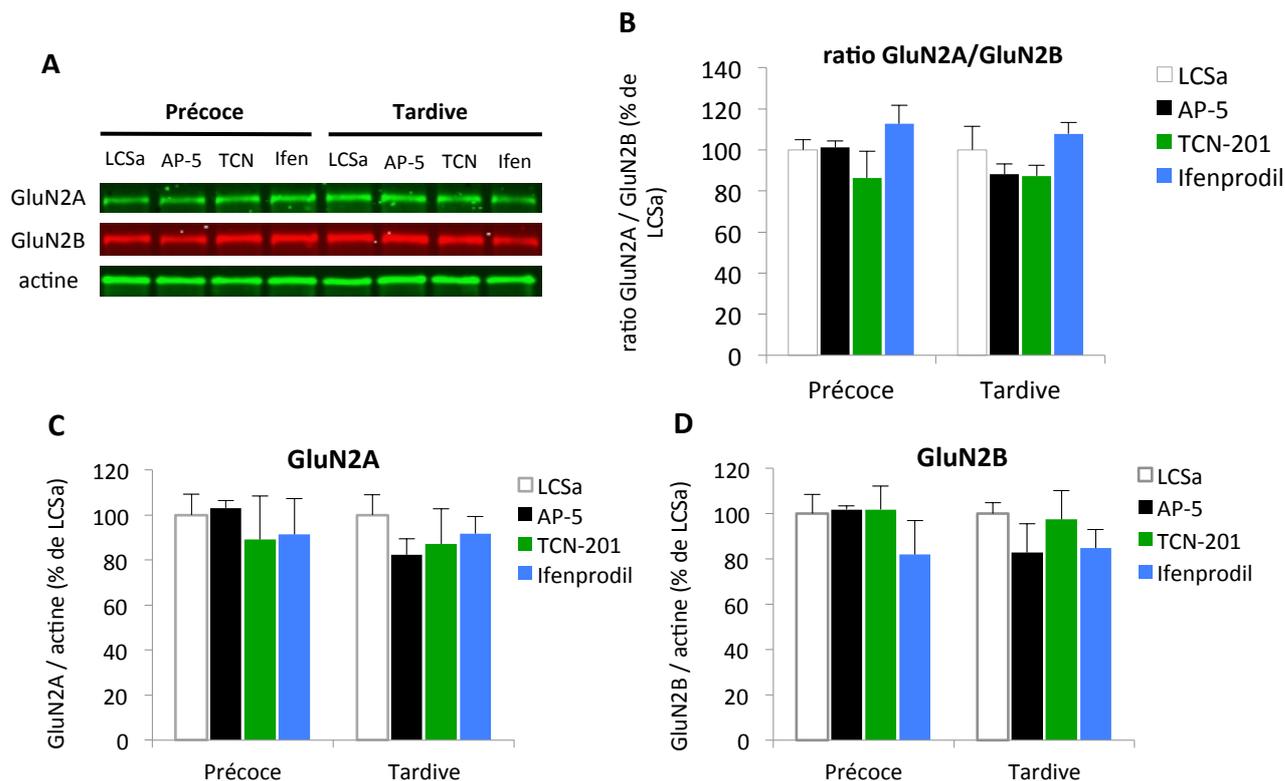


Figure III.5 : (A) Illustration d'immunoblots représentatifs du niveau d'expression des sous-unités GluN2A, GluN2B et d'actine dans les fractions DPS issues du COF. (B) Quantification du ratio GluN2A/GluN2B ou des sous-unités GluN2A (C) et GluN2B (D) au sein du COF, 30 jours après l'interaction sociale avec un rat démonstrateur ayant consommé une nourriture non aromatisée et suite aux injections chroniques des différents antagonistes durant la période précoce ou tardive de l'intervalle de rétention.

Après quantification des immunoblots, illustrés Figure III.5A, nos résultats indiquent qu'aucune modification dans l'expression des sous-unités GluN2A (interaction traitement x période : $F_{(3,16)} = 0,8059$, $p > 0,05$), GluN2B (interaction traitement x période : $F_{(3,16)} = 0,4626$, $p > 0,05$) ou du ratio GluN2A/GluN2B (interaction traitement x période : $F_{(3,16)} = 0,3228$, $p > 0,05$) n'a été observée au sein du groupe PAI, 30 jours après l'interaction sociale et suite aux inactivations pharmacologiques chroniques des récepteurs NMDA durant les périodes précoce ou tardive de l'intervalle de rétention. Néanmoins, ces observations n'excluent pas la possibilité de variations de leur expression durant l'intervalle de rétention, ce que nous n'avons pas mesuré.

3. Conclusion

L'ensemble de ces résultats issus de l'inactivation pharmacologique chronique des récepteurs NMDA du COF durant la période précoce ou tardive de l'intervalle de rétention suggère que 1) l'activation de ces récepteurs est nécessaire aussi bien au cours du dialogue hippocampo-

cortical que durant une période plus tardive de maturation cortico-corticale faisant suite au désengagement hippocampique ; 2) la stabilisation à long terme des traces mnésiques olfactives associatives dans le COF est associée à un désengagement fonctionnel progressif des GluN2B-RNMDA couplé à un recrutement fonctionnel des GluN2A-RNMDA, ce qui tend à corroborer les observations faites précédemment d'une augmentation progressive du ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes post-synaptiques du COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA (cf Chapitre II).

L'expérience suivante a consisté à vérifier si les effets délétères des injections chroniques intracérébrales d'AP-5 pendant les périodes post-apprentissage précoce ou tardive (Figure III.4) étaient bien la conséquence d'une perturbation du processus de consolidation mnésique plutôt que le résultat d'une perturbation des processus de rappel attribuable à des dommages irréversibles et permanents du fonctionnement du COF. Pour cela, nous avons soumis une partie des animaux de l'expérience 1 à une nouvelle procédure d'apprentissage, à savoir une seconde tâche de TSPA, réalisée à l'aide d'une nouvelle paire d'odeurs (cacao/cannelle).

B. Expérience 2 : Vérification des effets réversibles des inactivations pharmacologiques chroniques sur la formation de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

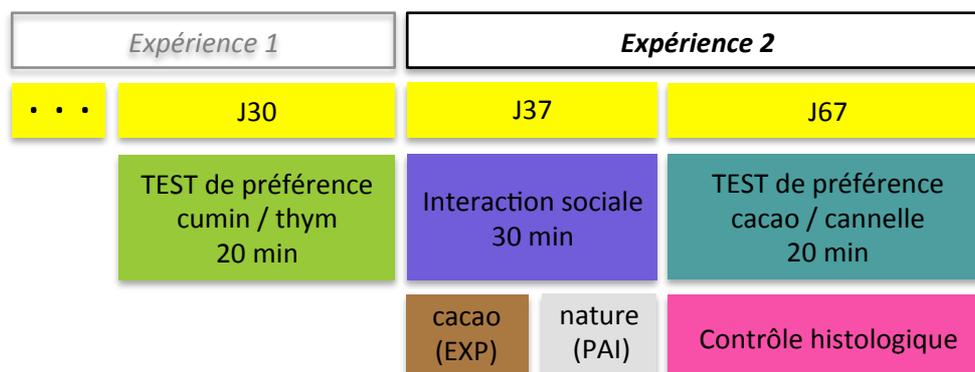


Figure III.6 : Plan expérimental de l'expérience 2

Une partie des animaux de l'expérience 1 (cette seconde expérience s'est limitée aux rats EXP et à la moitié des rats PAI, précédemment injectés avec le LCSa ou l'AP-5) a été replacée dans l'animalerie après le test de rétention de 30 jours puis soumis à une nouvelle interaction sociale 7 jours plus tard (Figure III.6). Le jour de l'interaction, les animaux ont interagi pendant 30 minutes avec un démonstrateur ayant consommé de la nourriture aromatisée au cacao (2%) ou non aromatisée (groupe PAI). Les rats observateurs ont ensuite été soumis à un test de rappel 30 jours après la session d'interaction. Au cours du test de préférence alimentaire, tous les animaux devaient choisir entre de la nourriture aromatisée au cacao ou à la cannelle (1%), pendant 20 minutes. A la fin du test, la nourriture a été retirée et pesée, et le pourcentage de nourriture aromatisée au cacao consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont ensuite été sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la vérification des sites d'implantations des guides canules. Les animaux ont été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	précédemment Précoce		précédemment Tardive	
	LCSa	AP-5	LCSa	AP-5
EXP	n=8	n=8	n=8	n=8
PAI	n=3	n=3	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 2

2. Résultats

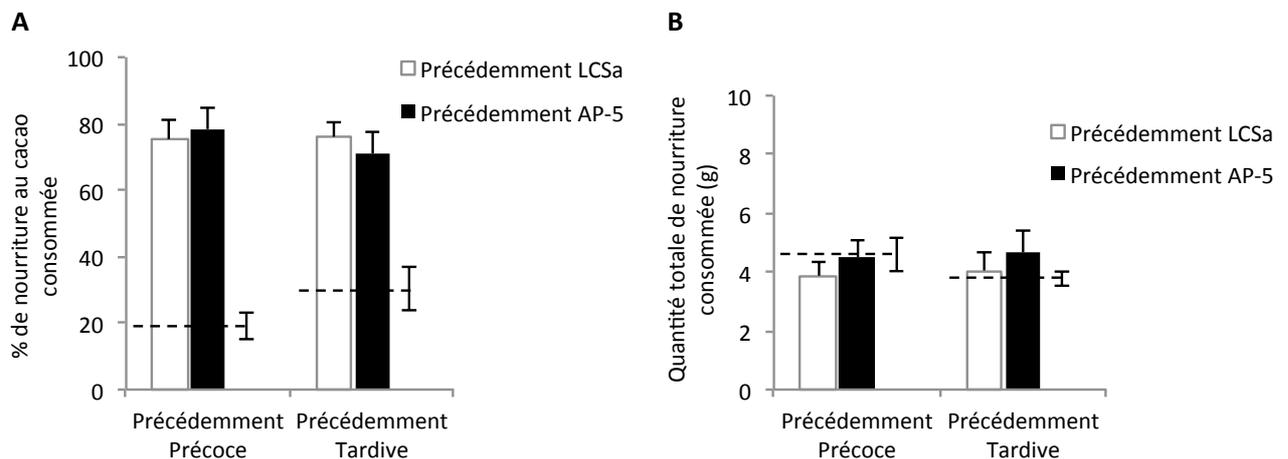


Figure III.7 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J67. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cacao consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée. Les lignes en pointillé représentent la moyenne des performances des groupes témoin PAI lors du test de rappel (n=6 pour chaque période). Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture aromatisée à la cannelle.

Quelle que soit la période pendant laquelle les rats ont subi des injections chroniques d'AP-5, les performances mnésiques de ces animaux ne diffèrent pas de celles observées chez le groupe de rats injectés avec le LCSa (ANOVA : interaction traitement x période : $F_{(1, 30)} = 0,4422$, $p > 0,05$). Par ailleurs, la quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x période : $F_{(1, 30)} = 2.416e-005$, $p > 0,05$) révélant que les animaux présentaient tous le même niveau de motivation au moment du test de préférence.

3. Conclusion

Comme mentionné précédemment, le COF est impliqué dans le rappel de la mémoire à long, mais pas à court terme (Lesburguères et al., 2011). Nous avons donc émis l'hypothèse que si le fonctionnement de cette structure était altéré de façon irréversible par l'injection chronique de l'AP-5 pendant l'intervalle de rétention, les animaux ne pourraient pas rappeler correctement, lors d'un test à long terme, les informations encodées lors de la seconde interaction. Ainsi pour ces animaux, nous avons opté pour un second test réalisé 30 jours après la seconde interaction. Nous avons montré que tous les animaux rappelaient parfaitement les informations portées par l'haleine du démonstrateur au moment de la seconde interaction. Ce résultat, qui indique que ces animaux sont capables de réapprendre et de consolider une nouvelle information, permet d'écarter un effet non spécifique des injections chroniques d'AP5 sur le fonctionnement du COF. Le déficit de consolidation observé dans l'expérience 1 est donc bien spécifique de l'information acquise 30 jours plus tôt.

Les données issues des expériences 1 et 2 identifient un rôle différentiel des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les différentes phases de la consolidation systémique qui précèdent le rappel. L'étape suivante a été d'évaluer l'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA du COF dans le rappel des traces mnésiques olfactives associatives récentes et anciennes. Sur la base des résultats obtenus précédemment, nous avons fait l'hypothèse que les GluN2A-RNMDA pourraient avoir une implication fonctionnelle prépondérante dans le rappel des informations anciennes.

C. Expérience 3 : Inactivation pharmacologique des récepteurs NMDA corticaux lors du rappel des informations récentes et anciennes

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

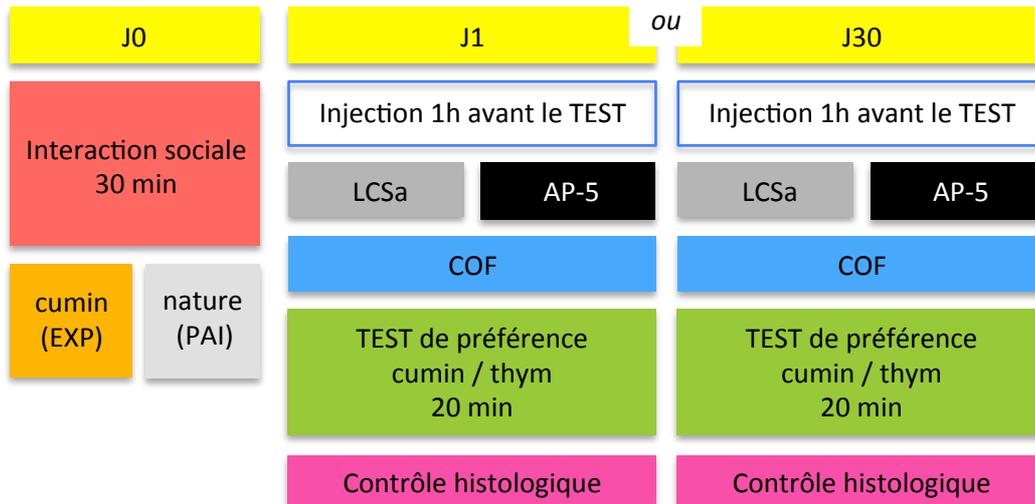


Figure III.8 : Plan expérimental de l'expérience 3

Suite à une interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur ayant consommé de la nourriture aromatisée au cumin (groupe EXP) ou non aromatisée (groupe PAI), les rats observateurs ont été soumis à un test de rappel à court terme (1 jour) ou à long terme (30 jours). Une heure avant le test de préférence alimentaire, ils ont reçu une injection intra-corticale de LCSa ou d'AP-5. A l'issue des 20 minutes de test, la nourriture a été pesée, et le pourcentage de nourriture au cumin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont été sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la vérification des sites d'implantations des guides canules. Les animaux ont été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	J1		J30	
	LCSa	AP-5	LCSa	AP-5
EXP	n=7	n=8	n=7	n=12
PAI	n=3	n=3	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 3

2. Résultats

a) Effet de l'inactivation transitoire des récepteurs NMDA du COF sur la préférence alimentaire innée

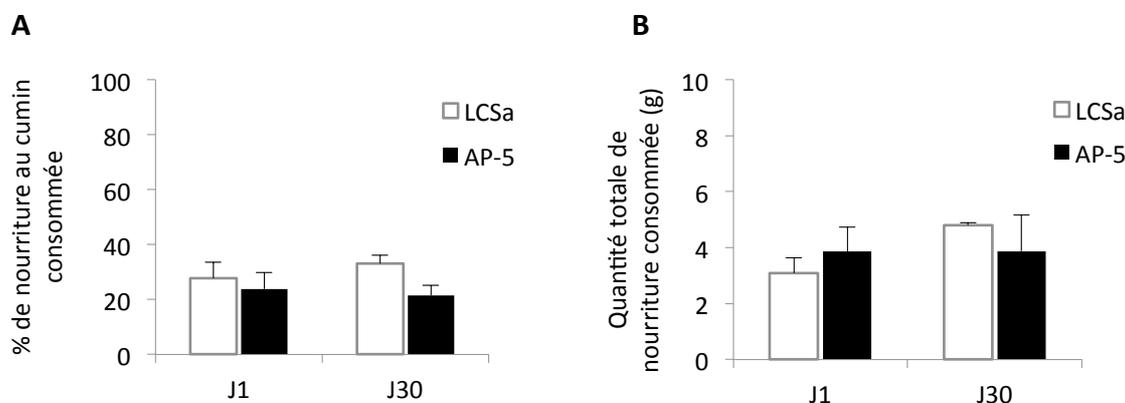


Figure III.9 : Résultats comportementaux des groupes témoins PAI à J1 et J30. (A) Performances des animaux PAI exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence.

Quel que soit le traitement reçu ou le délai du test de rappel, les animaux PAI consomment préférentiellement du thym (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(1, 8)} = 0,6122$, $p > 0,05$). L'analyse de la quantité totale de nourriture ne révèle également aucun effet (interaction traitement x délai : $F_{(1, 8)} = 1,056$, $p > 0,05$). Comme précédemment, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin ($n=6$ par délai). La moyenne des performances comportementales de ces animaux nous a alors permis de générer les niveaux de préférence alimentaire innée pour le thym représentés Figure III.10.

b) Effet de l'inactivation transitoire des récepteurs NMDA du COF sur le rappel de la mémoire récente et ancienne

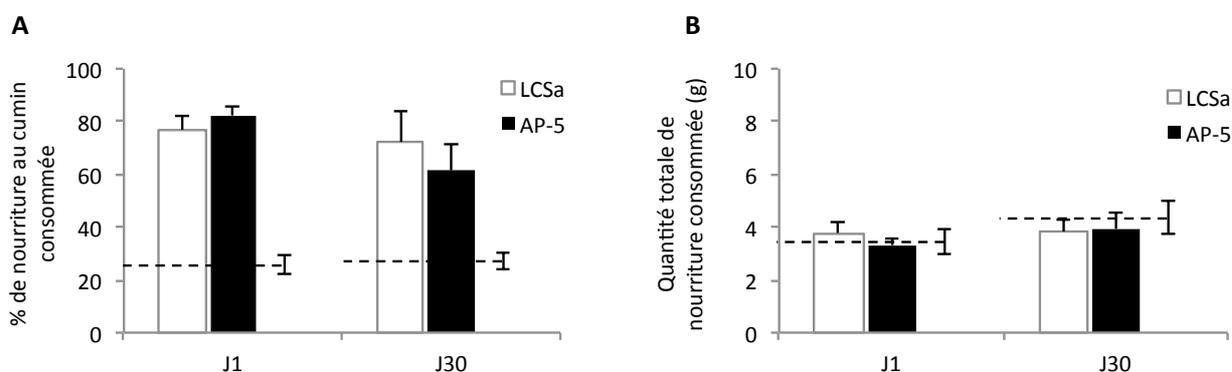


Figure III.10 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J1 et J30. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de rétention. Les lignes en pointillé représentent la moyenne des performances des groupes témoins PAI ($n=6$ par délai).

L'inactivation des récepteurs NMDA corticaux par infusion d'AP-5 dans le COF durant le test de préférence alimentaire n'a pas d'effet significatif sur le rappel de la mémoire récente, et de façon plus surprenante sur celui de la mémoire ancienne (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(1, 30)} = 0,7957$, $p > 0,05$), suggérant que ces récepteurs ne sont pas nécessaires au rappel des informations acquises dans la tâche de TSPA, quel que soit le délai auquel est effectué le test de rétention. Aucune différence significative dans la quantité totale de nourriture consommée lors des tests de rappel n'a été observée entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(1, 30)} = 0,3060$, $p > 0,05$).

3. Conclusion

Le COF est connu pour être impliqué dans le rappel de la mémoire à long terme mais pas à court terme, ce dernier étant toujours sous la dépendance des structures hippocampiques (Lesburguères et al., 2011). Ainsi, il n'est pas étonnant d'observer dans notre expérience que l'inactivation des récepteurs NMDA du COF au moment du test de rétention n'affecte en rien le rappel à court terme de la mémoire olfactive associative. En revanche, l'inactivation de ces mêmes récepteurs au moment du rappel à long terme n'altère pas non plus la performance mnésique des animaux alors que le COF est impliqué dans le rappel des informations à ce même délai. Ces résultats suggèrent donc que seule la transmission synaptique glutamatergique basale, principalement assurée par l'activation des récepteurs AMPA serait suffisante au rappel des informations stockées dans le COF et ce sans la nécessité d'induire une nouvelle vague de plasticité synaptique dépendante des récepteurs NMDA.

D. Expérience 4 : Blocage artificiel de la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA entre les compartiments synaptiques et extra-synaptiques au cours du temps : effet sur la stabilisation de la mémoire à long terme et sur son oubli

En complément de l'approche pharmacologique, nous avons souhaité évaluer l'implication fonctionnelle de la redistribution des récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN2B, en ciblant spécifiquement la dynamique de surface de ces récepteurs au cours du processus de stabilisation des informations au niveau cortical, mais également au cours du processus d'oubli. Ce ciblage est basé sur l'observation précédente (cf Chapitre II) montrant que le niveau d'expression synaptique des sous-unités GluN2B diminue durant la consolidation systémique et retourne à son niveau basal durant le phénomène d'oubli. Par ailleurs, bien que nous ayons observé des variations du niveau d'expression de ces sous-unités GluN2B dans les membranes post-synaptiques du COF au cours des

semaines faisant suite à l'acquisition de la tâche de TSPA, les modes d'action cellulaires impliquant ces variations restent inconnus.

La diffusion latérale des récepteurs glutamatergiques a émergé récemment comme un processus cellulaire important dans la régulation de la composition synaptique en ces récepteurs (Choquet and Triller, 2003). En effet, les récepteurs NMDA expriment une grande mobilité en diffusant vers l'intérieur et l'extérieur de la synapse, selon la nature des sous-unités qui les composent. De plus, il a été montré que les récepteurs NMDA sont plutôt internalisés, soit dans l'espace péri-synaptique (en bordure de la DPS), soit dans l'espace extra-synaptique (Blanpied et al., 2002 ; Petralia et al., 2003). De ce fait, le modèle actuel suggère que le contenu synaptique en récepteurs NMDA est contrôlé d'une part, par diffusion latérale vers le centre ou l'extérieur de la synapse et d'autre part, par un processus d'endocytose et d'exocytose dans l'espace extrasynaptique (Choquet and Triller, 2013).

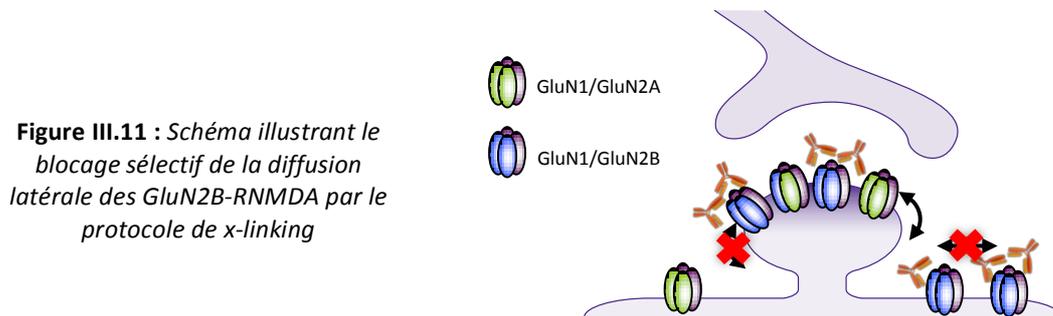
Dès lors, nous avons fait l'hypothèse que la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA chez le rat adulte pourrait avoir une implication fonctionnelle dans la stabilisation des traces mnésiques au niveau cortical ainsi que dans leur processus d'oubli.

1. Matériels et méthodes

a) « Cross-linking » (x-link) in vivo

Afin de bloquer artificiellement la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA entre les compartiments synaptique et extra-synaptique des neurones du COF suite à l'acquisition de la tâche de TSPA, nous avons réalisé des injections intra-corticales (cf plan expérimental) d'anticorps polyclonaux produits chez le lapin et dirigés contre un épitope extracellulaire de la sous-unité GluN2B correspondant aux acides aminés 323 à 337 (Alomone Labs) (Figure III.11). Un anticorps secondaire (nommé « IgG contrôle ») dirigé contre des épitopes de lapin et produit chez la chèvre a été utilisé comme anticorps contrôle (Chemicon). Les deux types d'anticorps ont été dilués dans une solution de LCSa à une concentration de $0,4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ et $1 \mu\text{L}$ de cette solution a été injecté bilatéralement dans le COF de rats implantés selon la procédure décrite précédemment. L'efficacité de ce protocole de x-link à immobiliser artificiellement les récepteurs NMDA exprimés dans la membrane synaptique a été démontré dans plusieurs études (Groc et al., 2008 ; Heine et al., 2008 ; Dupuis et al., 2014 ; Potier et al., 2015). Parmi elles, celle de Dupuis et al. (2014) a renforcé l'utilité de cet outils en révélant que le protocole de x-link permet de réduire de façon efficace et spécifique la dynamique de surface des récepteurs NMDA sans altérer l'activité du récepteur, son expression synaptique (du moins à court terme) ou la transmission synaptique basale (Dupuis et al., 2014). Ainsi, cette procédure nous a

offre l'opportunité de focaliser notre expérience sur l'implication fonctionnelle de la diffusion latérale des GluN2B-NMDAR au cours des processus de consolidation mnésique et d'oubli.



b) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. Les résultats issus de la quantification des sous-unités GluN2 sont exprimés sous la forme de trois ratios différents, chacun étant normalisé par rapport aux valeurs obtenues par le groupe PAI : GluN2A/actine, GluN2B/actine, GluN2A/GluN2B (\pm ESM pour chaque moyenne exprimée). L'analyse statistique a été effectuée grâce à une ANOVA à deux facteurs (traitement : IgG contrôle vs x-link GluN2B ; délai : J30 vs J60) suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

c) Plan expérimental

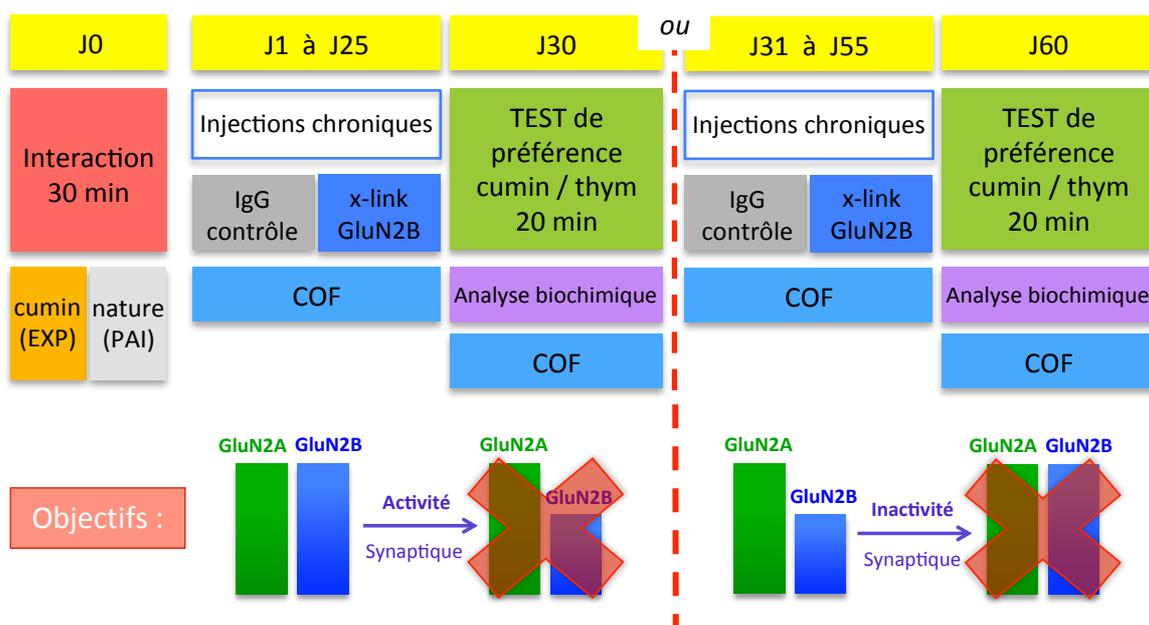


Figure III.12 : Plan expérimental de l'expérience 4 et objectifs

Suite à une interaction de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement dans le COF ont reçu des injections intracérébrales d'IgG contrôle ou d'IgG anti-GluN2B dans le COF soit du jour 1 au jour 25, avant de subir un test de rétention à J30 ; soit du jour 31 au jour 55, avant d'être testés 60 jours après l'interaction sociale. Ainsi 9 injections intracérébrales ont été réalisées par animal au rythme d'une injection tous les trois jours. Les injections ont été arrêtées 5 jours avant chaque test de rétention afin de s'assurer que les anticorps ne soient plus effectifs au moment du rappel mnésique. A l'issue des 20 min du test de rétention, la nourriture a été pesée, et le pourcentage de nourriture au cumin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont été immédiatement sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la quantification des sous-unités GluN2A et GluN2B exprimées dans les membranes post-synaptiques du COF. Les animaux ont donc été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	J1-J30		J30-J60	
	IgG contrôle	x-link GluN2B	IgG contrôle	x-link GluN2B
EXP	n=8	n=10	n=11	n=14
PAI	n=3	n=3	n=5	n=5

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 4

2. Résultats

a) Vérification de l'effet du x-link des GluN2B-RNMDA sur les changements d'expression post-synaptiques des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF

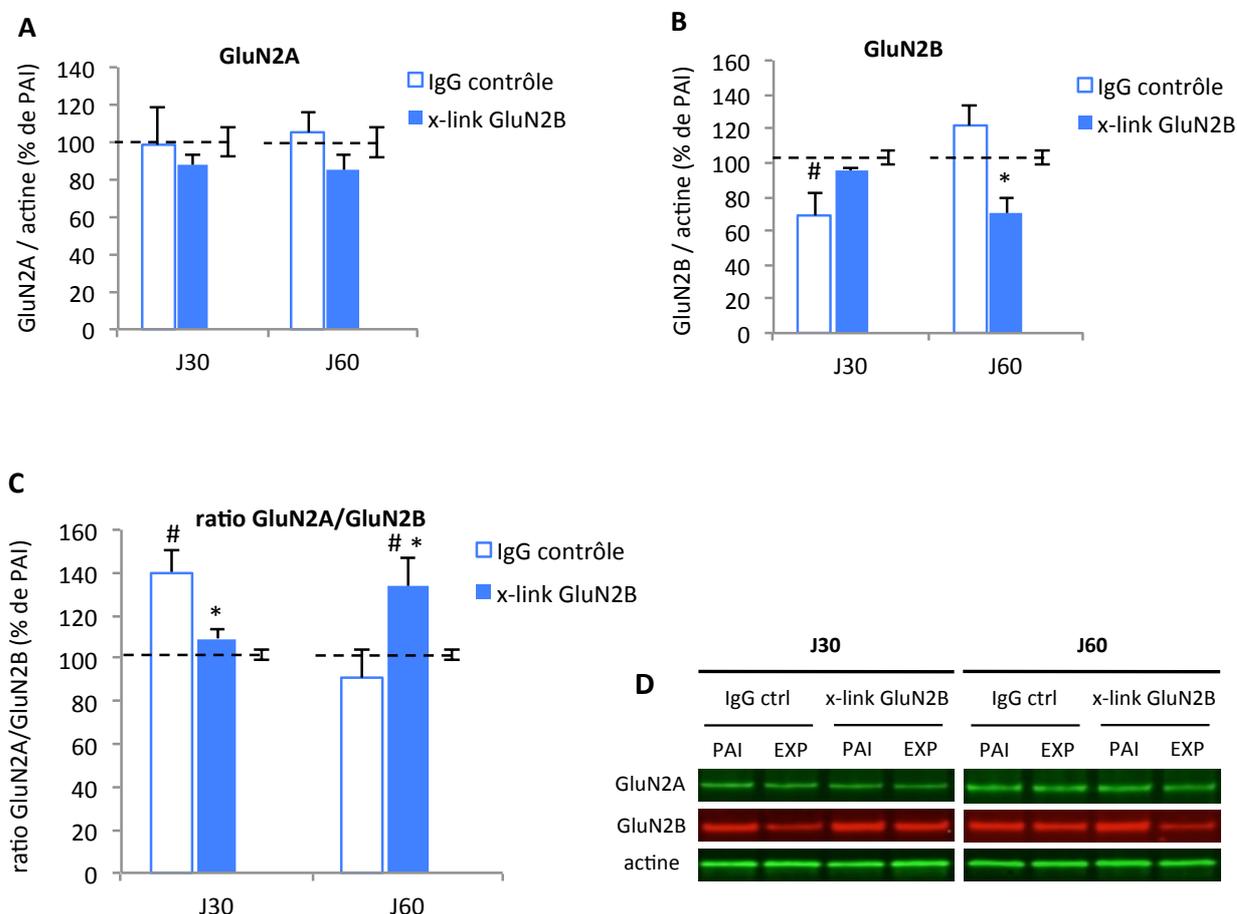


Figure III.13 : Quantification de l'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A (A), GluN2B (B) et du ratio GluN2A/GluN2B (C) dans le COF 30 jours ou 60 jours après l'interaction sociale et suite au blocage de la dynamique des récepteurs soit pendant la phase de rétention (J1-J25) ou pendant la phase d'oubli (J31-J55). D) Illustration des immunoblots sur lesquels ont été révélés les sous-unités GluN2A, GluN2B et l'actine mesurées dans les fractions DPS issues du COF. Les lignes pointillées représentent les résultats des groupes témoins PAI (pour chacun des deux délais d'inactivation, les groupes PAI-IgG contrôle et PAI-(x-link GluN2B) ont été fusionnés afin de simplifier les représentations graphiques. * $p < 0,05$ versus IgG contrôle ; # $p < 0,05$ versus PAI.

Nous montrons tout d'abord que le x-link des GluN2B-RNMDA n'affecte pas l'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A et ce quel que soit la période d'injection (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(2, 42)} = 0,09221$, $p > 0,05$). En revanche, le x-link des GluN2B-RNMDA durant la période précoce de rétention (J1-J25) ou durant la phase tardive d'oubli (J31-J55) tend à réduire la diffusion latérale des sous-unités GluN2B, respectivement vers l'extérieur ou l'intérieur de l'espace post-synaptique (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(2, 42)} = 6,059$, $p < 0,005$; traitement : $F_{(2,$

$_{42}) = 4,565$, $p < 0,05$; délai : $F_{(1, 42)} = 3,431$, $p = 0,0710$). L'analyse du ratio confirme ces observations, et démontre que le x-link des GluN2B-RNMDA semble bloquer l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B durant la phase précoce de rétention ou son retour à l'état basal lors de l'oubli, (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(2, 42)} = 7,588$, $p < 0,01$; traitement : $F_{(2, 42)} = 2,460$, $p > 0,05$; délai : $F_{(1, 42)} = 1,109$, $p > 0,05$).

Ainsi, l'ensemble de ces données suggère que l'injection intra-corticale d'anticorps dirigés contre les sous-unités GluN2B bloque efficacement la dynamique de surface de ces sous-unités durant l'intervalle de rétention. Les paragraphes suivants présentent les effets de ce blocage sur les performances mnésiques des animaux.

b) Effet du x-link des GluN2B-RNMDA dans le COF sur la préférence alimentaire innée

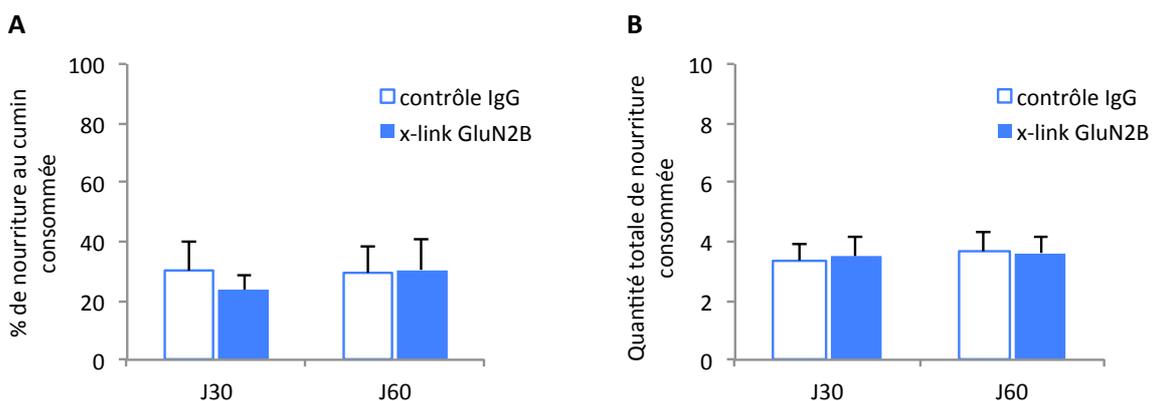


Figure III.14 : Résultats comportementaux des groupes témoins PAI à J30 et J60. (A) Performances des animaux PAI exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée (en gramme) durant le test de préférence.

Quel que soit le traitement reçu ou le délai du test de rétention, les animaux PAI consomment préférentiellement du thym (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(1, 12)} = 0,1554$, $p > 0,05$). L'analyse de la quantité totale de nourriture ne révèle également aucun effet (interaction traitement x délai : $F_{(1, 12)} = 0,01373$, $p > 0,05$). Comme précédemment, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin PAI ($n=6$ pour le délai J30 et $n=10$ pour le délai J60). La moyenne des performances comportementales de ces animaux nous a alors permis de générer les niveaux de préférence alimentaire innée pour le thym représentés sur la Figure III.15.

c) Effet du x-link des GluN2B-RNMDA sur la formation de la mémoire à long terme et son oubli au cours du temps

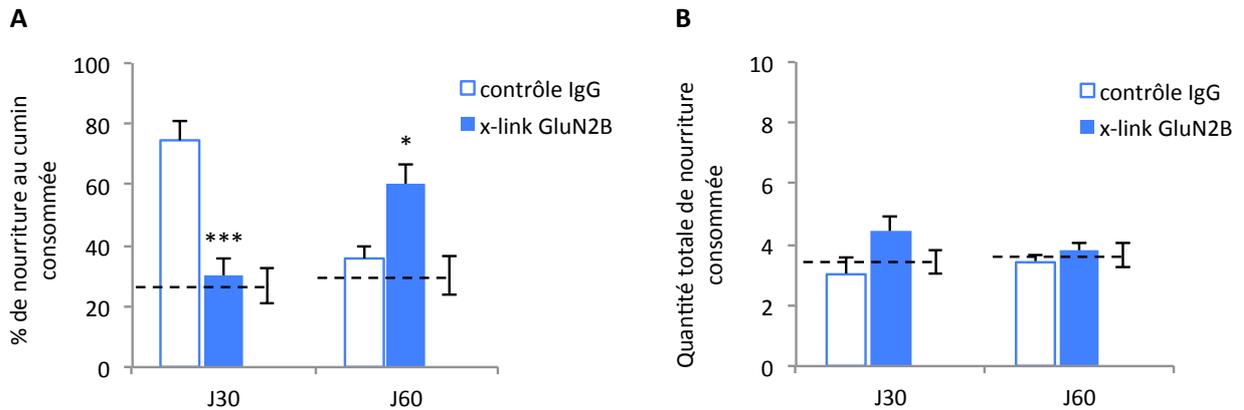


Figure III.15 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J30 et J60. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée (en gramme) durant le test de rétention. Les lignes en pointillé représentent la moyenne des performances des groupes témoins PAI. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ versus IgG contrôle.

Concernant les performances mnésiques des animaux, une ANOVA à deux facteurs (traitement x délai) révèle un effet de l'interaction traitement x délai ($F_{(1, 39)} = 33,02$, $p < 0,0001$) mais pas d'effet du traitement seul ($F_{(1, 39)} = 2,757$, $p > 0,05$) ni du délai seul ($F_{(1, 39)} = 0,5453$, $p > 0,05$). Réduire la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA corticaux vers l'extérieur du compartiment synaptique entre J1 et J30 altère de manière importante la formation de la mémoire à long terme, testée 30 jours après l'interaction sociale ($p < 0,001$ vs contrôle IgG). En revanche, empêcher la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA corticaux vers l'intérieur du compartiment synaptique entre J30 et J60 retarde le processus d'oubli, observé chez les rats contrôles 60 jours après l'acquisition de la tâche de TSPA ($p < 0,05$ vs contrôle IgG). Aucune différence significative dans la quantité totale de nourriture consommée entre les groupes étudiés n'a été observée (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(1, 39)} = 1,174$, $p > 0,05$). L'effet comportemental du x-link des GluN2B-RNMDA n'est donc pas attribuable à une disparité dans le niveau de motivation des animaux au moment du test.

3. Conclusion

Cette expérience utilisant des anticorps bloquant la mobilité des récepteurs, nous a permis de renforcer la démonstration précédemment initiée par les résultats pharmacologiques que le trafic des sous-unités GluN2B joue un rôle fonctionnel important au cours du processus de consolidation mnésique. En effet ces résultats ont permis de préciser que la diffusion latérale des GluN2B-RNMDA

vers l'extérieur ou l'intérieur du compartiment synaptique contrôle respectivement la stabilisation des traces mnésiques au sein des réseaux corticaux et leur oubli au cours du temps.

L'expérience suivante a été de vérifier l'effet du x-link des GluN2A-RNMDA sur la stabilisation de la mémoire au niveau du COF. Sur la base des résultats apportés dans le chapitre précédent, nous avons postulé que le x-link de ces récepteurs durant l'intervalle de rétention pourrait être sans effet délétère sur la formation de la mémoire à long terme.

E. Expérience 5 : Blocage artificiel de la diffusion latérale des GluN2A-RNMDA : effet sur la stabilisation de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) « Cross-linking » *in vivo*

Le protocole reste le même que dans l'expérience 4. Suite à l'acquisition de la tâche de TSPA nous avons réalisé des injections intra-corticales (cf plan expérimental) d'anticorps polyclonaux produits chez le lapin et dirigés contre un épitope extracellulaire de la sous-unité GluN2A correspondant aux acides aminés 323 à 337 (Alomone Labs). Ces anticorps (ainsi que les anticorps contrôle, identiques à ceux utilisés précédemment) ont été dilués dans une solution de LCSa à une concentration de 0,4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ et 1 μL de cette solution a été injecté en bilatéral dans le COF de rats implantés, selon la procédure décrite précédemment.

b) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. L'analyse statistique a été effectuée grâce à un test de Student (IgG contrôle vs x-link GluN2A) dans le cas où les données étaient normales. Dans le cas contraire, nous avons utilisé le test non-paramétrique de Mann Whitney. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

c) Plan expérimental

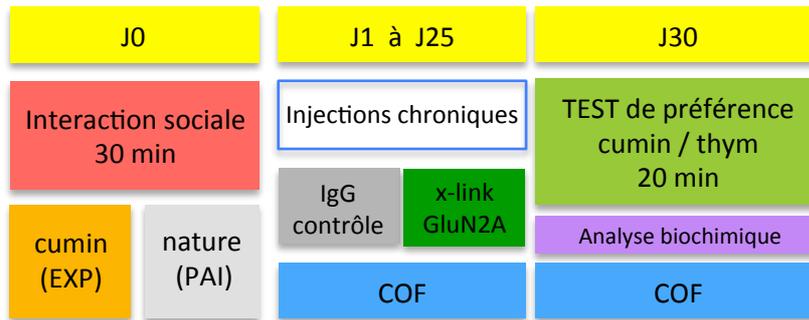


Figure III.16 : Plan expérimental de l'expérience 5

Suite à une interaction de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cummin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement dans le COF ont reçu des injections intracérébrales d'IgG contrôle ou d'IgG anti-GluN2A dans le COF du jour 1 au jour 25, avant de subir un test de rétention entre le cummin et le thym 30 jours après l'interaction sociale. Ainsi 9 injections intracérébrales ont été réalisées par animal au rythme d'une injection tous les trois jours. Les injections ont été arrêtées 5 jours avant le test de rétention afin de s'assurer que les anticorps ne soient plus effectifs au moment du rappel mnésique. A l'issue des 20 min du test de rétention, la nourriture a été pesée, et le pourcentage de nourriture au cummin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont enfin été immédiatement sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la quantification des sous-unités GluN2A et GluN2B exprimées dans les membranes post-synaptiques du COF (*expérience en cours*). Les animaux ont donc été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	J1-J30	
	IgG contrôle	x-link GluN2A
EXP	n=8	n=9
PAI	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 5

2. Résultats

a) Effet du x-link des GluN2A-RNMDA dans le COF sur la préférence alimentaire innée

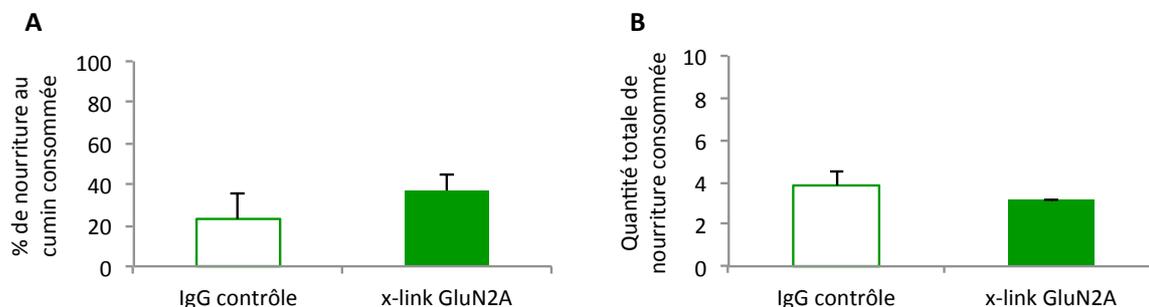


Figure III.17 : Résultats comportementaux des groupes témoins PAI à J30. (A) Performances des animaux PAI exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme).

Quel que soit le traitement reçu, les animaux PAI consomment préférentiellement du thym (Mann Whitney : $U_{(8,13)} = 2$, $p > 0,05$). La quantité totale de nourriture reste également la même entre les groupes (Mann Whitney : $U_{(12,9)} = 3$, $p > 0,05$). Comme précédemment, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin PAI ($n=6$). La moyenne des performances comportementales de ces animaux nous a alors permis de générer le niveau de préférence alimentaire innée pour le thym présenté sur la figure suivante (cf Figure III.18).

b) Effet du x-link des GluN2A-RNMDA sur la formation de la mémoire à long terme

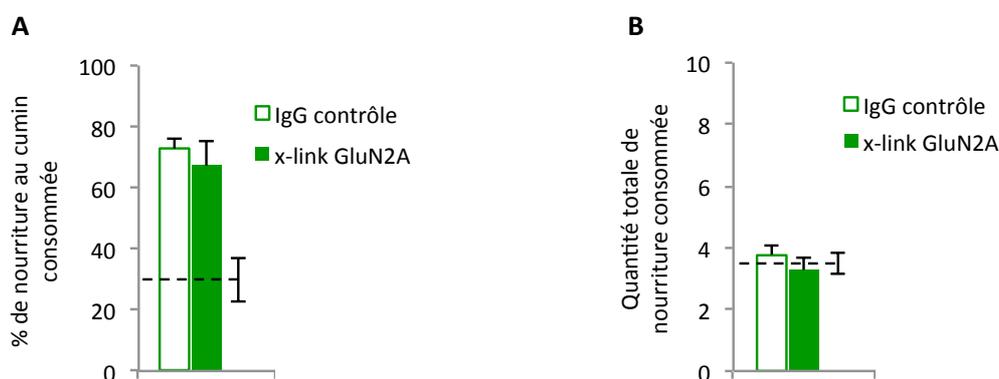


Figure III.18 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J30. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée lors du test de rétention (en gramme). Les lignes en pointillé représentent la moyenne des performances du groupe témoin PAI.

Contrairement à ce qui a été observé concernant les GluN2B-RNMDA, le x-link des récepteurs GluN2A-RNMDA corticaux dans les jours qui suivent l'acquisition de la tâche de TSPA, n'a pas d'effet sur la formation de la mémoire à long terme (unpair t-test : $t=0,5945$; $df=15$; $p > 0,05$) et n'altère pas la motivation des animaux à consommer de la nourriture au moment du test de rappel (unpair t-test : $t=0,9920$; $df=15$; $p > 0,05$).

3. Conclusion

Ainsi, bloquer la dynamique de surface des GluN2A-RNMDA corticaux n'a pas d'effet sur la stabilisation de la mémoire à long terme dans le COF ce qui tend à confirmer que seule la redistribution des GluN2B-RNMDA durant l'intervalle de rétention est nécessaire à la formation d'une mémoire ancienne stabilisée.

III. DISCUSSION

En combinant une approche d'inactivation pharmacologique et un protocole de blocage de la mobilité des récepteurs grâce des anticorps spécifiques, nous avons mis en évidence que la redistribution des récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN2B au sein des réseaux corticaux suite à l'acquisition d'une mémoire olfactive associative est nécessaire au stockage à long terme des traces mnésiques. Dans ce sens, la stabilisation de la mémoire acquise dans la tâche de TSPA s'accompagne d'un désengagement fonctionnel progressif des GluN2B-RNMDA associé à un recrutement fonctionnel des GluN2A-RNMDA. Par ailleurs, de manière inattendue, nous avons démontré que le rappel de la mémoire ancienne ne dépend pas de la réactivation des récepteurs NMDA corticaux, celle-ci étant seulement nécessaire durant la phase de consolidation et de stockage des traces mnésiques. Enfin, notre étude a permis d'apporter des résultats très originaux révélant un mécanisme moléculaire pouvant être à l'origine du processus d'oubli des mémoires anciennes au cours du temps.

A. La consolidation mnésique à l'échelle systémique nécessite la réactivation des récepteurs NMDA corticaux

L'une des découvertes majeures révélée par nos travaux est que la consolidation mnésique nécessite la réactivation prolongée des récepteurs NMDA corticaux, ce qui est en accord avec les prédictions du modèle SRR (cf Introduction). En effet, les auteurs de ce modèle ont postulé l'existence de réactivations répétées et synchrones des assemblées neuronales hippocampiques et corticales durant la période qui suit l'acquisition afin de permettre la stabilisation des traces mnésiques au niveau cortical (Wittenberg and Tsien, 2002 ; Wittenberg et al., 2002). Ces réactivations permettraient le renforcement et le maintien des changements synaptiques initiés durant l'apprentissage grâce à l'activation des récepteurs NMDA de façon à empêcher une potentielle déstabilisation synaptique induite par le turnover métabolique des récepteurs synaptiques. Ces réactivations refléteraient les mécanismes cellulaires par lesquels l'HPC servirait de « régénérateur » aux cascades moléculaires associées à l'apprentissage survenant dans les différents réseaux corticaux étiquetés lors de l'apprentissage. Les réactivations des récepteurs NMDA dans l'HPC pourraient ainsi permettre de diriger celles des récepteurs NMDA au sein des différents sites néocorticaux concernés, et la récurrence de ces réactivations entraînerait le renforcement de la connectivité cortico-corticale entre les différents sites nécessaires pour le stockage permanent de la trace mnésique (Wittenberg and Tsien, 2002). Bien que non déterminées dans notre étude, ces réactivations apparaîtraient principalement au cours des phases de sommeil ou de repos qui suivent l'acquisition, phases au cours desquelles, les régions engagées au cours de l'apprentissage se réactivent de façon synchrone (Ji and Wilson, 2007 ; Ribeiro et al., 2004 ; Maquet et al., 2000 ; Wilson and McNaughton, 1994). Il a d'ailleurs été démontré que le renforcement synaptique via l'activation des récepteurs NMDA, était une étape essentielle à la consolidation de la plasticité corticale au cours du sommeil (Aton et al., 2009), et que le blocage des récepteurs NMDA par injection systémique d'un antagoniste au cours du sommeil bloquait la consolidation d'une mémoire de discrimination visuelle chez l'homme (Gais et al., 2008).

En accord avec le modèle SRR, plusieurs études ont également montré que la réactivation des récepteurs NMDA hippocampiques durant les premières semaines suivant l'apprentissage est nécessaire à la consolidation de la mémoire à long-terme (Shimizu et al., 2000 ; Takehara et al., 2005). Cependant, très peu de résultats ont été apportés jusqu'à maintenant quant à la nécessité d'une réactivation des récepteurs NMDA corticaux durant la consolidation mnésique. Ainsi, Cui et al. ont étudié l'implication des récepteurs NMDA corticaux durant la consolidation mnésique de souvenirs non-déclaratifs générés dans une tâche de conditionnement aversif au goût chez des souris

KO conditionnel pour le gène codant pour la sous-unité GluN1 (Cui et al., 2004). La délétion du gène durant toute la période de rétention post-apprentissage induit un profond déficit mnésique, suggérant que la réactivation de ces récepteurs est nécessaire pour le stockage permanent de la trace mnésique (Cui et al., 2004). De même, Takehara-Nishiuchi et al. (2006) se sont intéressés aux récepteurs NMDA du CPFm. Ces auteurs ont ainsi montré que des injections chroniques de l'antagoniste AP-5 dans le CPFm durant les deux premières semaines après l'acquisition altèrent sévèrement la consolidation de la mémoire dans une tâche de conditionnement de clignement de la paupière chez le rat. Toutefois, le blocage de ces récepteurs dans une période plus tardive (3 à 4 semaines après l'acquisition) n'avait aucun effet sur la consolidation.

Dans notre étude, nous avons montré que des processus similaires s'opèrent dans le COF suite à l'acquisition de la TSPA. En effet, nous avons mis en évidence que l'activation des récepteurs NMDA corticaux est nécessaire à l'établissement de la mémoire associative à long terme à la fois durant la période précoce post-acquisition abritant le dialogue hippocampo-cortical, mais aussi durant la période plus tardive caractérisée par une forme de maturation cortico-corticale indépendante de l'HPC. Ainsi, la consolidation de la mémoire acquise en TSPA nécessiterait la réactivation des récepteurs NMDA corticaux, renforçant ainsi un peu plus l'idée défendue par le modèle SRR.

B. Dualité des GluN2B-RNMDA corticaux dans la formation et l'oubli des traces mnésiques

Plusieurs études effectuées durant le développement post-natal ont démontré que la balance entre les sous-unités GluN2A et GluN2B au niveau synaptique est un important corrélat moléculaire de l'état métaplastique des synapses. Or, un nombre croissant d'études, dont ce travail de thèse, révèle que les processus mnésiques peuvent être associés à des changements dans la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B (Zinebi et al., 2003 ; Quinlan et al., 2004 ; Wang et al., 2009 ; Zhang et al., 2015). Sur la base de leurs propriétés respectives, la redistribution de ces sous-unités pourrait ainsi être responsable du contrôle métaplastique de la plasticité synaptique observé chez l'adulte suite à divers apprentissages et caractérisé notamment par une augmentation des seuils d'induction de la plasticité synaptique (Schroeder and Shinnick-Gallagher, 2005 ; Rodriguez-duran, 2011 ; Rioult-Pedotti et al., 2000 ; Lebel et al., 2001 ; Quinlan et al., 2004 ; Whitlock et al., 2006). Ce mécanisme de régulation pourrait ainsi aider à préserver la configuration des connexions synaptiques récemment mises en place, stabilisant ainsi les nouveaux souvenirs au niveau synaptique. Des altérations dans ce processus pourraient perturber la persistance de la

mémoire en diminuant sa résistance aux interférences potentiellement induites par l'encodage de nouveaux souvenirs.

Nous montrons ici que la dynamique de surface des récepteurs GluN2B-RNMDA corticaux contrôle la stabilisation à long terme des souvenirs et leur oubli au cours du temps. Sur la base de nos résultats, l'activation de ces récepteurs dans les premiers jours qui suivent l'acquisition serait nécessaire à la formation de la trace mnésique au sein des réseaux corticaux (Expérience 1). En revanche, au cours du dialogue hippocampo-cortical, la réduction de leur expression dans le compartiment synaptique apparaît comme nécessaire à la stabilisation de la trace mnésique et à son maintien dans le temps (Expérience 4). Ainsi, les GluN2B-RNMDA corticaux semblent orchestrer *a priori* deux processus contradictoires : la formation et l'oubli de la mémoire à long terme. Cette dualité est discutée ci-dessous.

1. Implication fonctionnelle des GluN2B-RNMDA corticaux dans la formation de la mémoire à long terme

Les GluN2B-RNMDA, de par leur forte capacité associative (Tsien, 2000) et en facilitant la mise en place de changements synaptiques aussi bien fonctionnels que structuraux (Lee et al., 2010 ; Gambrill et al., 2011) seraient requis durant les premières étapes de la consolidation mnésique afin de garantir le remodelage de l'architecture des réseaux corticaux recrutés dès l'acquisition pour stocker à long terme de nouvelles informations. En accord avec cette hypothèse, l'inactivation pharmacologique des GluN2B-RNMDA corticaux durant la période précoce post-acquisition perturbe la formation de la mémoire à long terme (Expérience 1). Durant le dialogue hippocampo-cortical, l'augmentation de l'activité synaptique au sein des réseaux corticaux conduirait à la diffusion latérale de ces récepteurs à l'extérieur de la synapse, processus conduisant à terme à l'endocytose des récepteurs. L'augmentation du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B aurait pour conséquence de rendre plus difficile l'induction des futurs changements synaptiques au niveau de ces mêmes synapses, stabilisant ainsi la trace mnésique au sein du réseau cortical initialement recruté et limitant les risques d'interférence et d'oubli. En accord avec cette hypothèse, l'inactivation pharmacologique des GluN2B-RNMDA corticaux durant la période tardive post-acquisition, c'est à dire suite à l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B, n'a pas d'effet délétère sur la rétention de la mémoire à long terme ; celle-ci étant désormais sous la dépendance fonctionnelle des GluN2A-RNMDA (Expérience 1). Par ailleurs, immobiliser artificiellement les GluN2B-RNMDA corticaux au cours du dialogue hippocampo-cortical grâce aux anticorps bloquant leur diffusion, empêcherait la stabilisation des connexions synaptiques supportant la trace mnésique, conduisant probablement à leur suppression, d'où le déficit de rappel observé dans notre expérience 4.

2. Implication fonctionnelle des GluN2B-RNMDA corticaux dans l'oubli de la mémoire à long terme

Le phénomène d'oubli est un sujet très complexe, ce qui explique probablement pourquoi il est très peu étudié. L'une des difficultés est d'arriver à déterminer si l'amnésie rétrograde observée lors du test de rétention d'une tâche donnée est due à un déficit de stockage mnésique ou à une incapacité à restituer le souvenir toujours stocké en mémoire (Hardt et al., 2009). En effet, notre incapacité à se rappeler certains faits ou certains événements ne signifie pas nécessairement que les traces mnésiques en relation avec ces souvenirs ont été effacées de notre cerveau mais peut signifier aussi que ces souvenirs sont inaccessibles pour pouvoir être réactivés de façon consciente. Chez l'Homme, certains souvenirs complètement oubliés peuvent être réactivés sous hypnose (Fligstein et al., 1998 ; Green, 1999) ou en réponse à une stimulation électrique du lobe temporal (Penfield, 1958). Plus récemment, dans une très élégante étude réalisée chez des souris présentant une amnésie rétrograde, Ryan et al. (2015) démontrent que la réactivation optogénétique des assemblées neurones supportant la trace mnésique est suffisante pour induire l'expression comportementale de la mémoire, révélant que l'amnésie rétrograde observée initialement résultait d'un déficit de rappel et non de stockage.

Dans notre étude, nous postulons que l'absence de réactivation de la trace mnésique consolidée et stockée entre J30 et J60 conduirait à une chute de l'activité synaptique au sein des réseaux corticaux ce qui pourrait être favorable à une augmentation de l'expression des GluN2B-RNMDA au sein des synapses supportant la trace mnésique (cf Chapitre II). La diminution du ratio GluN2A/GluN2B en résultant pourrait favoriser la déstabilisation de la connectivité cortico-corticale et à terme la suppression de la trace mnésique initiale. En accord avec cette idée, bloquer la diffusion vers la synapse des GluN2B-RNMDA entre J30 et J60 est suffisant pour freiner le processus d'oubli de la mémoire olfactive associative (Expérience 4). Dès lors, nous privilégions ici l'hypothèse que l'oubli observé chez les animaux témoins 60 jours après l'interaction sociale soit dû à un déficit de stockage et non de rappel. Par ailleurs, l'idée que les GluN2B-RNMDA puissent être fonctionnellement impliqués dans l'oubli des souvenirs consolidés est en accord avec une étude récente démontrant que l'activation de ces récepteurs est nécessaire à l'induction du processus de dépotentialisation *ex vivo* (Park et al., 2012) probablement en favorisant l'endocytose des récepteurs AMPA (Hardt et al., 2013 ; Ferreira et al., 2015).

D'autre part, comme mentionné dans l'introduction générale, d'autres études ont montré que surexprimer les sous-unités GluN2B dans les neurones glutamatergiques par une voie directe (Tang

et al., 1999 ; Cao et al., 2007) ou indirecte, par exemple en favorisant leur adressage à la synapse ou en bloquant leur dégradation (Yin et al., 2011 ; Hawasli et al., 2007 ; Wong et al., 2002 ; Slutsky et al., 2010 ; Abumaria et al., 2011 ; Abumaria et al., 2013), permet d'améliorer la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique conduisant à une amélioration des capacités d'apprentissage et de mémoire. Ces résultats ont permis de renforcer la thèse selon laquelle l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B est un facteur génétique important responsable du déclin graduel de la plasticité synaptique et de la fonction mnésique au cours du vieillissement (Lee and Silva, 2009 ; Bibb et al., 2010 ; Collingridge et al., 2013).

Cependant, les effets mnésiques à long terme de cette surexpression n'ont jamais été réellement examinés comme en atteste le tableau ci-dessous rapportant la liste des différents délais de rétention testés jusqu'à maintenant (Figure III.19). Or, au regard des propriétés des sous-unités GluN2B favorisant la plasticité synaptique, leur surexpression à long terme pourrait être délétère à la stabilité des traces mnésiques précédemment encodées et ainsi favoriser leur oubli. En accord avec cette hypothèse, inhiber pharmacologiquement les récepteurs NMDA à la suite d'un apprentissage spatial permet d'améliorer la rétention de la mémoire en empêchant l'affaiblissement de la PLT hippocampique (Villarreal et al., 2002). Par ailleurs, l'activation constitutive de la CaMKII α (un partenaire intracellulaire de GluN2B) au niveau du cortex entorhinal conduit à la perte de souvenirs spatiaux précédemment consolidés (Yasuda et Mayford, 2006). Ainsi, réduire l'activité des récepteurs NMDA au cours du vieillissement par augmentation du ratio GluN2A/GluN2B est peut-être délétère à l'encodage de nouveaux souvenirs mais pourrait peut-être à l'inverse favoriser la préservation des souvenirs anciens. Cette question apparaît cruciale quand on considère les variations de capacité d'apprentissage et de mémoire tout au long de la vie.

Figure III.19 : Tableau rapportant les délais de rétention auxquels les performances mnésiques des rongeurs surexprimant la sous-unités GluN2B ont été testés. α CaMKIIp-GluN2B : surexpression de GluN2B sous le contrôle du promoteur α CaMKII.

Référence	Espèce	Manipulation	Paradigme	Intervalle de rétention	Effet
Tang et al., 1999	souris	α CaMKIIp-GluN2B	Reconnaissance du nouvel objet Conditionnement de peur au contexte Conditionnement de peur au son Extinction de la mémoire conditionnée de peur Piscine de Morris	1h 1 ou 3 jours 7 jours immédiate 1h 1 ou 10 jours 1h 1 ou 10 jours fin du 3e jour d'entraînement fin du 6e jour d'entraînement	pas d'effet améliore pas d'effet pas d'effet améliore améliore améliore plus rapide améliore pas d'effet
Tang et al., 2001	souris	α CaMKIIp-GluN2B	Conditionnement de peur au contexte et au son Extinction de la mémoire conditionnée de peur Reconnaissance du nouvel objet	1 jour 1 ou 3 jours 7 jours	améliore plus rapide améliore pas d'effet
Wong et al., 2002	souris	α CaMKIIp-KIF17	Piscine de Morris	fin du 3e jour d'entraînement fin du 6e jour d'entraînement	améliore pas d'effet
White et al., 2004	souris	α CaMKIIp-GluN2B	Reconnaissance du nouvel objet Reconnaissance d'une nouvelle odeur TSPA	24h 24h 15 min 24h	améliore pas d'effet pas d'effet améliore
Hawasli et al., 2007	souris	KO Cdk5 conditionnel	Conditionnement de peur au contexte Conditionnement de peur au son Extinction de la mémoire conditionnée de peur Piscine de Morris Piscine de Morris - "reversal"	24h 24h fin du 11e jour d'entraînement 1 jour	améliore pas d'effet plus rapide pas d'effet améliore
Cao et al., 2007	souris âgées	α CaMKIIp-GluN2B	Reconnaissance du nouvel objet Conditionnement de peur au contexte et au son Piscine de Morris Labyrinthe en T surélevé	2h 1 jour 3 ou 7 jours 2h ou 7 jours fin du 3e jour d'entraînement fin du 6e jour d'entraînement	pas d'effet améliore pas d'effet améliore améliore pas d'effet plus rapide
Wang et al., 2009	rat	α CaMKIIp-GluN2B	Reconnaissance du nouvel objet Piscine de Morris Labyrinthe en T surélevé	1h 1 ou 3 jours 7 jours fin du 3e jour d'entraînement (indice complet) fin du 3e jour d'entraînement (indice partiel) 1 ou 5 min 3 min	pas d'effet améliore pas d'effet pas d'effet améliore améliore
Cui et al., 2011	souris	α CaMKIIp-GluN2B	Labyrinthe en T surélevé Piscine de Morris Tâche olfactive (voir détails)	1 ou 3 min fin du 2e jour d'entraînement	améliore améliore améliore
Jacobs et al., 2012	souris	α CaMKIIp-GluN2B	Reconnaissance sociale	1h 24h	pas d'effet améliore
Fujita et al., 2012	rat	Injection i.p. de Vorinostat (inhibiteur de déacétylase des histones)	Conditionnement de peur au contexte Extinction de la mémoire conditionnée de peur Piscine de Morris	1 jour 1 jour 3 jours	améliore améliore améliore
Brim et al., 2013	souris	cDNA GluN2B (adénovirus)	Piscine de Morris	3 jours	améliore
Plattner et al., 2014	rat/souris	peptide siP (blocage interaction GluN2B-Cdk5)	Conditionnement de peur au contexte Extinction de la mémoire conditionnée de peur	24h	améliore plus rapide
Jacobs et al., 2014	souris	Sous-unités GluN2 chimériques	Reconnaissance du nouvel objet Conditionnement de peur au contexte et au son Extinction de la mémoire conditionnée de peur	1h 1 jour ou 3 jours 7 jours 1h 24h	pas d'effet améliore pas d'effet pas d'effet améliore plus rapide
Jacobs et al., 2015	souris	Sous-unités GluN2 chimériques	Reconnaissance sociale	1h 24h	pas d'effet améliore



**Implication fonctionnelle des sous-unités
GluN2A et GluN2B dans le processus
d'étiquetage cortical nécessaire à la
formation de la mémoire à long terme**

I. INTRODUCTION

A. Bases moléculaires du processus d'étiquetage cortical

Le modèle SRR (Wittenberg & Tsien, 2002) suggère que le dialogue hippocampo-cortical repose sur des synapses activées et modifiées au cours de l'acquisition, via des phénomènes de plasticité synaptique. En accord avec ce postulat, Lesburguères et al. (2011) démontrent que l'étiquetage précoce des assemblées neuronales corticales au moment de l'acquisition de la tâche de TSPA est nécessaire pour initier le dialogue hippocampo-cortical et dépend d'acteurs moléculaires impliqués dans l'induction et l'expression de phénomènes de plasticité synaptique corticale. Des perturbations du maintien de cet étiquetage du COF dans la période qui suit l'acquisition de la TSPA pourraient altérer la consolidation de la mémoire à long terme en perturbant l'initiation du dialogue hippocampo-cortical et donc l'intégration et la stabilisation des souvenirs au sein des réseaux corticaux.

Il a d'ores et déjà été montré que le blocage des récepteurs NMDA du COF au moment de l'acquisition de la tâche de TSPA empêche la formation de la mémoire à long terme sans altérer la formation de la mémoire à court terme, révélant que ces récepteurs sont nécessaires pour initier les phénomènes de plasticité synaptique sous-tendant l'étiquetage cortical (Lesburguères et al., 2011). Celui-ci dépend aussi de la voie de transduction MEK/ERK au sein des neurones du COF. Cette voie régule l'activation de facteurs de transcription, tels que CREB (Sweatt, 2001 ; Valjent et al., 2001 ; Bozon et al., 2003) et contrôle l'expression de gènes impliqués dans l'expression de la PLT, elle-même nécessaire à la stabilisation de la mémoire à long terme (Valjent et al., 2001 ; Bozon et al., 2003). L'inhibition sélective de la voie MEK/ERK au moment de l'acquisition de la tâche de TSPA induit un déficit de mémoire à long terme moins sévère que suite à l'inactivation des récepteurs NMDA (ou AMPA), suggérant que la voie MEK/ERK n'est vraisemblablement pas la seule voie de signalisation intracellulaire sous-tendant l'établissement de la mémoire à long terme. Ainsi, d'autres voies de signalisation, telles que celles dépendantes de l'activation de la CaMKII, pourraient être activées conjointement à la voie MEK/ERK au moment de l'acquisition dans les neurones du COF et contribuer à la plasticité neuronale nécessaire à la consolidation à long terme de la mémoire induite par la TSPA. Cette possibilité est notamment corroborée par le fait que des souris transgéniques qui présentent une délétion du gène codant pour l'isoforme α de la CAMKII dans le cortex, présentent des déficits sélectifs de mémoire à long terme alors que la mémoire récente est préservée (Frankland et al., 2001). Enfin, Lesburguères et al. (2011) démontrent que l'étiquetage cortical repose aussi sur

des mécanismes épigénétiques incluant l'acétylation des histones régulant l'expression génique des neurones corticaux.

En contribuant à la fois à l'encodage, à la régulation de l'activité transcriptionnelle et au renforcement synaptique dans la période qui suit l'encodage, ces mécanismes pourraient soutenir à la fois l'induction mais aussi le maintien de l'étiquetage neuronal cortical nécessaire au dialogue hippocampo-cortical pendant la consolidation systémique.

B. Implication fonctionnelle de l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII dans les processus de plasticité synaptique

L'activation des récepteurs NMDA durant l'induction de plusieurs formes de plasticité synaptique et notamment durant l'induction de la PLT_{NMDA} , induit l'entrée de Ca^{2+} dans le neurone post-synaptique. Le Ca^{2+} va alors initier une cascade biochimique intracellulaire aboutissant au renforcement durable des connexions synaptiques. De nombreux travaux ont démontré que cette cascade débute par l'activation de la CaMKII, une des protéines les plus abondantes de la DPS (Lisman et al., 2002). Cette kinase est une holoenzyme composée de 12 sous-unités dont les deux isoformes les plus abondantes sont CaMKII α et CaMKII β . Cette kinase est considérée comme agissant comme un « interrupteur moléculaire » : dès son activation par le complexe Ca^{2+} /calmoduline, l'enzyme peut être autophosphorylée au niveau de la thréonine 286 (T286 sur les sous-unités CaMKII α , T287 sur les sous-unités CaMKII β) (Figure IV.1), plaçant la CaMKII dans un état « autonome », dont l'activité persiste même après que la concentration en Ca^{2+} dans l'épine dendritique soit retournée à l'état basal (Miller and Kennedy, 1986). De nombreuses études ont décortiqué à la fois les mécanismes moléculaires et structuraux à la base de ses propriétés aussi bien que les protéines cibles et les voies de transduction activées. Plusieurs études ont révélé que l'activation de la CaMKII est spécifique des synapses activées (pour revue Lisman et al., 2012), ainsi que nécessaire et suffisante pour l'induction de la PLT_{NMDA} et de plusieurs formes d'apprentissage (Frankland et al., 2001 ; Lledo et al., 1995 ; Pi et al., 2010 ; Giese et al., 1998 ; Lisman et al., 2002, 2012 ; Lucchesi et al., 2011 ; Cho et al., 1998 ; Bach et al., 1995 ; Wiedenmayer et al., 2000 ; Mayford et al., 1996 ; Wang et al., 2003).

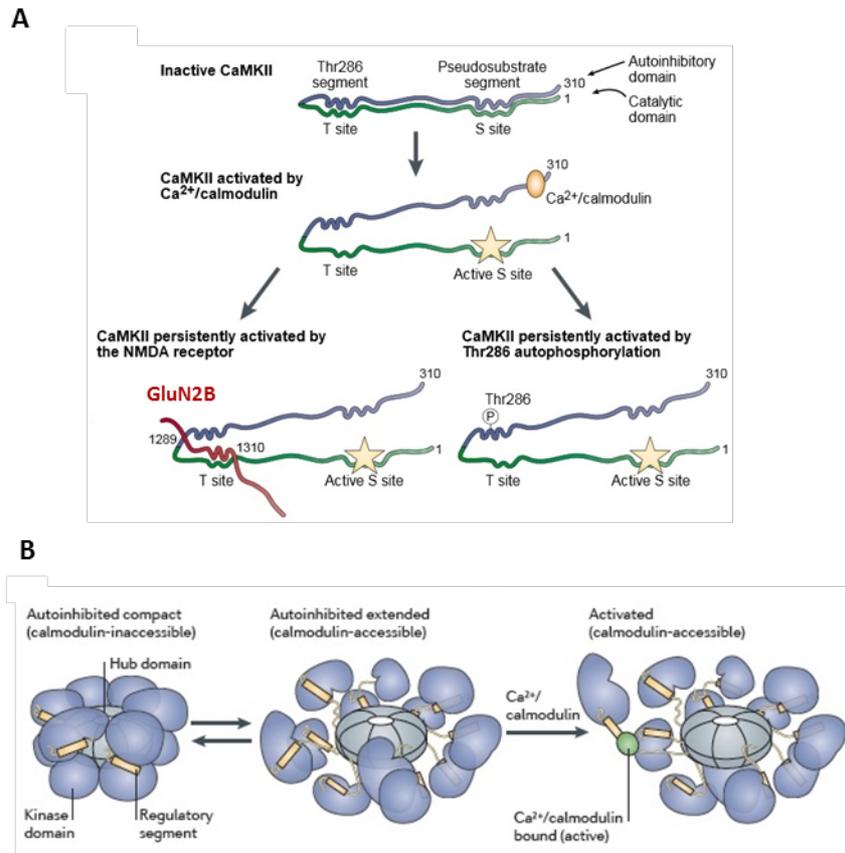


Figure IV.1 : Structure et sites de régulation de la CaMKII.

Les domaines autoinhibiteurs et catalytiques forment une « porte » régulant l'activité de la CaMKII (A). Quand la porte est fermée, l'activité kinase de chaque sous-unité est inhibée du fait que le domaine autoinhibiteur lie le domaine catalytique au niveau des sites S et T. Le site T est constitué de résidus thréonines formant des sites de phosphorylation et modulant l'activité de la kinase. Le site S (site catalytique) constitue le site de liaison à l'ATP et aux substrats que phosphorylent la CaMKII une fois active. La liaison du complexe Ca^{2+} /calmoduline au domaine autoinhibiteur induit l'ouverture de la porte et l'activation de l'enzyme. La liaison du complexe Ca^{2+} /calmoduline à la CaMKII est possible uniquement parce que le complexe protéique oscille entre une conformation inactive compacte et étendue, cette dernière permettant la liaison de la calmoduline (B). En présence du complexe Ca^{2+} /calmoduline, la T286 peut être phosphorylée par une sous-unité voisine, ce qui suffit à maintenir la porte ouverte et la CaMKII active même après dissociation du complexe Ca^{2+} /calmoduline. Cet état actif « autonome » peut aussi être obtenu par liaison des sous-unités GluN2B du récepteur NMDA au site T de la CaMKII. La phosphorylation de la T286 renforce la liaison à la calmoduline et l'activité kinase de la CaMKII est supérieure lorsque la calmoduline est liée à l'enzyme. Adapté de Lisman et al., 2002, 2012.

Une fois activée par le Ca^{2+} , la CaMKII est rapidement transloquée depuis le cytoplasme, au niveau synaptique, via son interaction avec des protéines de la DPS dont les récepteurs NMDA (Shen and Meyer, 1999). A noter également que la translocation synaptique de la CaMKII peut aussi être induite par l'élargissement des épines dendritiques via leur liaison au cytosquelette d'actine (Shen et al., 1998) et qu'un grand nombre d'autres protéines synaptiques interagissent avec la CaMKII pour permettre son maintien dans la DPS (pour revue Lisman et al., 2012 ; Shonesy et al., 2014). Comme mentionné précédemment, une fois activée, la CaMKII diffuse jusqu'à la synapse et interagit préférentiellement avec les sous-unités GluN2B (Leonard et al., 1999 ; Strack and Colbran, 1998) au

niveau de différents sites de liaison et nécessitant ou pas la phosphorylation de la T286 (Strack et al., 2000 ; Bayer et al., 2001). Par ailleurs, la liaison de la CaMKII à la sous-unité GluN2B par l'intermédiaire de son site T semble pouvoir persister plusieurs dizaines de minutes en absence de Ca^{2+} (Bayer et al., 2006) et cette liaison pourrait « verrouiller » l'enzyme dans un état actif (Bayer et al., 2001) bien que ce mécanisme soit encore débattu (Robison et al., 2005). Enfin, l'interaction de la CaMKII au récepteur NMDA est dépendante de l'activation du récepteur et semble être stabilisée par la phosphorylation de la T286 (Bayer et al., 2001 ; Bayer et al., 2006 ; Strack and Colbran, 1998).

D'un point de vue fonctionnel, la formation du complexe GluN2B-CaMKII apparaît dans plusieurs études comme nécessaire à l'induction de la PLT_{NMDA} et à l'apprentissage. En effet, interférer avec sa formation perturbe la formation de la PLT_{NMDA} (Barria and Malinow, 2005 ; Foster et al., 2010 ; Zhou et al., 2007) et conduit à des déficits mnésiques (Zhou et al., 2007 ; Halt et al., 2012 ; Stein et al., 2014). De plus, il a été suggéré que le complexe GluN2B-CaMKII est nécessaire à la maintenance de la PLT (Sanhueza and Lisman, 2013). Ces résultats ont été obtenus grâce à l'utilisation d'un peptide (CN21) dérivé du CaMKIIN (acides aminés 43-63), un inhibiteur naturel et spécifique de la CaMKII (Chang et al., 1998). CN21 interfère avec la liaison de CaMKII à GluN2B en se fixant sur le site T de la protéine kinase (Vest et al., 2007). Ainsi, le traitement transitoire de coupes d'HPC en culture avec le peptide CN21 réduit le nombre de complexes GluN2B-CaMKII et reverse la PLT (Sanhueza et al., 2011). D'autres inhibiteurs de la CaMKII se lient principalement au site catalytique de l'enzyme (site S) et bloquent l'induction de la PLT. Cependant, incubés après l'induction de la PLT, ces inhibiteurs ne perturbent pas son maintien dans le temps (Otmakhov et al., 1997 ; Tsien et al., 1990). Ces résultats expliquent probablement que de faibles concentrations de peptides CN21, suffisantes pour bloquer l'activité de la CaMKII, mais pas pour bloquer la formation du complexe GluN2B-CaMKII, ne permettent pas de bloquer l'induction de la PLT (Buard et al., 2010 ; Sanhueza et al., 2011). Ainsi, la CaMKII, en plus de jouer un rôle catalytique dans l'induction de la PLT, serait aussi impliquée d'une manière plus structurale dans son maintien grâce à son interaction avec les sous-unités GluN2B.

Enfin, cette interaction entre GluN2B et CaMKII faciliterait la modulation d'autres voies de signalisation intracellulaires. Il a été notamment démontré que la plasticité structurale et fonctionnelle dépendante de l'activation de ERK1/2 (Patterson et al., 2010 ; Chwang et al., 2006 ; Bading et Greenberg, 1991) nécessiterait l'interaction de la CaMKII α avec GluN2B (El Gaamouch et al., 2012). De plus, plusieurs études indiquent que la CaMKII participe à la régulation de l'expression synaptique des sous-unités GluN2B. La CaMKII forme un complexe avec la CK2 (Caseine kinase 2) et GluN2B, ce qui facilite la phosphorylation de GluN2B au niveau de la sérine 1480 (S1480), conduisant

à affaiblir l'interaction de GluN2B avec la PSD-95 et par voie de conséquence, à la réduction de son expression post-synaptique par diffusion latérale (Chung et al., 2004 ; Sanz-Clemente et al., 2010 ; Sanz-Clemente et al., 2013).

Bien que la PLT hippocampique *ex vivo* soit un modèle de choix pour l'étude de l'implication de la CaMKII dans ce processus de plasticité, d'autres études démontrent l'implication de la CaMKII dans la PLT *in vivo* et dans d'autres régions cérébrales incluant le cortex (Lisman et al., 2002). Par exemple, au niveau du cortex somatosensoriel primaire de la souris, Glazewski et al. démontrent que la délétion de la CaMKII α perturbe la plasticité corticale (Glazewski et al., 1996 ; 2000). De même, dans le cortex visuel primaire, l'autophosphorylation de la T286 est aussi nécessaire à la plasticité corticale accompagnant l'établissement de la dominance oculaire chez la souris (Hanover et al., 2001). L'ensemble de ces données suggère un rôle clé de CaMKII dans la plasticité synaptique à la fois *in vitro* et *in vivo*, c'est pourquoi nous nous sommes intéressés à l'implication fonctionnelle du complexe GluN2B/CaMKII dans l'étiquetage cortical pour la formation d'une mémoire à long terme stabilisée.

C. Objectifs

Au cours des chapitres précédents, nous avons vu que la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B durant l'intervalle de rétention joue un rôle crucial dans la stabilisation ou l'oubli des traces mnésiques. Qu'en est-il de l'encodage ? Ainsi l'objectif des expériences de ce chapitre a été de préciser les bases moléculaires du processus d'étiquetage cortical en évaluant la contribution fonctionnelle des GluN2-RNMDA corticaux au moment de l'encodage. Nous avons fait l'hypothèse que les synapses du COF enrichies en sous-unités GluN2B pourraient constituer un substrat idéal aux phénomènes de plasticité synaptique sous-tendant le processus d'étiquetage au sein des réseaux corticaux (Figure IV.2). Dans une première expérience, nous avons inactivé pharmacologiquement les GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA corticaux durant l'interaction sociale et mesuré les effets de cette inactivation sur la formation de la mémoire à long terme. Nous avons ensuite vérifié que les résultats obtenus dans cette expérience ne se limitaient pas à une information olfactive donnée (Expérience 2) ou ne pouvaient être imputables à un effet des antagonistes des récepteurs NMDA sur l'acquisition de la mémoire olfactive associative (Expérience 3). Enfin, nous avons évalué l'implication fonctionnelle de l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII au moment du processus d'étiquetage cortical sur la formation de la mémoire à long terme (Expérience 4) (Figure IV.2). La stabilité du complexe GluN2B/CaMKII qui a été impliqué dans la plasticité

synaptique observée *in vitro* ou *ex vivo* pourrait constituer un mécanisme cellulaire permettant le maintien de l'étiquetage cortical nécessaire à l'initiation du dialogue hippocampo-cortical.

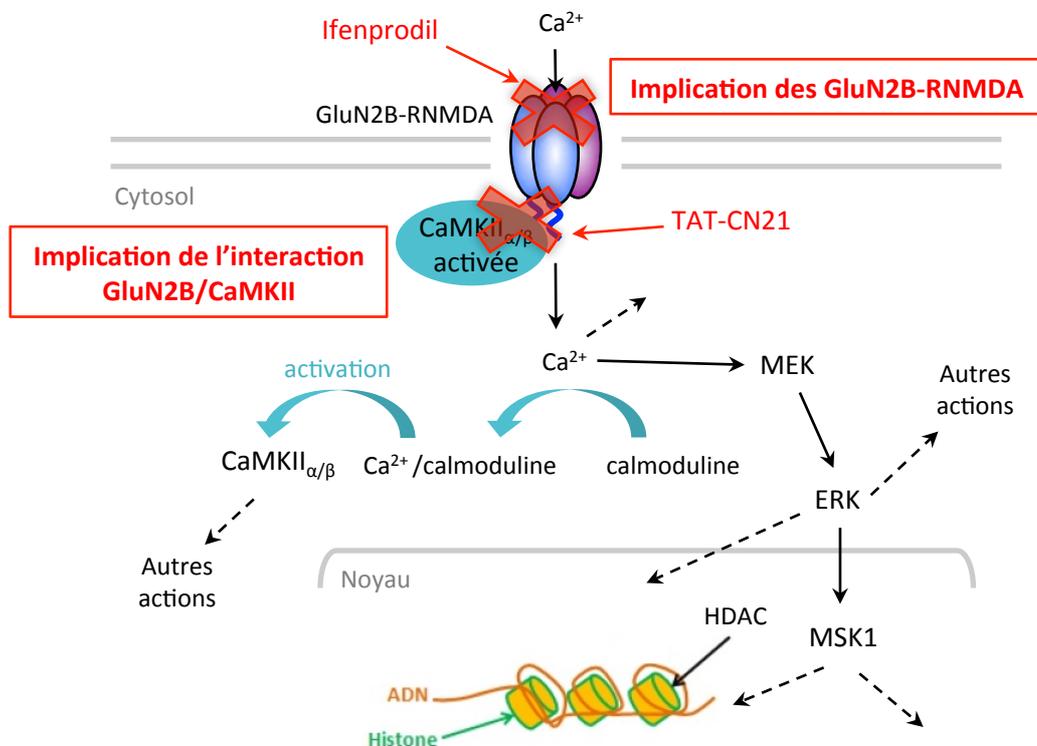


Figure IV.2 : Schéma illustrant les processus moléculaires sous-tendant le phénomène d'étiquetage cortical dans le COF au moment de l'acquisition ainsi que notre hypothèse de travail (en rouge) relative à l'implication des GluN2B-RNMDA et de leur interaction avec la CaMKII. Ce schéma fait apparaître certaines des voies de signalisation intracellulaires et de remodelage de la chromatine dont l'implication dans l'étiquetage cortical lors de l'acquisition du TSPA a déjà été démontrée (Lesburguères et al., 2011). En rouge, apparaît la voie impliquant les GluN2B-RNMDA et la CaMKII, ainsi que les stratégies utilisées dans notre étude pour évaluer leur implication fonctionnelle au cours du processus d'étiquetage cortical.

II. CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES

A. Expérience 1 : Inactivation pharmacologique des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA corticaux lors de l'interaction sociale : effet sur la formation de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

Les rats ont été implantés bilatéralement dans le COF avec des guides-canules et injectés selon les procédures décrites précédemment dans les chapitres II et III.

a) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin ou cacao) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. L'analyse statistique a été effectuée grâce à une ANOVA à deux facteurs (traitement : LCSa vs AP-5 vs TCN-201 vs Ifenprodil ; odeur : cacao vs cumin) suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

b) Plan expérimental

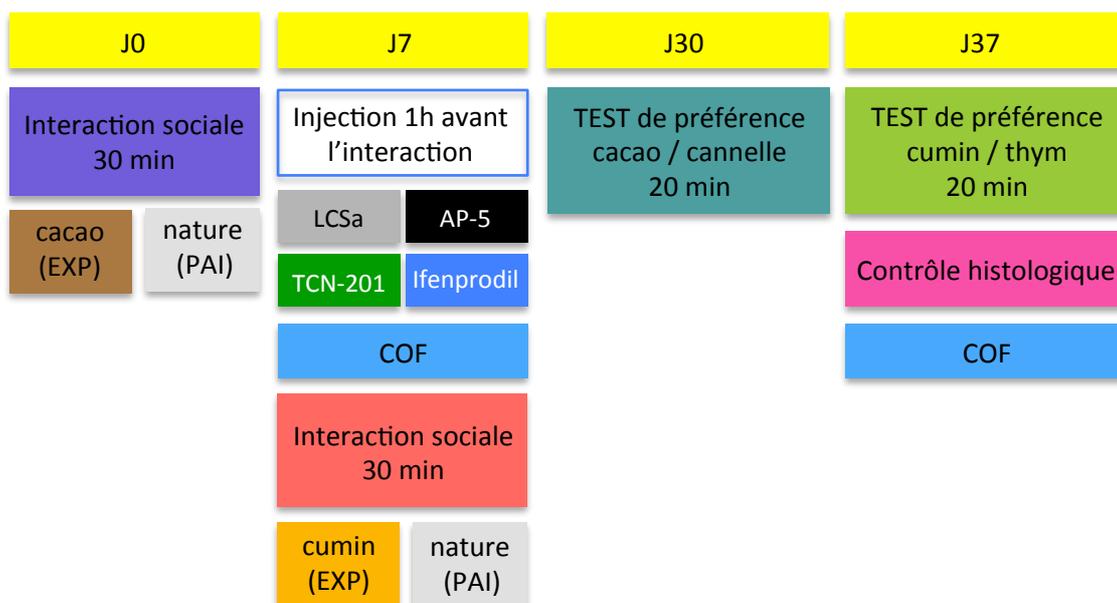


Figure IV.3 : Plan expérimental de l'expérience 1

Les rats ont été soumis à une première interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur nourri avec une nourriture aromatisée au cacao (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Sept jours plus tard, ils ont subi une seconde interaction sociale avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Une heure avant la seconde interaction, chaque rat a été injecté bilatéralement dans le COF avec le LCSa, l'AP-5, le TCN-201 ou l'Ifenprodil (cf chapitre III pour une description plus détaillée de ces différents antagonistes des récepteurs NMDA). Chaque rat a ensuite été soumis à deux tests de préférence alimentaire consécutifs, 30 jours après chaque interaction sociale. Ce protocole a l'avantage de pouvoir évaluer l'implication des récepteurs NMDA au cours du processus d'étiquetage des neurones encodant l'information « cumin » tout en contrôlant que les injections intracérébrales n'affectent pas l'étiquetage des neurones encodant l'information « cacao ». Comme précédemment, les animaux témoins PAI ayant interagi successivement avec deux démonstrateurs qui ont consommé de la nourriture non aromatisée ont permis de fournir le niveau de préférence alimentaire innée pour la cannelle à J30 et pour le thym à J37 dans les conditions de l'expérience et ont permis de vérifier si les injections ne modifiaient pas cette préférence. A la fin de chaque test, la nourriture a été retirée et pesée, et le pourcentage de nourriture au cacao et au cumin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont été sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la vérification des sites d'implantations des guides canules. Seuls les animaux bien implantés bilatéralement dans le COF ont été retenus pour analyse. Les animaux ont donc été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	LCSa	AP-5	TCN-201	Ifenprodil
EXP	n=11	n=7	n=8	n=9
PAI	n=3	n=3	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 1

2. Résultats

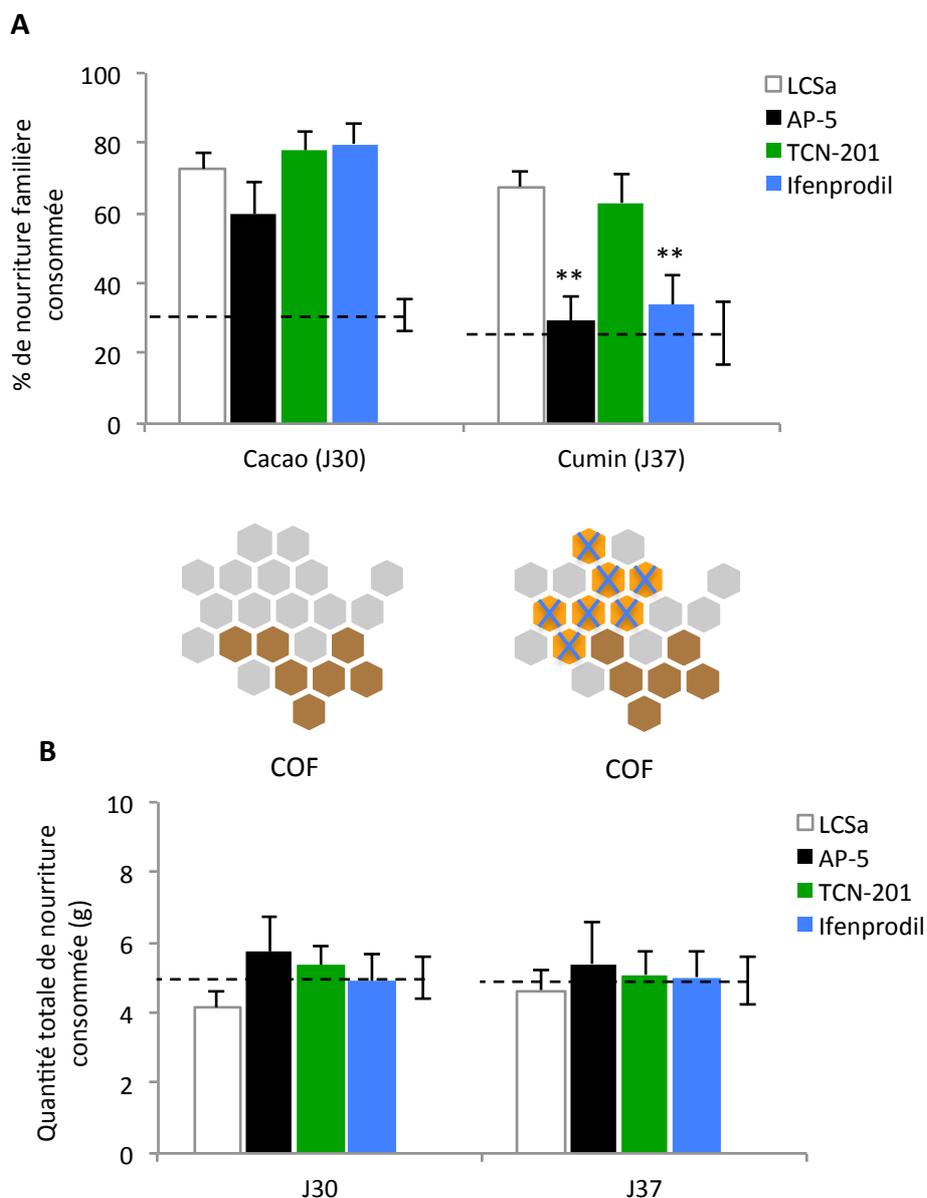


Figure IV.4 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J30 et J37. (A) Performances mnésiques des groupes expérimentaux (EXP) exprimées en pourcentage de nourriture familière, cacao et cumin, consommée respectivement 30 jours ou 37 jours après les interactions avec des démonstrateurs ayant consommés respectivement du cacao et 7 jours plus tard du cumin. Le schéma illustre les assemblées neuronales dans le COF codant l'information « cacao » et « cumin ». Les croix bleues indiquent que seule la trace mnésique associée à la mémoire du cumin est perturbée par l'inhibition des GluN2B-RNMDA. (B) La quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence indique que le niveau de motivation des animaux est identique entre les groupes. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin ($n=12$). La moyenne des performances des groupes témoin PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture aromatisée à la cannelle et au thym lors des tests de rappel. $**p<0,01$ versus LCSa.

Une ANOVA à deux facteurs (traitement x odeur) révèle un effet du traitement ($F_{(3, 62)} = 6,959$, $p < 0,001$), de l'odeur ($F_{(1, 62)} = 23,48$, $p < 0,0001$) et de l'interaction traitement x odeur ($F_{(3, 62)} = 4,248$, $p < 0,01$). L'inactivation des récepteurs NMDA corticaux par infusion d'AP-5 et plus spécifiquement des GluN2B-RNMDA par l'Ifenprodil dans le COF au moment de la seconde interaction sociale (à J7) altère la formation de la mémoire à long terme pour le cumin testée à J37 ($p < 0,01$ versus LCSa), mais épargne la mémoire de l'information cacao testée à J30 ($p > 0,05$ versus LCSa). L'inactivation des GluN2A-RNMDA corticaux reste sans effet délétère sur le rappel à long terme de l'une ou l'autre des deux informations olfactives ($p > 0,05$ versus LCSa).

La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x odeur : $F_{(3, 62)} = 0,1266$, $p > 0,05$) révélant que les animaux présentaient tous le même niveau de motivation au moment des tests de préférence.

3. Conclusion

Ces résultats confirment tout d'abord que l'activation des récepteurs NMDA est nécessaire au processus d'étiquetage au sein du COF afin d'initier la consolidation mnésique à l'échelle systémique (Lesburguères et al., 2011). Par ailleurs, en accord avec notre hypothèse, nos résultats montrent une implication fonctionnelle prépondérante et spécifique des GluN2B-RNMDA dans l'étiquetage cortical.

Afin de valider ces résultats, nous avons procédé à deux expériences supplémentaires. Nous avons premièrement contrôlé que les effets de l'inactivation des récepteurs NMDA sur la formation de la mémoire à long terme ne soient pas spécifiques de l'information « cumin » (Expérience 2). Ensuite, nous avons cherché à écarter la possibilité que les effets de l'inactivation des récepteurs NMDA soient imputables à une perturbation de l'acquisition des informations olfactives associatives au moment de l'interaction sociale (Expérience 3) plutôt qu'à une perturbation du processus de consolidation systémique révélée au moment du rappel à long terme.

B. Expérience 2 : Vérification de l'effet généralisable de l'inactivation des récepteurs NMDA corticaux sur la consolidation mnésique à d'autres informations olfactives

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

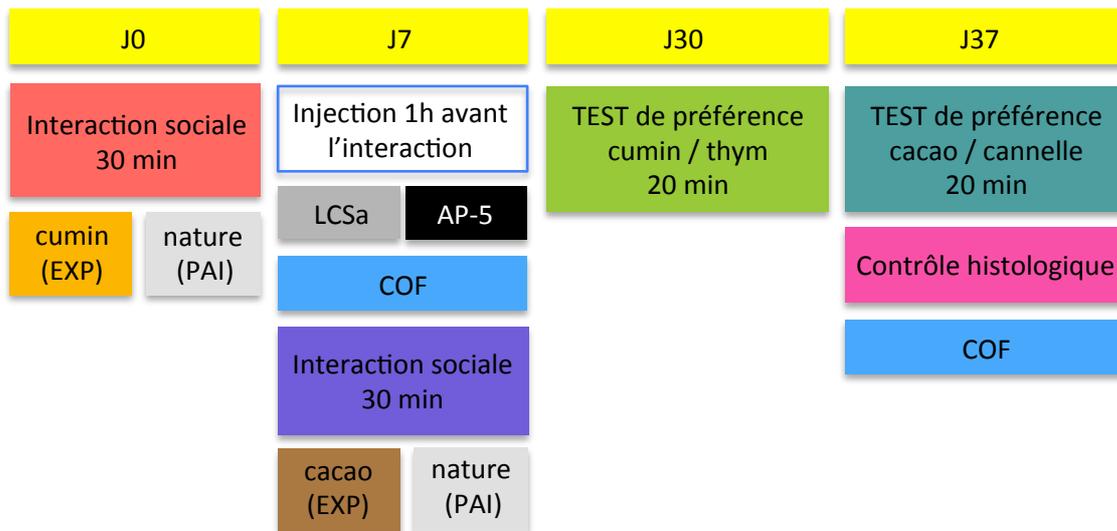


Figure IV.5 : Plan expérimental de l'expérience 2

Le plan expérimental reste le même que celui de l'expérience précédente à l'exception que la position des deux paires d'odeurs a été inversée. Ainsi, les rats ont été soumis à une première interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur nourri avec une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Sept jours plus tard, ils ont été injectés bilatéralement dans le COF avec le LCSa ou l'AP-5 avant d'interagir avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cacao (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Chaque rat a ensuite été soumis aux deux tests de préférence alimentaire, 30 jours après chaque interaction sociale. Les animaux ont donc été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	LCSa	AP-5
EXP	n=6	n=8
PAI	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 2

2. Résultats

a. Effet de l'inactivation transitoire des récepteurs NMDA du COF au moment de l'interaction sociale « cacao » sur la formation de la mémoire à long terme

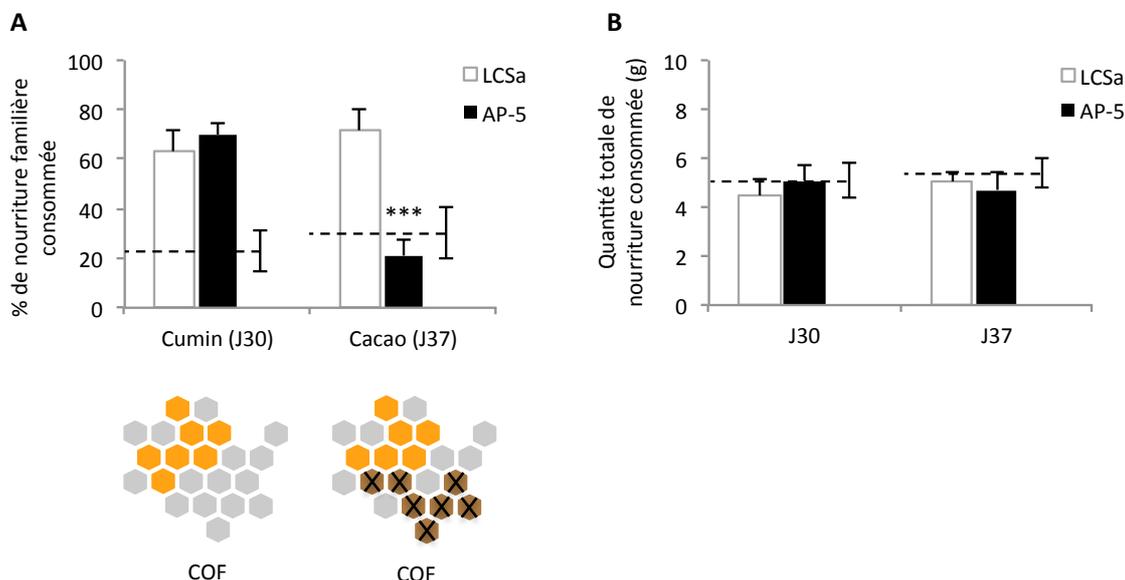


Figure IV.6 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J30 et J37. (A) Performances mnésiques des groupes expérimentaux (EXP) exprimées en pourcentage de nourriture familière cumin et cacao, consommée respectivement 30 jours ou 37 jours après des interactions avec des démonstrateurs ayant consommés respectivement du cumin et 7 jours plus tard du cacao. Le schéma illustre les assemblées neuronales dans le COF codant l'information « cumin » et « cacao ». Les croix noires indiquent que seule la trace mnésique associée à la mémoire du cacao est perturbée par l'inhibition des récepteurs NMDA. (B) La quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence indique que le niveau de motivation des animaux est identique entre les groupes. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin (n=6). La moyenne des performances des groupes témoin PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture aromatisée au thym et à la cannelle lors des tests de rappel. *** $p < 0,001$ versus LCSa.

Une ANOVA à deux facteurs (traitement x odeur) révèle un effet du traitement ($F_{(1, 24)} = 9,514$, $p < 0,01$), de l'odeur ($F_{(1, 24)} = 8,287$, $p < 0,01$) et de l'interaction traitement x odeur ($F_{(1, 24)} = 16,36$, $p < 0,0005$). L'inactivation des récepteurs NMDA corticaux par infusion d'AP-5 dans le COF au moment de l'interaction « cacao » (à J7) altère seulement la formation de la mémoire à long terme pour le cacao (testée à J37) ($p < 0,001$ vs LCSa) mais épargne la mémoire de l'information « cumin » testée 7 jours plus tôt ($p > 0,05$ vs LCSa). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x odeur : $F_{(1, 24)} = 0,5658$, $p > 0,05$) révélant que les animaux présentaient tous le même niveau de motivation au moment des tests de préférence.

3. Conclusion

L'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA du COF au cours du processus d'étiquetage cortical pour la formation d'une mémoire à long terme stabilisée ne se limite pas à une information olfactive donnée mais s'avère généralisable à toutes les mémoires olfactives associatives susceptibles d'être acquises dans la tâche de TSPA.

C. Expérience 3 : Inactivation pharmacologique des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA corticaux lors de l'interaction sociale : effet sur l'acquisition de la mémoire olfactive associative

1. Matériels et méthodes

a) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin ou cacao) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. L'analyse statistique a été effectuée grâce à une ANOVA à un facteur (traitement : LSCa vs AP-5 vs TCN-201 vs Ifenprodil) suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Tukey. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

b) Plan expérimental

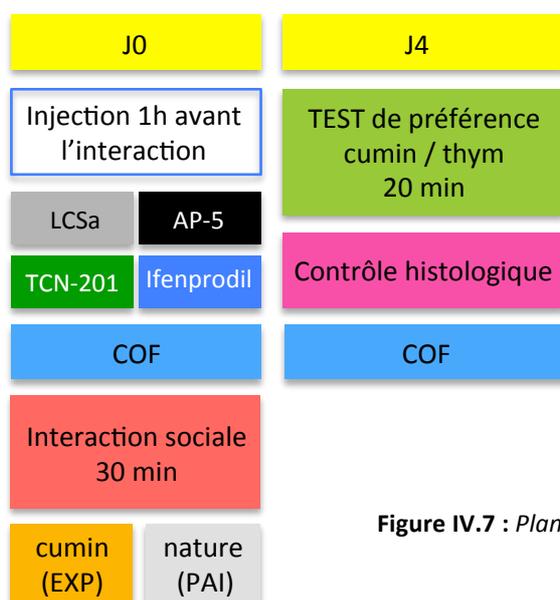


Figure IV.7 : Plan expérimental de l'expérience 3

Une heure avant une interaction de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement dans le COF ont reçu une injection intracérébrale de LCSa, d'AP-5, de TCN-201 ou d'Ifenprodil dans le COF. Le test de préférence a été effectué entre le cumin et le thym 4 jours après l'interaction sociale pour tous les animaux. A ce délai, le rappel de la mémoire est encore dépendant de l'HPC (Lesburguères et al., 2011), il a donc été choisi pour évaluer les effets des injections intra-corticales des différents antagonistes à perturber l'acquisition des informations olfactives associatives durant l'interaction sociale. Ce délai de 4 jours a aussi été choisi afin de s'assurer que les différentes drogues ne soient plus effectives au moment du rappel mnésique. Les animaux ont été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	LCSa	AP-5	TCN-201	Ifenprodil
EXP	n=8	n=7	n=6	n=9
PAI	n=3	n=3	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 3

2. Résultats

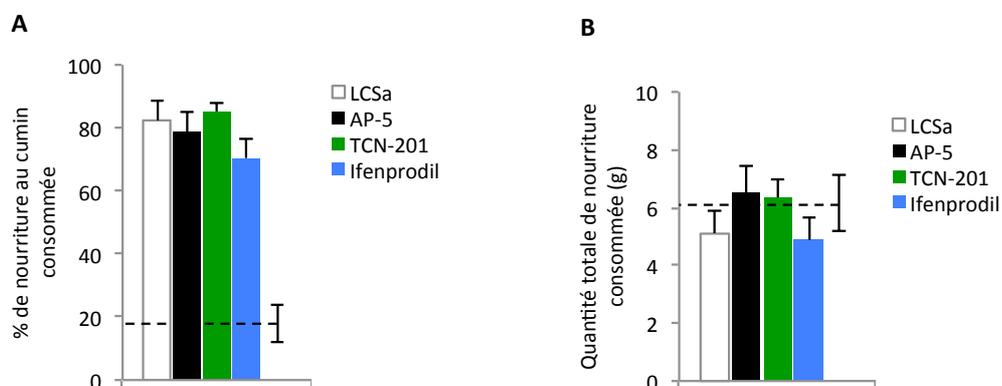


Figure IV.8 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J4. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée pendant le test de préférence effectué 4 jours après l'interaction sociale. (B) La quantité totale de nourriture consommée au moment du test de rétention ne montre pas de différence entre les groupes suggérant que l'injection des antagonistes NMDA ne perturbe pas la motivation des animaux pour la prise alimentaire. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons regroupé ces animaux en un seul groupe témoin (n=12). La moyenne des performances du groupe témoin PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture au thym lors du test de rappel.

L'inactivation des récepteurs NMDA corticaux au moment de l'interaction sociale n'altère pas le rappel à court terme de la mémoire olfactive associative (ANOVA : $F_{(3, 26)} = 1,207$, $p > 0,05$). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes ($F_{(3, 26)} = 1,120$, $p > 0,05$) révélant que les animaux présentaient tous le même niveau de motivation au moment des tests de préférence.

3. Conclusion

L'observation d'une absence d'amnésie antérograde au délai de 4 jours permet de réfuter l'éventualité d'une altération du processus d'acquisition chez les animaux dont les récepteurs NMDA du COF ont été inactivés au moment de l'interaction sociale. Le déficit de mémoire observé lors du test de rappel à long terme (cf Expérience 1 et 2) n'est donc pas la conséquence d'un déficit d'acquisition mais la conséquence d'un déficit de consolidation mnésique induit dès l'encodage via la perturbation du processus d'étiquetage des réseaux neuronaux corticaux.

Ainsi nous avons démontré que la consolidation de la mémoire acquise dans la tâche de TSPA s'accompagne d'une réduction de l'expression synaptique des GluN2B-RNMDA corticaux alors que les GluN2A-RNMDA semblent ne pas subir de variations d'expression significatives. Or, nous révélons dans ce chapitre que seule l'inhibition des GluN2B-RNMDA au moment de l'acquisition bloque la formation de la mémoire à long terme, l'inactivation des GluN2A-RNMDA restant sans effet délétère sur les performances mnésiques. Ces résultats suggèrent ainsi que les GluN2A-RNMDA exprimés dès l'acquisition de la tâche au sein du COF ne sont pas suffisants pour assurer le processus d'étiquetage des réseaux corticaux nécessaire à l'initiation du dialogue hippocampo-cortical. Dès-lors, les GluN2B-RNMDA présenteraient des propriétés uniques les distinguant des GluN2A-RNMDA et les rendant indispensables au processus d'étiquetage cortical. Parmi ces propriétés, nous avons fait l'hypothèse que leur interaction préférentielle avec la CaMKII jouerait un rôle crucial dans l'établissement des « étiquettes » corticale au moment de l'apprentissage, ce qui pourrait expliquer pourquoi les sous-unités GluN2A, qui n'interagissent pas avec la CaMKII, ne seraient pas requises pour l'étiquetage des neurones corticaux lors de l'encodage. Ainsi, empêcher l'interaction des GluN2B-RNMDA avec la CaMKII dans le COF au moment de l'interaction sociale pourrait induire un déficit de mémoire à long-terme.

D. Expérience 4 : Blocage de l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII lors de l'interaction sociale : effet sur la formation de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) Peptides TAT-CN21

Afin de bloquer spécifiquement l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII, nous avons utilisé le peptide CN-21, connu pour bloquer la formation du complexe GluN2B/CaMKII *in vitro* et *ex vivo* (Vest et al., 2007 ; Sanhueza et al., 2011). Ce peptide agit en se fixant au site T de la CaMKII (cf Figure IV.1) bloquant ainsi la formation du complexe GluN2B/CaMKII. Le peptide CN21 a été injecté bilatéralement dans le COF, à un volume d' 1 μ L par hémisphère et à une concentration de 20 μ M, concentration capable de réduire le complexe GluN2B/CaMKII *ex vivo* (Sanhueza et al., 2011). Le peptide CN21 utilisé est conjugué à une séquence TAT (« Trans-Activator of Transcription ») dérivée du virus HIV-1 permettant sa pénétration dans les neurones (Vest et al., 2007). Enfin, nous avons utilisé un peptide contrôle (TAT-NS) formé de la séquence TAT fusionnée à une séquence « scrambled » du peptide CN21. Les deux peptides ont été développés et fournis à notre demande par le groupe de Karl-Ulrich Bayer (Département de Pharmacologie, Université du Colorado, Denver, USA).

b) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin ou cacao) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. L'analyse statistique a été effectuée grâce à une ANOVA à deux facteurs (traitement : TAT-NS vs TAT-CN21 ; odeur : cacao vs cumin) suivie d'une comparaison post-hoc utilisant le test de Bonferroni. Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

c) Plan expérimental

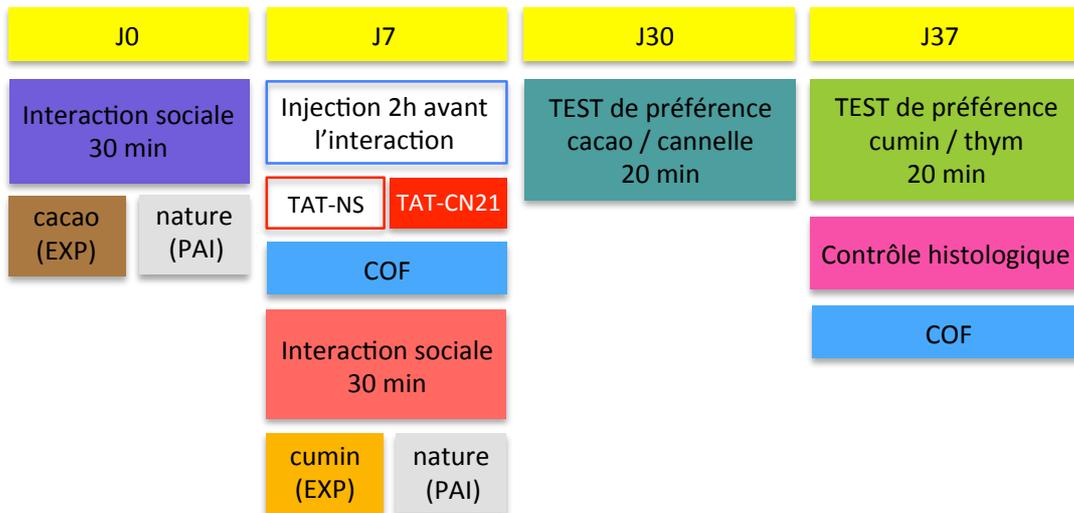


Figure IV.9 : Plan expérimental de l'expérience 4

Les rats ont été soumis à une première interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur nourri avec une nourriture aromatisée au cacao (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Sept jours plus tard, ils ont subis une seconde interaction sociale avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Deux heures avant la seconde interaction, chaque rat a été injecté bilatéralement dans le COF avec le peptide TAT-NS ou TAT-CN21. Chaque rat a ensuite été soumis à deux tests de préférence alimentaire consécutifs, 30 jours après chaque interaction sociale. Les animaux ont été sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la vérification des sites d'implantations des guides-canules. Seuls les animaux bien implantés bilatéralement dans le COF ont été retenus pour analyse. Les animaux ont donc été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	TAT-NS	TAT-CN21
EXP	n=8	n=10
PAI	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 4

2. Résultats

a. Effet du blocage de l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII du COF au moment de l'interaction sociale sur la formation de la mémoire à long terme

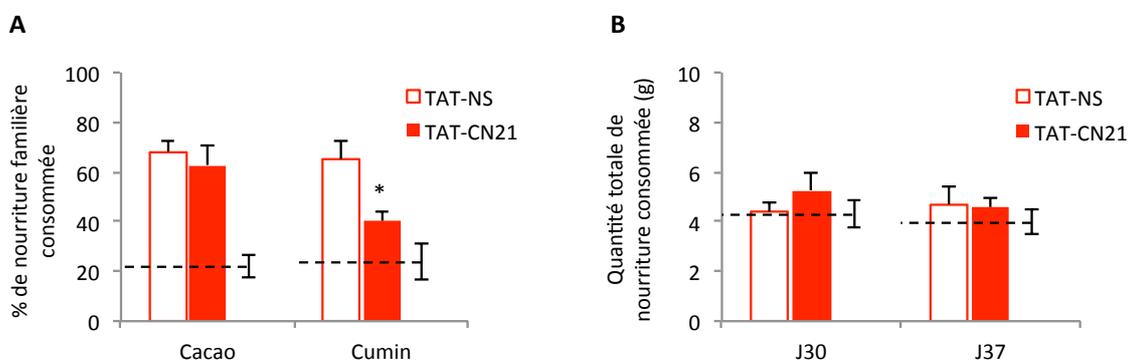


Figure IV.10 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J30 et J37. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture familière (cacao et cumin) consommée. L'injection du TAT-CN21 a été réalisée 2h avant l'interaction avec un rat ayant consommé du cumin. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin (n=6). La moyenne des performances des groupes témoins PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture à la cannelle et au thym lors des tests de rappel. * $p < 0,05$ versus LCSa.

Concernant la part de cumin consommée durant le test, une ANOVA à deux facteurs (traitement x odeur) révèle un effet du traitement ($F_{(1, 32)} = 5,844$, $p < 0,05$) et de l'odeur ($F_{(1, 32)} = 4,384$, $p < 0,05$) mais pas de l'interaction traitement x odeur ($F_{(1, 32)} = 2,408$, $p > 0,05$). Malgré cette absence d'interaction (traitement x odeur), nous révélons que l'injection intra-corticale du peptide TAT-CN21 avant la seconde interaction sociale (à J7) altère la formation de la mémoire à long terme pour le cumin testée à J37 ($p < 0,05$ vs LCSa) mais épargne la mémoire de l'information cacao testée sept jours avant ($p > 0,05$ vs LCSa). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(1, 32)} = 0,7834$, $p > 0,05$) révélant que les animaux présentaient tous le même niveau de motivation au moment des tests de préférence.

E. Expérience 5 : Blocage de l'interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII lors de l'interaction sociale : effet sur l'acquisition de la mémoire olfactive associative

1. Matériels et méthodes

a) Analyses statistiques

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentages moyens de nourriture familière consommée (cumin ou cacao) \pm ESM ainsi qu'en quantité totale (en g) moyenne de nourriture consommée \pm ESM. L'analyse statistique a été effectuée grâce à un test de Student (TAT-NS vs TAT-CN21). Les seuils de significativité ont été fixés à $p < 0,05$.

b) Plan expérimental

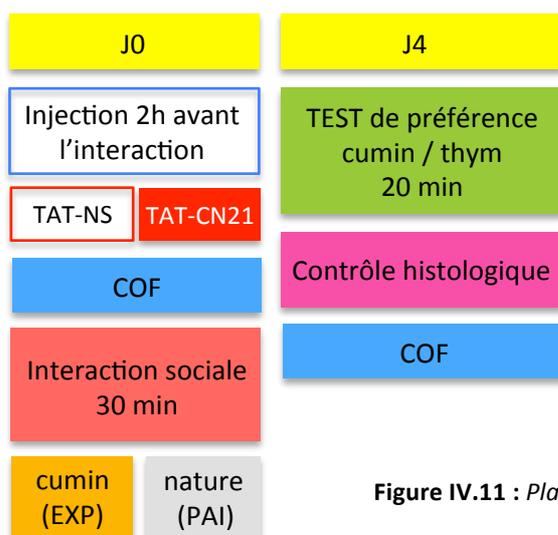


Figure IV.11 : Plan expérimental de l'expérience 5

Une heure avant une interaction de 30 minutes avec un démonstrateur récemment nourri avec une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement dans le COF ont reçu une injection intracérébrale de peptide TAT-NS ou TAT-CN21. Le test de préférence a été effectué entre le cumin et le thym 4 jours après l'interaction sociale pour tous les animaux. Les animaux ont été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 5

	TAT-NS	TAT-CN21
EXP	n=6	n=6
PAI	n=3	n=3

2. Résultats

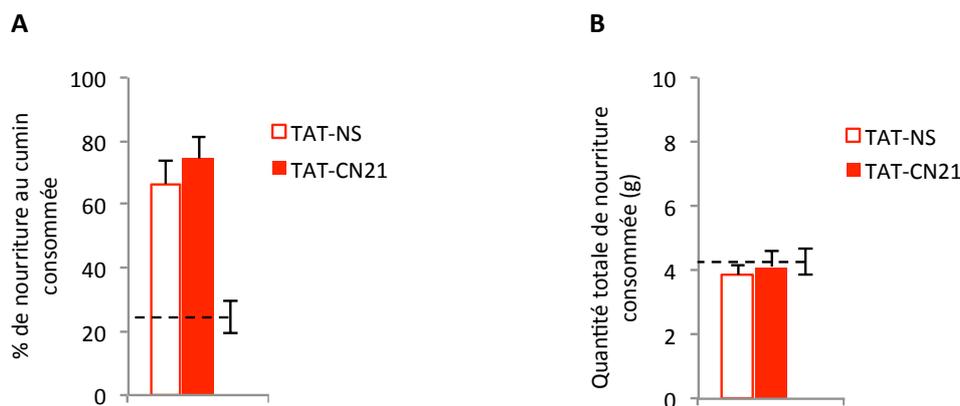


Figure IV.12 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J4. (A) Les performances mnésiques des rats 4 jours après une interaction avec un démonstrateur ayant consommé du cumin sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. Les animaux ont été injectés 2h avant l'interaction soit avec le peptide TAT-CN21 soit le TAT-NS. (B) Quantité totale de nourriture consommée au moment du test de rétention. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin ($n=6$). La moyenne des performances du groupe témoin PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture au thym lors du test de rappel.

Le blocage de l'interaction GluN2B/CaMKII au moment de l'interaction sociale avec le TAT-CN21 n'altère pas le rappel à court terme de la mémoire olfactive associative ($t=0,8436$; $df=10$; $p > 0,05$). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes ($t=0,4334$; $df=10$; $p > 0,05$) révélant que les animaux présentaient tous le même niveau de motivation au moment des tests de préférence.

3. Conclusion

Les expériences 4 et 5 ont permis de montrer que l'injection du peptide CN21 dans le COF au moment de l'interaction sociale, altère la formation de la mémoire à long terme (Expérience 4) sans affecter l'acquisition des informations olfactives associatives (Expérience 5). Ces résultats suggèrent ainsi que le déficit de mémoire à long terme observé résulterait d'une altération du processus d'étiquetage des réseaux corticaux nécessaire à la stabilisation à long terme de la trace mnésique au sein de ces réseaux. Bien que l'interaction entre les sous-unités GluN2B et CaMKII lors de l'étiquetage cortical ainsi que son blocage par le peptide TAT-CN21 reste à évaluer (expériences de co-immunoprécipitation en cours), nous présumons que le peptide TAT-CN21 a exprimé son effet comportemental en bloquant la formation du complexe GluN2B/CaMKII.

III. DISCUSSION

D'après le modèle SRR (Wittenberg & Tsien, 2002), le renforcement des connexions cortico-corticales au cours du processus de consolidation serait assuré par plusieurs cycles de réactivations des synapses préalablement modifiées par l'apprentissage. En accord avec ce postulat, Lesburguères et al. (2011) ont démontré la nécessité d'un étiquetage neuronal précoce des assemblées corticales permettant, selon toute vraisemblance, la réactivation ultérieure des modules néocorticaux par l'HPC afin d'assurer la stabilisation de la mémoire à long terme. Un des prérequis du concept d'étiquetage neuronal cortical est la propriété de persister dans les heures, ou les jours qui suivent l'acquisition, pour permettre l'initiation et le bon déroulement du dialogue hippocampo-cortical. Ainsi, les mécanismes à l'échelle cellulaire et moléculaire qui supportent le processus d'étiquetage doivent permettre un maintien dans le temps de ces étiquettes pour permettre à des changements plus durables dans le temps de se mettre en place.

Dans ce chapitre nous avons montré que le processus d'étiquetage requiert des mécanismes de plasticité synaptique impliquant l'activation des récepteurs GluN2B-RNMDA et très probablement leur interaction avec la CaMKII. Nos résultats complètent ainsi l'existence d'autres mécanismes intracellulaires incluant l'implication de la voie de transduction ERK/MEK et des modifications épigénétiques (acétylation des histones) démontrées précédemment dans l'étude de Lesburguères et al., (2011). En participant à la régulation de l'activité transcriptionnelle et de l'expression de gènes impliqués dans la stabilisation synaptique et dans la formation de la mémoire à long terme, ces mécanismes semblent être des candidats importants, mais pas exclusifs, pour supporter la formation et le maintien de l'étiquetage cortical. Un étiquetage synaptique pourrait permettre le marquage d'une synapse après activation au moment de l'apprentissage, de façon à ce que cette « étiquette » permette une capture locale de protéines nouvellement synthétisées afin de produire des changements durables de l'efficacité de la transmission synaptique (Frey and Morris, 1997 ; Frey and Morris, 1998 ; Martin & Kosik, 2002).

A. Implication fonctionnelle des GluN2B-RNMDA corticaux et de leur interaction avec la CaMKII dans le processus d'étiquetage cortical : quelques études comportementales convergentes

En accord avec nos résultats, plusieurs études appuient l'idée que des mécanismes précoces de plasticité synaptique dépendants des GluN2B-RNMDA corticaux, induits lors de l'acquisition, seraient nécessaires à la consolidation de la mémoire à long terme. Par exemple, deux études ont successivement montré que l'inactivation pharmacologique des GluN2B-RNMDA du CCA au moment de l'apprentissage d'une tâche de conditionnement de peur, altère le rappel à long terme de la mémoire de peur associée au contexte (Zaho et al., 2005) ou au son (Descalzi et al., 2012). L'inactivation de ces récepteurs durant le conditionnement conduirait à un déficit mnésique en empêchant l'exocytose de nouveaux récepteurs AMPA dans la membrane post-synaptique, bloquant ainsi l'induction de la PLT (Descalzi et al., 2012). Ceci est en accord avec le fait que les GluN2B-RNMDA soient nécessaires à l'induction de la PLT dans l'ACC (Zaho et al., 2005 ; Toyoda et al., 2005).

Il a été suggéré récemment que la formation du complexe GluN2B/CaMKII serait un mécanisme moléculaire de maintenance de la PLT et du stockage mnésique (Sanhueza and Lisman, 2013). Quelques études ont démontré que bloquer précocement la formation de ce complexe peut induire un déficit d'apprentissage (Zhou et al., 2007 ; Stein et al., 2014) voire de consolidation mnésique (Halt et al., 2012), cependant, l'hypothèse précédente n'a jamais été prouvée à l'échelle comportementale. Si elle est vraie, le stockage mnésique devrait être perturbé en interférant avec le complexe GluN2B/CaMKII durant l'intervalle de rétention, de la même manière que la PLT est supprimée en présence du peptide CN21 (Sanhueza et al., 2011). Cependant, cette hypothèse est peu compatible avec l'idée défendue dans ce travail de thèse et appuyée par plusieurs résultats expérimentaux que le stockage de la mémoire à long terme peut s'accompagner, voire nécessiter, une réduction de l'expression synaptique des sous-unités GluN2B (pour revue Finnie et Nader, 2012).

Sur la base de nos résultats expérimentaux, nous défendons plutôt l'idée que la formation du complexe GluN2B/CaMKII serait nécessaire au processus d'étiquetage des réseaux corticaux en fournissant un support nécessaire à l'initiation du dialogue hippocampo-cortical dans les heures suivant l'apprentissage. Ainsi, l'implication prépondérante des GluN2B-RNMDA corticaux dans ce processus en comparaison des GluN2A-RNMDA est cohérente avec les résultats précédents révélant une implication fonctionnelle préférentielle des GluN2B-RNMDA durant la période précoce post-apprentissage abritant le dialogue hippocampo-cortical (cf Chapitre III).

Par ailleurs, l'idée que l'implication différentielle des sous-unités GluN2A et GluN2B au moment de l'apprentissage reposerait en grande partie sur la nature de leurs partenaires intracellulaires, telle que la CaMKII, a été fortement renforcée par des études récentes portant sur les causes de l'effet délétère ou bénéfique de leur surexpression respective sur l'apprentissage (Jacobs et al., 2014, 2015). Ainsi la surexpression de GluN2A ou de GluN2B dans le cerveau de souris bloque ou améliore respectivement la formation de la mémoire. Or, les effets sur la plasticité synaptique et leurs conséquences comportementales observées peuvent avoir deux origines distinctes. Comme mentionné précédemment, la composition des récepteurs NMDA en sous-unités GluN2 influence d'une part leur propriété associative en déterminant la durée d'ouverture du canal et donc la fenêtre temporelle durant laquelle la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique est possible (Tsien, 2000). D'autre part, les sous-unités GluN2 ayant des domaines intracellulaires distincts, elles recrutent spécifiquement certains partenaires comme la CaMKII pour GluN2B. Afin d'identifier lequel de ces deux paramètres est essentiel à l'apprentissage, cinq lignées de souris transgéniques différentes surexprimant des sous-unités GluN2A, GluN2B et GluN2D chimériques dont les extrémités intracellulaires C-terminales ont été échangées entre-elles ont été générées (Jacobs et al., 2014, 2015). Ces auteurs démontrent que l'extrémité C-terminale de GluN2B est nécessaire et suffisante pour améliorer les performances mnésiques à long terme à condition qu'elle soit couplée à une forme de sous-unité GluN2 dépendante des ions Mg^{2+} , c'est-à-dire GluN2A ou GluN2B. L'ouverture du canal au sein des récepteurs contenant les sous-unités GluN2D n'étant pas dépendant du voltage (car non bloqué par des ions Mg^{2+} au potentiel de repos), la fonction associative de ces récepteurs est inexistante. En conséquence, les souris surexprimant les sous-unités GluN2D couplées à l'extrémité C-terminale de GluN2B ne forment pas de mémoire. Cette dernière observation a fourni la preuve que la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique (garantie par l'ouverture voltage-dépendante du canal cationique) est essentielle à la formation de la mémoire associative. En revanche, coupler l'extrémité C-terminale de GluN2A à la sous-unité GluN2B induit un profond déficit mnésique (Jacobs et al., 2014, 2015). Ainsi, l'ensemble de ces résultats supportent plutôt la seconde hypothèse selon laquelle la composition synaptique en sous-unités GluN2A et GluN2B influence les propriétés plastiques des synapses et les performances mnésiques grâce à leur domaine intracellulaire distinct plus que par leur différence dans la durée d'ouverture du canal, qui apparaît comme négligeable dans ces dernières études.

B. Les GluN2B-RNMDA corticaux : un substrat moléculaire de l'allocation synaptique des nouvelles traces mnésiques au cours du processus d'étiquetage ?

Comme mentionné précédemment, les mécanismes de métaplasticité grâce auxquels les neurones modulent leur propriété plastique présentent un intérêt majeur pour la compréhension des mécanismes synaptiques nécessaires à la consolidation systémique de la mémoire. Les résultats présentés dans les chapitres II et III apportent un éclairage nouveau quant aux mécanismes via lesquels la configuration des connexions synaptiques acquise au sein des réseaux de neurones corticaux durant la consolidation mnésique est stabilisée pour assurer leur stockage à long terme et comment leur déstabilisation pourrait fournir une explication cellulaire au processus d'oubli. Dans ce chapitre, nous proposons un nouveau mécanisme susceptible d'expliquer comment ces réseaux corticaux sont sélectionnés dès l'encodage des nouveaux souvenirs pour en assurer le stockage à long terme.

1. Les synapses enrichies en sous-unités GluN2B possèdent-elles un avantage compétitif ?

L'allocation d'un souvenir au sein d'un sous-ensemble de neurones (allocation neuronale) ou de synapses (allocation synaptique) n'est pas un phénomène aléatoire mais dépend de mécanismes spécifiques déterminant les sites de stockage de nos souvenirs. Une compétition entre neurones et synapses pour intégrer une nouvelle trace mnésique apparaît ainsi cruciale à la mise en place d'un stockage mnésique efficace dans la mesure où elle contribue à une utilisation optimale de l'espace de stockage (Rogerson et al., 2014). Plusieurs études supportent l'idée que le facteur de transcription CREB module la probabilité qu'un neurone donné soit intégré dans un réseau pour stocker un souvenir spécifique (Won and Silva, 2008). En effet, les neurones surexprimant CREB sont plus excitables que leurs voisins et ont probablement aussi une plus grande facilité à exprimer des processus de plasticité synaptique pour être intégrés dans une nouvelle trace mnésique (Zhou et al., 2009 ; Han et al., 2009 ; Yiu et al., 2014).

Cependant, très peu de résultats actuels renseignent sur les cascades moléculaires par lesquelles CREB confère un avantage compétitif aux neurones en augmentant leur excitabilité ou les capacités plastiques de leurs synapses. Une piste se révélant pertinente dans le cadre de cette thèse est la démonstration que CREB augmente les propriétés plastiques des synapses en favorisant l'expression synaptique des sous-unités GluN2B (Marie et al., 2005 ; Huang et al., 2009 ; Brown et al., 2011). En

effet, plusieurs études révèlent par exemple que l'expression d'une forme constitutivement active de CREB est suffisante pour augmenter l'expression synaptique des sous-unités GluN2B et générer des synapses silencieuses (Marie et al., 2005 ; Brown et al., 2011). Il est intéressant de noter que parmi les sous-unités GluN, seuls les gènes codants pour GluN1 et GluN2B contiennent un site de liaison CRE (« cAMP response element ») (Dingledine et al., 1999). Ces synapses sont donc très plastiques (Isaac et al., 1995 ; Liao et al., 1995) et pourraient ainsi constituer un substrat idéal pour l'allocation synaptique sous-tendant l'encodage de nouveaux souvenirs (Philpot and Zukin, 2010).

Bien que nos résultats pharmacologiques soient cohérents avec l'idée que les synapses enrichies en sous-unité GluN2B sont préférentiellement recrutées au cours du processus d'étiquetage cortical, il sera nécessaire d'en apporter une preuve plus directe. Pour cela, il serait judicieux d'évaluer le niveau d'expression des sous-unités GluN2B au sein des neurones corticaux activés au moment de l'acquisition de la tâche de TSPA. Cependant, la localisation subcellulaire des sous-unités GluN2B exprimées au niveau synaptique et d'un marqueur indirect de l'activité neuronale telle que la protéine Fos, quant à elle plutôt exprimée au niveau nucléaire, pourrait rendre complexe l'analyse de leur co-localisation.

2. Les traces mnésiques associées au cacao et au cumin recrutent-elles des populations de neurones corticaux différentes ?

Dans notre étude sur l'étiquetage cortical, nous avons conçu un plan expérimental utilisant deux paires d'odeurs consécutives, révélant que ce processus est spécifique d'une information donnée. Prenons l'exemple de l'Expérience 1. Les rats ont tout d'abord été soumis à une première interaction sociale utilisant une odeur de cacao puis une seconde interaction une semaine plus tard utilisant une odeur de cumin. L'inactivation des récepteurs NMDA corticaux au moment de l'apprentissage de l'information cumin affecte sélectivement la stabilisation à long terme de cette information, sans altérer celle de l'information cacao (nous montrons par ailleurs que la réciproque est aussi vraie). Ainsi, il est raisonnable de penser que notre protocole conduit à la genèse de deux traces mnésiques distinctes qui, en l'absence de traitement délétère, sont stabilisées dans le COF au cours du temps. Dès lors une question que l'on peut se poser est de savoir si ces deux traces mnésiques recrutent deux populations de neurones différentes ou bien la même population. L'utilisation de souris transgéniques développées par Reijmers et al. (2007) permettrait de visualiser la proportion de neurones activés durant l'encodage de l'information « cacao » qui se réactivent durant l'encodage de l'information « cumin ». Cependant, en l'absence de ces résultats, nous ne pouvons qu'émettre quelques hypothèses.

Les mécanismes d'allocation neuronale déterminent la population de neurones recrutée pour l'encodage et le stockage d'une trace mnésique. Ces mécanismes pourraient aussi avoir pour conséquence de lier deux souvenirs formés dans une fenêtre temporelle courte et moduler leur stockage ainsi que leur rappel (Silva et al., 2009). Silva et al. (2009) ont proposé un modèle expliquant comment l'allocation neuronale d'événements distincts se met en place au sein d'une population de neurones en fonction de la cinétique d'expression de CREB. Dans leur modèle, les auteurs proposent qu'un groupe de neurones soit recruté pour encoder un événement A (Figure IV.13). Ce premier apprentissage induit une augmentation temporaire de l'expression et de l'activité de CREB, augmentant l'excitabilité de ces neurones et donc la probabilité qu'ils soient à nouveau recrutés au cours de l'encodage d'un second événement B. Avec le temps, le niveau de CREB diminue, passant éventuellement sous son niveau basal en raison d'un rétrocontrôle négatif induit par des répresseurs. Par conséquent, l'apprentissage d'un troisième événement Z va recruter une seconde population de neurones. Ainsi, en raison de la superposition (plus ou moins partielle) des traces mnésiques A et B, le rappel de l'événement A conduirait aussi au rappel de l'événement B et vice versa, alors que le rappel de l'épisode Z se ferait indépendamment des deux autres.

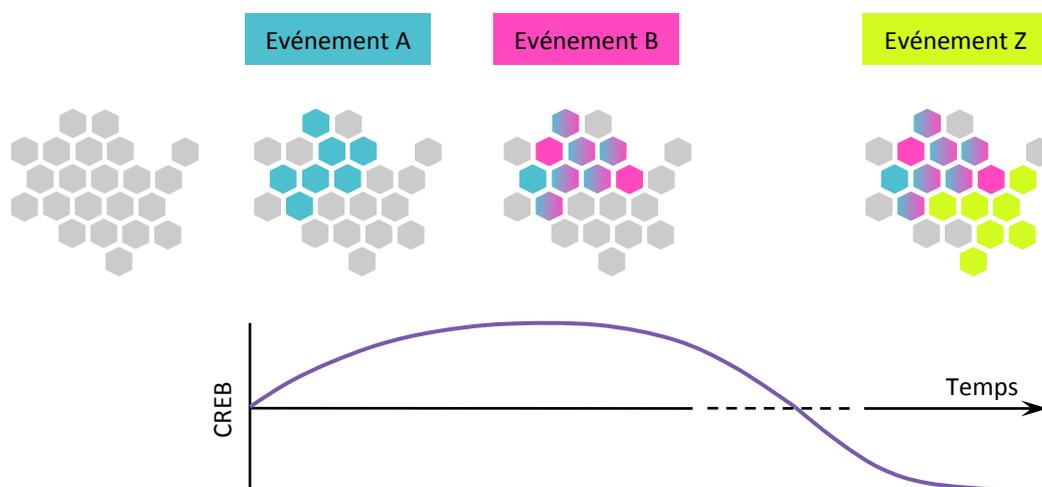


Figure IV.13 : *Modèle de l'allocation neuronale selon Silva et al., 2009*

En accord, avec ce modèle, Cai et al. (2015) démontrent que la superposition des assemblées neuronales de CA1 activées par deux contextes distincts appris durant la même journée est supérieure à celle obtenue quand l'apprentissage des deux contextes est séparé d'une semaine. La superposition des deux assemblées neuronales a lié les deux mémoires contextuelles puisque la réponse de peur induite par le premier contexte a été transférée au second contexte neutre (non associé à un choc électrique) dans la condition où les deux contextes ont été appris dans la même

journée mais pas lorsqu'ils ont été séparés d'une semaine. Par analogie avec cette dernière étude (non encore publiée), on peut supposer que l'intervalle de 7 jours laissé entre les deux interactions sociales (cacao et cumin) favorise le recrutement de deux populations neuronales bien distinctes au sein du COF.

Par ailleurs, en supplément du facteur CREB, il a été montré que le processus d'allocation neuronale de deux événements pouvait dépendre de leur niveau de similarité. La proportion de neurones communs recrutés au cours de l'encodage de deux événements serait ainsi positivement corrélée au degré de leur similitude. Par exemple, dans un conditionnement de peur au contexte, la population de neurones hippocampiques réactivée par un contexte B augmente avec le niveau de similarité que celui-ci partage avec un contexte A (Guzowski et al., 1999 ; Vazdarjanova and Guzowski, 2004). Dans le cadre de la tâche de TSPA, la question reste complexe puisque le degré de similitude entre le cacao et le cumin est très difficile à évaluer d'un point de vue objectif.



Effets de la modulation du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B sur la cinétique du dialogue hippocampo-cortical et la formation de la mémoire à long terme

I. INTRODUCTION

A. Modulation de la cinétique du dialogue hippocampo-cortical : au-delà du concept de schéma ?

Selon certains modèles connexionnistes, la consolidation des nouveaux souvenirs au niveau cortical s'opèrerait progressivement durant plusieurs semaines chez les rongeurs, jusqu'à plusieurs années chez l'Homme. Ce processus d'assimilation de nouvelles informations au niveau cortical serait lent afin de réduire le risque d'interférer avec le stockage de souvenirs plus anciens générés lors d'expériences antérieures (McClelland et al., 1995 ; Frankland and Bontempi, 2005). Bien qu'un certain nombre d'observations empiriques appuient ce postulat, elles ne rendent pas compte d'une certaine réalité biologique du fait que les animaux chez lesquels ces observations ont été effectuées sont élevés dans un environnement assez appauvris et sont généralement naïfs au moment de l'apprentissage. Ainsi, en 2007, l'équipe de Richard Morris démontre que le gradient d'amnésie rétrograde n'est pas une entité rigide mais peut faire preuve d'une grande flexibilité en fournissant pour la première fois chez le rongeur la démonstration que de nouvelles informations peuvent être incorporées rapidement au niveau cortical si ces informations sont similaires à une représentation corticale (le schéma) d'un environnement spatial complexe préalablement établie (Tse et al., 2007). Ainsi, cette étude révélait que le cortex n'est pas obligatoirement un « slow learner » puisque sous certaines circonstances il est capable d'intégrer rapidement de nouvelles informations. Ainsi, dans le cas de l'étude de Tse et al., l'accélération du processus de consolidation mnésique peut s'expliquer par l'existence d'un schéma cortical précédemment établi et permettant l'intégration rapide d'informations similaires ou compatibles, sans générer d'interférence (Wang and Morris, 2010 ; McClelland, 2013). Maintenant si l'on considère que le processus de consolidation systémique reflète la maturation du réseau néocortical permettant d'augmenter la connectivité cortico-corticale, on pourrait envisager que certaines interventions participant à accélérer la maturation du réseau cortical, telle une augmentation rapide du ratio GluN2A/GluN2B, pourraient également accélérer la stabilisation des traces mnésiques dans ce réseau, et ce même en l'absence d'un schéma cortical pré-établi. C'est l'hypothèse principale proposée dans ce dernier chapitre.

B. Objectifs

L'objectif principal des expériences présentées dans ce chapitre a été d'évaluer comment la modulation physiologique du ratio GluN2A/GluN2B au sein des membranes post-synaptique du COF pouvait influencer la persistance de la mémoire olfactive associative à long terme et la cinétique du dialogue hippocampo-cortical nécessaire à la stabilisation de cette mémoire dans les réseaux corticaux. En admettant que le rappel de la mémoire possède une propriété ré-intégrative (seulement une partie de l'expérience ou de l'événement original a besoin d'être présent pour permettre le rappel du souvenir dans son intégralité via la réactivation complète de la trace mnésique (Schacter et al., 1978), nous avons tout d'abord tenté de freiner le processus d'oubli de la mémoire acquise en TSPA par réactivation de la trace mnésique en réexposant les rats à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention entre J30 et J60 (Expérience 1). Nous avons formulé l'hypothèse que la réactivation des assemblées neuronales corticales durant cette période permettrait de maintenir un ratio GluN2A/GluN2B élevé, favorisant ainsi la stabilité de la trace mnésique au niveau cortical et la persistance de la mémoire ancienne. Dans un second temps, en considérant que l'état du ratio GluN2A/GluN2B est corrélé au niveau d'activité au sein des réseaux corticaux, nous avons développé un protocole permettant d'augmenter précocement l'activité neuronale dans le COF en soumettant chaque rat observateur à plusieurs interactions sociales dans la même journée. Nous avons d'abord mesuré l'effet de ces interactions multiples sur les performances mnésiques des animaux à court et long terme (Expérience 2). Ensuite nous avons évalué l'effet des interactions multiples sur la redistribution post-synaptique des sous-unités GluN2 (Expérience 3 et 4). Nous avons postulé que l'augmentation précoce de l'activité au sein des réseaux corticaux pourrait induire une augmentation accélérée du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF. Enfin, nous avons testé si les interactions multiples participent à accélérer la cinétique du dialogue hippocampo-cortical en inactivant pharmacologiquement l'HPC ou le COF au moment du rappel de la mémoire acquise à différents délais après la phase d'interaction sociale (Expérience 5). Selon notre hypothèse, une augmentation rapide du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF pourrait conduire à une stabilisation accélérée des traces mnésiques au sein de ce cortex révélée par une prise en charge corticale et un désengagement hippocampique plus rapides.

II. CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES

A. Expérience 1 : Effet de la réactivation de la trace mnésique durant l'intervalle de rétention sur l'oubli de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

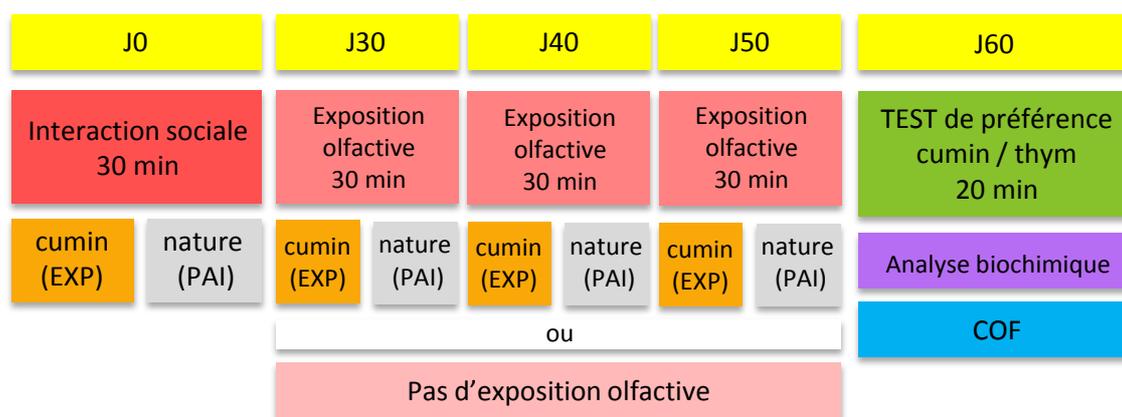


Figure V.1 : Plan expérimental de l'expérience 1

Suite à une interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur nourri avec une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les rats ont été divisés en deux groupes. Dans le premier groupe, les rats ont été réexposés à l'odeur de cumin durant 30 min, 30 jours, 40 jours et 50 jours après l'interaction. Les rats du second groupe n'ont pas été réexposés à l'odeur de cumin entre l'interaction sociale et le test de préférence alimentaire. Tous les rats ont ensuite été soumis à un test de préférence entre le cumin et le thym au délai de 60 jours (J60). Comme précédemment, les animaux témoins PAI ayant interagi avec un démonstrateur ayant consommés de la nourriture non aromatisée ont permis de fournir le niveau de préférence alimentaire innée pour le thym à J60 dans les conditions de l'expérience. Après les 20 min du test de rétention, la nourriture a été retirée et pesée, et le pourcentage de nourriture au cumin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont été immédiatement sacrifiés et les cerveaux prélevés afin de procéder à la quantification du niveau d'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF. Les animaux ont donc été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	Sans réexposition	Avec réexposition
EXP	n=10	n=9
PAI	n=10	n=10

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 1

2. Résultats

a) Effet de la réexposition à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention sur les performances mnésiques testées 60 jours après l'interaction sociale

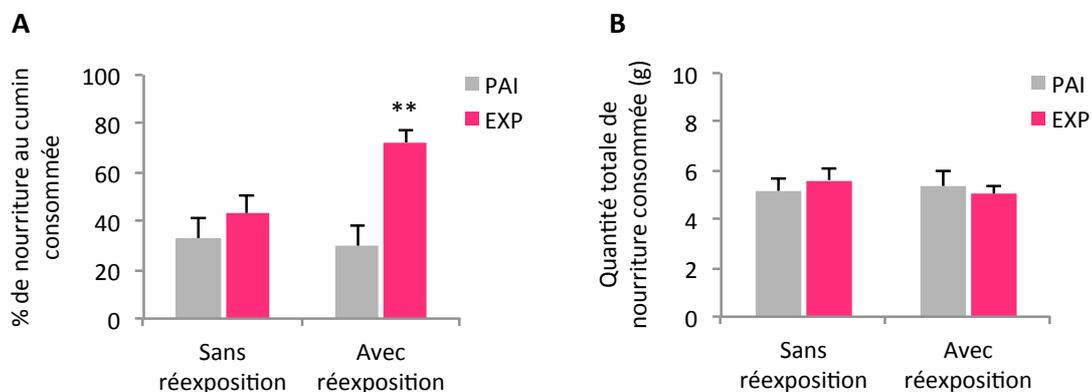


Figure V.2 : Résultats comportementaux des groupes témoins (PAI) et expérimentaux (EXP) à J60. (A) Performances mnésiques des rats 60 jours après une interaction avec un démonstrateur ayant consommé de la nourriture aromatisée au cumin (EXP) ou de la nourriture non aromatisée (PAI) puis 3 fois réexposés ou pas à une odeur de cumin (J30, J40, J50). Les performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. ** $p < 0,01$ versus PAI.

La réexposition à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention est suffisante pour freiner le processus d'oubli observé à J60 chez les animaux dont la trace mnésique n'a pas été réactivée durant la même période. En effet l'analyse des résultats comportementaux par une ANOVA à deux facteurs (réexposition x groupe) révèle un effet du groupe ($F_{(1, 35)} = 8,424$, $p < 0,01$) et de l'interaction réexposition x groupe ($F_{(1, 35)} = 5,441$, $p < 0,05$) mais pas de la réexposition ($F_{(1, 35)} = 1,358$, $p > 0,05$). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction condition x groupe : $F_{(1, 35)} = 0,003377$, $p > 0,05$) révélant que ce résultat n'est pas imputable à des disparités dans le niveau de motivation des rats au moment du test de préférence.

b) Effet de la réexposition à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention sur le ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B du COF 60 jours après l'interaction sociale

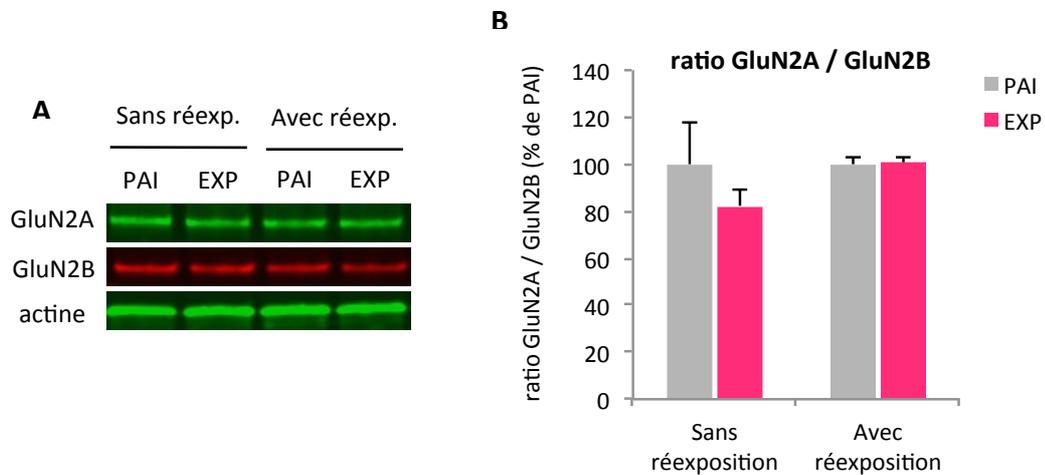


Figure V.3 : (A) Photographie d'une membrane sur laquelle a été révélée en immunofluorescence les quantités de sous-unités GluN2A, GluN2B et d'actine mesurées dans les fractions DPS issues du COF. (B) Niveau d'expression post-synaptique du ratio GluN2A/GluN2B au sein du COF 60 jours après l'interaction sociale chez les animaux réexposés ou pas à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention.

Contrairement à nos prédictions, l'analyse de l'expression des sous-unités GluN2A, GluN2B et donc du ratio GluN2A/GluN2B ne montre aucune différence significative entre les groupes PAI et EXP que les animaux aient été soumis ou pas à la procédure de réexposition olfactive (ANOVA : interaction réexposition x groupe : $F_{(1, 35)} = 2,187$, $p > 0,05$).

3. Conclusion

Les résultats comportementaux ont permis de démontrer que la réexposition à l'odeur de cumin durant l'intervalle de rétention est suffisante pour freiner de façon efficace le processus d'oubli observé chez les rats non réexposés. Cependant, contrairement aux résultats attendus, la préservation de la mémoire testée 60 jours après l'interaction sociale n'est pas corrélée au maintien élevé du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF. En effet celui-ci apparaît identique à celui exprimé par les animaux témoins PAI ou expérimentaux (EXP) non réexposés au cumin et présentant un oubli à J60. Ces résultats suggèrent ainsi que la rétention de la mémoire observée à J60 suite à la réexposition à l'odeur cumin ne serait plus dépendante du niveau d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B dans les membranes post-synaptiques du COF, mais ferait peut-être intervenir un autre mécanisme qui assurerait dans ces conditions le stockage des souvenirs anciens. Ces résultats pourraient

également s'expliquer par le fait que notre protocole de réexposition n'induit pas une réactivation complète de la trace et concerne seulement certaines de ses composantes. En effet dans notre protocole de réactivation, nous présentons uniquement l'odeur (composante olfactive de la trace initiale) et non une interaction sociale complète. Cette non congruence (« mismatch ») pourrait alors nécessiter une actualisation de la trace mnésique initiale ou même la création d'une nouvelle trace, un processus qui serait alors dépendant des sous-unités GluN2B. Afin de tester cette hypothèse, nous allons répliquer cette expérience en intégrant dans notre protocole de réactivation à J30, J40 et J50 des interactions sociales similaires à l'interaction initiale.

B. Expérience 2 : Effet des interactions multiples sur le rappel des informations récentes et anciennes

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

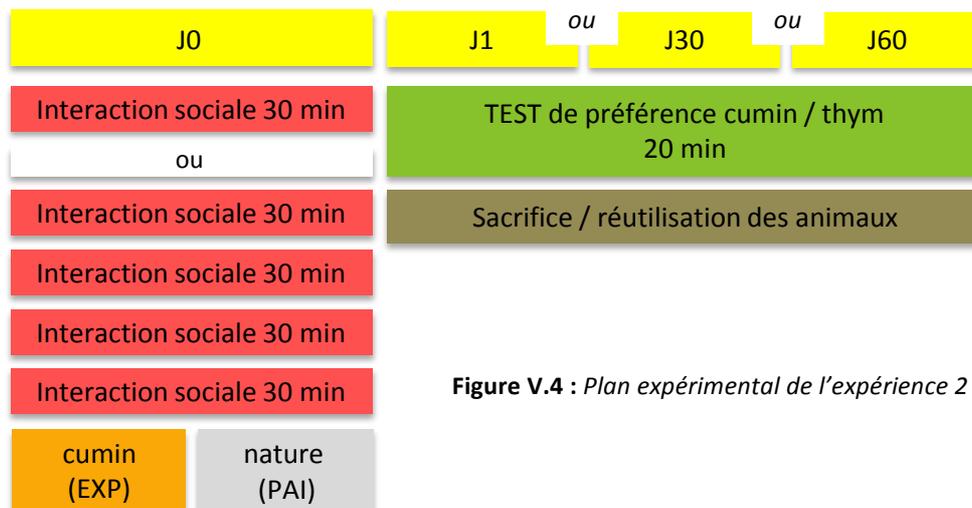


Figure V.4 : Plan expérimental de l'expérience 2

Les rats ont été divisés en deux groupes. Le premier a subi une unique interaction sociale de 30 min avec un démonstrateur ayant mangé une nourriture aromatisée au cummin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI). Le second groupe a subi, dans la même journée, 4 interactions sociales consécutives, séparées d'une heure. Par ailleurs, pour limiter un phénomène d'habituation (appréhendé ci-dessous en mesurant le nombre de contacts nez-nez lors des interactions sociales) pouvant s'instaurer entre le rat observateur et son démonstrateur au fur et à mesure des interactions, chaque rat observateur a interagi avec 4 rats démonstrateurs différents. Les rats des deux groupes formés précédemment ont été soumis au test de préférence entre le cummin et le thym

1 jour, 30 jours ou 60 jours après la ou les interactions sociales, avant d'être sacrifiés ou réutilisés dans une autre étude. Les animaux ont été répartis en 12 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	1 interaction			4 interactions		
	J1	J30	J60	J1	J30	J60
EXP	n=12	n=16	n=16	n=10	n=9	n=18
PAI	n=12	n=6	n=12	n=5	n=5	n=14

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 2

2. Résultats

a) Quantification de la dynamique d'interaction sociale entre le rat observateur et les 4 rats démonstrateurs successifs

Afin de s'assurer que la répétition des interactions sociales ne conduit pas à un phénomène d'habituation qui se traduirait par une réduction importante de l'interaction entre les deux animaux, nous avons quantifié le nombre et la durée cumulée des contacts « nez-à-nez » entre le rat observateur et les 4 rats démonstrateurs successifs. Pour cela, nous avons utilisé le logiciel Ethovision XT permettant la détection et le suivi en temps réel de la position de chaque rat dans la cage (cf Chapitre I). En raison de certaines contraintes logistiques, la dynamique d'interaction sociale de seulement 4 rats a été quantifiée.

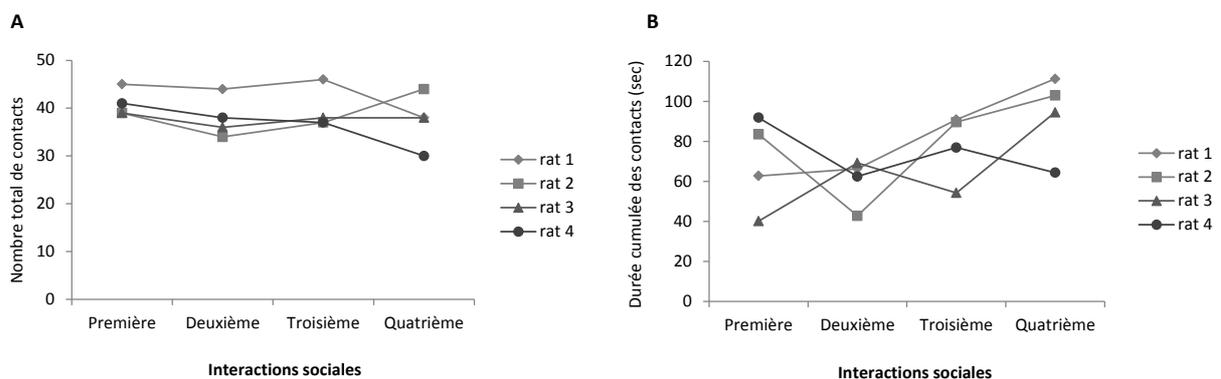


Figure V.5 : Quantification de la dynamique d'interaction sociale entre 4 rats observateurs et 4 rats démonstrateurs successifs. (A) Nombre total de contacts « nez-à-nez » entre chaque rat observateur et les 4 rats démonstrateurs successifs. (B) Durée cumulée des contacts (en secondes) entre chaque rat observateur et les 4 rats démonstrateurs successifs au cours des 4 interactions sociales.

L'analyse de la dynamique d'interaction sociale entre ces 4 rats observateurs et les différents rats démonstrateurs au cours des 4 interactions successives révèle que le nombre total de contacts entre les deux rats varie très peu d'une interaction sociale à l'autre. Les résultats concernant la durée cumulée des contacts sont quant à eux plus hétérogènes, rendant difficile la formulation d'une tendance. Si on considère la première et la dernière interaction, les rats 1, 2 et 3 augmentent la durée cumulée de leur contact avec le rat démonstrateur, alors que celle du rat 4 diminue. Pris dans leur ensemble, ces résultats ont permis de valider notre protocole d'interactions multiples en démontrant que le choix de nos paramètres tels que l'utilisation d'un démonstrateur différent à chaque nouvelle interaction ou le délai d'une heure entre chaque interaction est pertinent pour éviter un phénomène d'habituation qui aurait pu réduire l'efficacité des interactions multiples et crée un biais d'interprétation quant à leurs effets sur les variables mesurées par la suite.

b) Performance mnésique des rats observateurs suite aux 4 interactions sociales

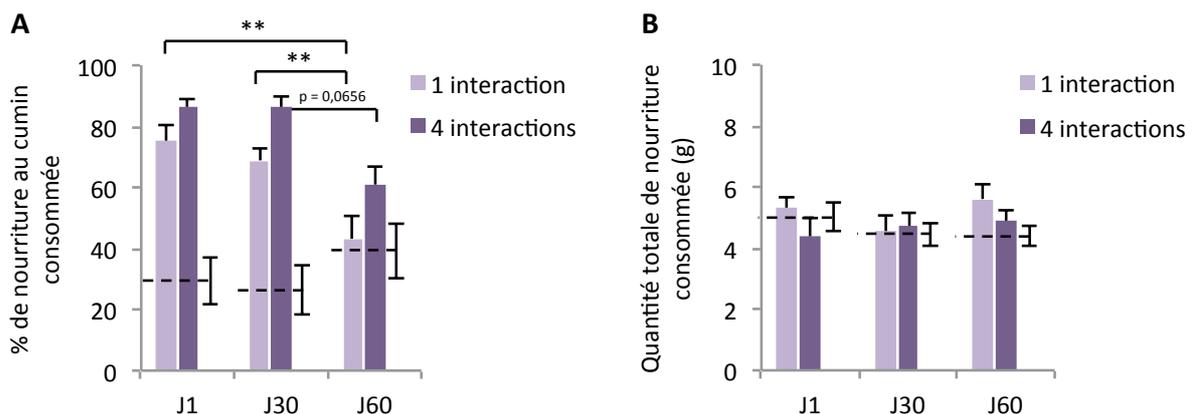


Figure V.6 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) testés 1, 30 ou 60 jours après une interaction ou 4 interactions sociales avec des rats démonstrateurs ayant consommés de la nourriture aromatisée au cumin. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin par délai (J1 : n=17 ; J30 : n=11 ; J60 : n=26). La moyenne des performances des groupes témoins PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture au thym lors du test de rappel. ** $p < 0,01$ entre les groupes indiqués.

Grâce à une ANOVA à deux facteurs (condition : 1 vs 4 interactions x délai : J1 vs J30 vs J60) nous révélons malgré une absence d'interaction condition x délai ($F_{(2, 75)} = 0,1455$, $p > 0,05$), un effet de la condition ($F_{(1, 75)} = 8,195$, $p < 0,01$) et du délai ($F_{(2, 75)} = 15,55$, $p < 0,0001$). Malgré un nombre d'interactions multiplié par 4, les performances mnésiques des rats soumis aux interactions multiples ne sont pas significativement supérieures à celle des rats soumis à une interaction sociale unique de

30 min et ce, quel que soit le délai de rétention ($p > 0,05$ vs 1 interaction). Néanmoins, alors que les rats soumis à une seule interaction expriment un phénomène d'oubli entre J30 et J60, les interactions multiples tendent à freiner cet oubli. La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction condition x délai : $F_{(2, 75)} = 0,7239$, $p > 0,05$) révélant que le niveau de motivation des rats était le même au moment du test de préférence.

3. Conclusion

Cette expérience a permis de caractériser l'effet comportemental des interactions multiples utilisées par la suite comme outils physiologique pour induire des activations neuronales répétées au sein du COF. Dans le chapitre I, nous avons mis en évidence que les performances mnésiques des animaux dans la tâche de TSPA sont positivement corrélées au nombre et à la durée cumulée des contacts entre les deux rats durant l'interaction sociale. Cependant, contrairement à nos prédictions, il semble que 4 interactions consécutives n'améliorent pas de façon significative les performances mnésiques des animaux. Dans les expériences suivantes, nous avons examiné si ces interactions multiples modulent l'évolution temporelle du ratio GluN2A/GluN2B et la cinétique de corticalisation de l'information.

C. Expérience 3 : Effet des interactions multiples sur l'évolution temporelle du ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes post-synaptiques du COF

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

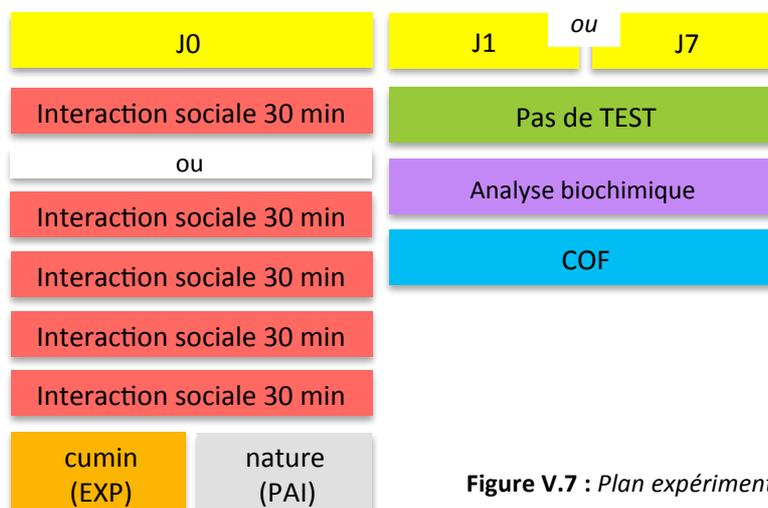


Figure V.7 : Plan expérimental de l'expérience 3

Suite à une interaction sociale de 30 min ou 4 interactions consécutives avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les rats ont été sacrifiés et les cerveaux prélevés 1 ou 7 jours après l'interaction sociale, afin de procéder à la quantification du niveau d'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A et GluN2B dans le COF. Les animaux ont donc été répartis en 8 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	1 interaction		4 interactions	
	J1	J7	J1	J7
EXP	n=9	n=7	n=5	n=6
PAI	n=8	n=4	n=5	n=5

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 3

2. Résultats

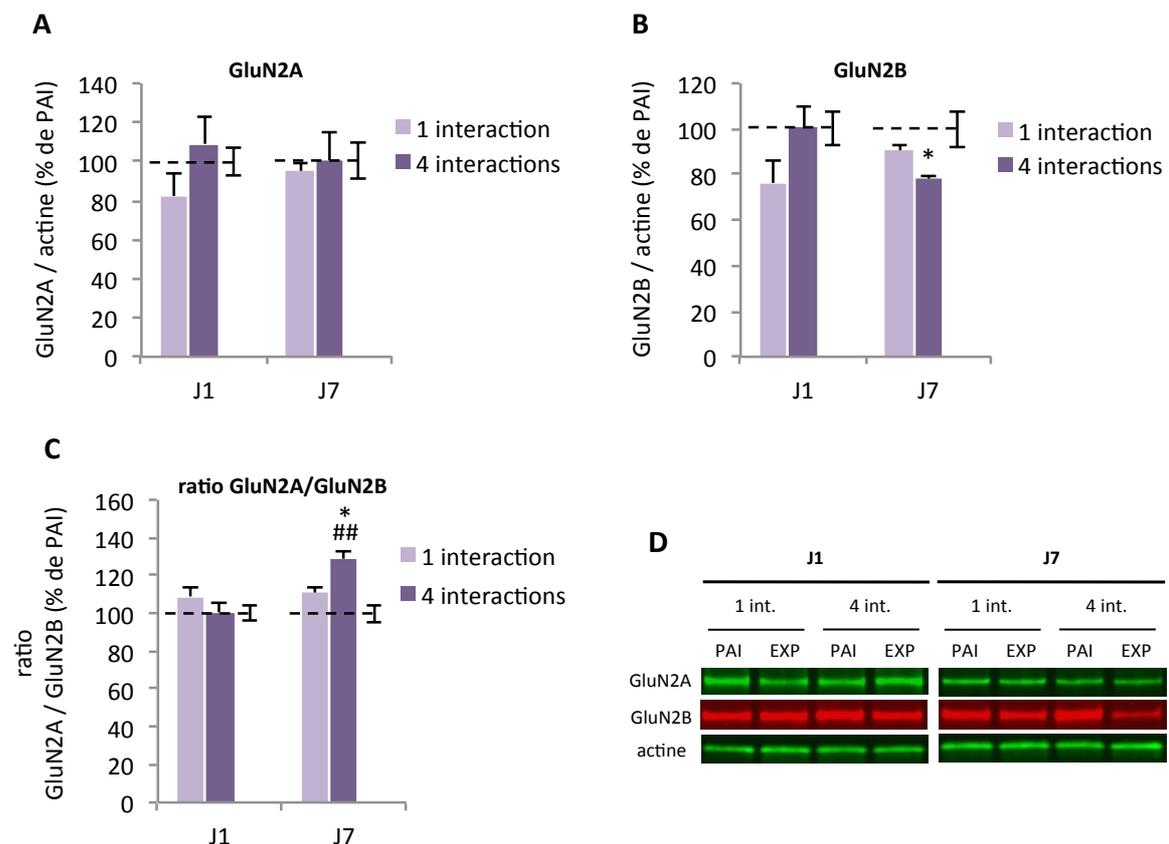


Figure V.8 : Niveau d'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A (A), GluN2B (B) et du ratio GluN2A/GluN2B (C) dans la fraction DPS du COF, 1 ou 7 jours après l'interaction sociale suite à une ou quatre interactions sociales. (D) Photographie représentative des immunoblots révélant en immunofluorescence la quantité de sous-unités GluN2A, GluN2B et d'actine mesurées dans les fractions DPS issues du COF. Les lignes en pointillé représentent les résultats des groupes témoins PAI (pour chacun des deux délais, les groupes PAI-1 int et PAI-4 int ont été fusionnés afin de simplifier les représentations graphiques). *p<0,05 versus 1 interaction ; **p<0,01 versus PAI.

Quel que soit le nombre d'interactions sociales, le niveau d'expression post-synaptique des sous-unités GluN2A dans le COF ne varie pas de façon significative (ANOVA : interaction condition x délai : $F_{(2, 41)} = 0,7602$, $p > 0,05$). Concernant les sous-unités GluN2B, une ANOVA à deux facteurs révèle un effet de la condition ($F_{(2, 41)} = 5,441$, $p < 0,01$) mais pas d'effet du délai ($F_{(1, 41)} = 0,9583$, $p > 0,05$) ni de l'interaction condition x délai ($F_{(2, 41)} = 2,789$, $p = 0,0732$). Enfin, concernant le ratio GluN2A/GluN2B, une ANOVA à deux facteurs révèle un effet de la condition ($F_{(2, 41)} = 9,229$, $p < 0,001$), du délai ($F_{(1, 41)} = 14,19$, $p < 0,001$) et de l'interaction condition x délai ($F_{(2, 41)} = 5,062$, $p < 0,05$). Ainsi, l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes post-synaptiques du COF est plus importante à J7 après 4 interactions en comparaison d'une seule ($p < 0,05$ versus 1 interaction). Les 4 interactions n'ont pas d'effet à J1 ($p > 0,05$ versus 1 interaction). Par ailleurs, cette augmentation du ratio semble s'opérer comme précédemment par une diminution de l'expression synaptique des sous-unités GluN2B.

3. Conclusion

Les résultats apportés par cette expérience suggèrent que les interactions multiples accélèrent la redistribution post-synaptique des sous-unités GluN2B dans le COF. De façon assez étonnante, l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B suite aux 4 interactions n'est pas instantané comme en atteste son absence 1 jour après la dernière interaction mais conserve son caractère graduel qui a pu être observé après une seule interaction. Ainsi, l'augmentation précoce de l'activité neuronale au sein des réseaux corticaux induite par les interactions multiples n'aurait pas nécessairement une conséquence immédiate sur l'état des réseaux mais un effet à plus long terme, observé ici 7 jours après l'interaction sociale. Cependant nos résultats ne permettent pas de déterminer si la différence entre le niveau du ratio GluN2A/GluN2B observé 7 jours après 1 ou 4 interactions est due à une accélération de la redistribution des sous-unités GluN2B au sein d'un réseau identique entre 1 et 4 interactions et qui aurait été réactivé précocement au moment de l'acquisition ou si elle est due au fait que les interactions multiples recruterait un réseau de neurones corticaux plus large facilitant la détection des variations du ratio GluN2A/GluN2B au sein du COF. Des expériences complémentaires visant à évaluer l'étendue du réseau de neurones corticaux recrutés suite à 1 ou 4 interactions sont en cours afin de répondre à cette question.

D. Expérience 4 : Inactivations pharmacologiques chroniques des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA corticaux durant la phase précoce post-interactions multiples : effet sur la formation de la mémoire à long terme

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

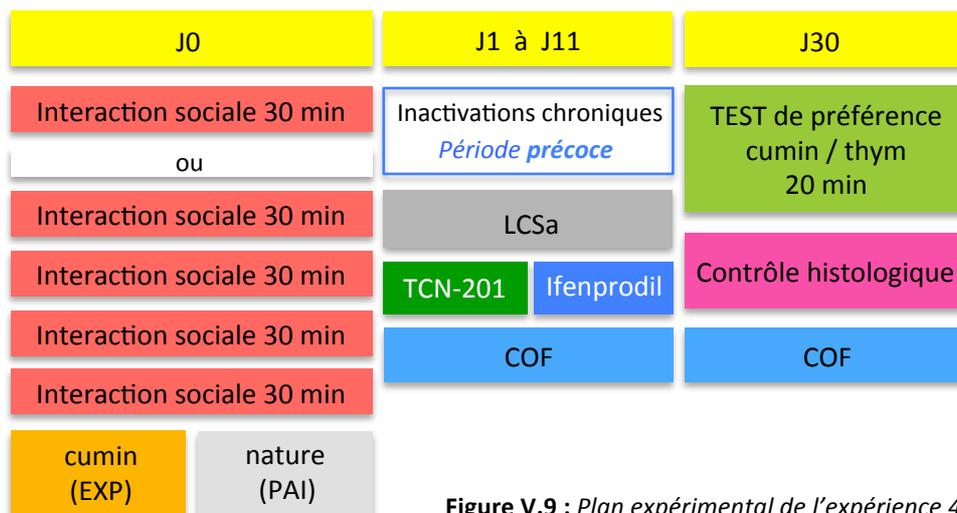


Figure V.9 : Plan expérimental de l'expérience 4

Suite à une interaction sociale de 30 min ou 4 interactions consécutives avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement dans le COF ont reçu des injections intracérébrales de LCSa, de TCN-201 ou d'Ifenprodil durant la phase précoce de l'intervalle de rétention (du jour 1 au jour 11). Ainsi 6 injections intracérébrales ont été réalisées par animal au rythme d'une injection tous les deux jours. Le test de préférence a été effectué entre le cumin et le thym 30 jours après l'interaction sociale pour tous les animaux. Comme précédemment, les animaux témoins PAI ayant interagi avec un démonstrateur ayant consommé de la nourriture non aromatisée ont permis de fournir le niveau de préférence alimentaire innée pour le thym dans les conditions de l'expérience et ont permis de vérifier si les injections ne modifiaient pas cette préférence. A la fin des 20 min du test, la nourriture a été retirée et pesée, et le pourcentage de nourriture au cumin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont été sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la vérification des sites d'implantations des guides canules. Les animaux ont été répartis en 12 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	1 interaction			4 interactions		
	LCSa	TCN-201	Ifenprodil	LCSa	TCN-201	Ifenprodil
EXP	n=11	n=8	n=10	n=7	n=8	n=8
PAI	n=3	n=3	n=3	n=3	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 4

2. Résultats

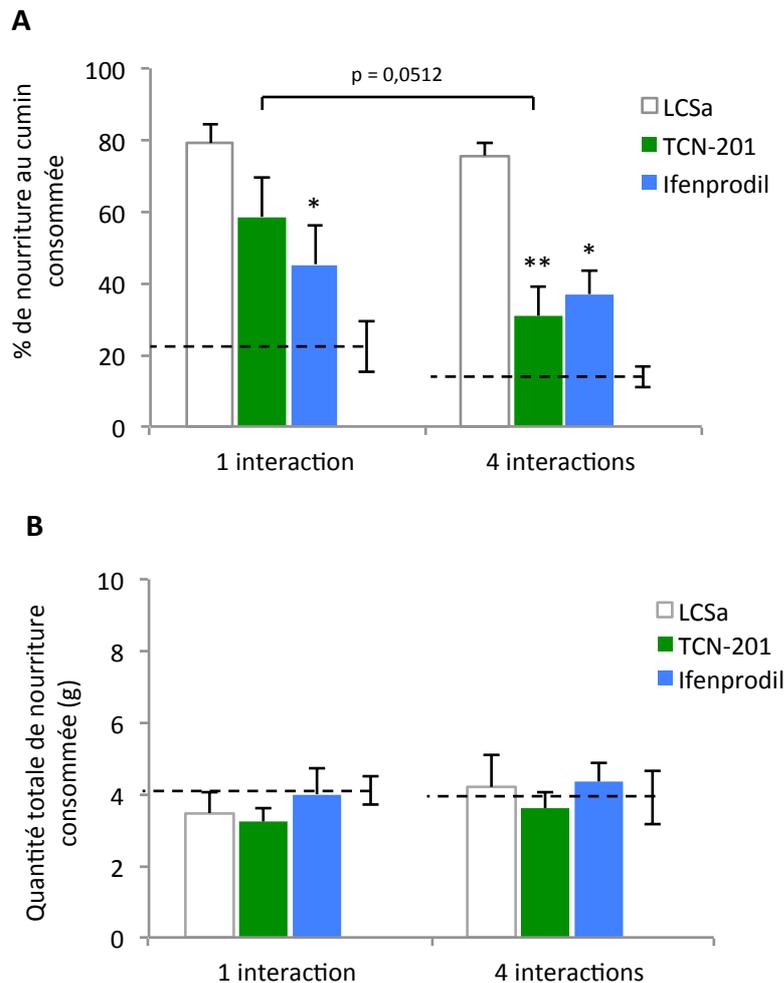


Figure V.10 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) à J30, suite à 1 interaction sociale ou 4 consécutives et après injection chronique de LCSa, de TCN-201 ou d'Ifenprodil dans le COF durant la phase précoce de la consolidation (1-11 jours) (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin par condition (n=9). La moyenne des performances des groupes témoins PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture au thym lors du test de rappel. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ versus LCSa.

Les inactivations pharmacologiques chroniques des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA corticaux durant la phase précoce, montrent des changements de sensibilité aux antagonistes sélectifs des GluN2A-RNMDA, suite à une seule interaction ou 4 consécutives. Une ANOVA à deux facteurs (traitement x condition) révèle un effet du traitement ($F_{(2, 46)} = 12,90$, $p < 0,0001$) et de la condition ($F_{(1, 46)} = 6,476$, $p < 0,05$). L'inactivation des récepteurs GluN2B-RNMDA corticaux par infusion d'Ifenprodil dans le COF perturbe la consolidation de la mémoire olfactive associative testée 30 jours après 1 ou 4 interactions sociales ($p < 0,05$ vs LCSa). En revanche, l'inactivation chronique des GluN2A-RNMDA par injection de TCN-201 révèle un effet différentiel suite à 1 ou 4 interactions. En effet, la capacité du TCN-201 à bloquer la consolidation mnésique est supérieure quand il est injecté suite aux interactions multiples ($p < 0,01$ vs LCSa) en comparaison d'une interaction unique ($p > 0,05$ vs LCSa). Aucune différence significative sur la quantité de nourriture consommée entre les groupes étudiés n'a été observée (ANOVA : interaction traitement x condition : $F_{(2, 46)} = 0,05369$, $p > 0,05$). L'effet comportemental du TCN-201 ou de l'Ifenprodil observé précédemment n'est donc pas dû à une différence de niveau de motivation des animaux au moment du test de rétention.

3. Conclusion

Les résultats apportés par l'inactivation pharmacologique des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA corticaux suite à une ou quatre interactions sociales sont cohérents avec les résultats précédents montrant que les interactions multiples accélèrent l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes post-synaptique du COF durant la phase précoce de l'intervalle de rétention. Dans ce sens, nous révélons ici que les interactions multiples tendent à accélérer le recrutement fonctionnel des GluN2A-RNMDA du COF, vraisemblablement en raison d'une réduction plus rapide de l'expression synaptique des GluN2B-RNMDA. Par ailleurs, les déficits mnésiques observés suites à l'inactivation des GluN2B-RNMDA et ce quel que soit la force de l'apprentissage initial, renforcent l'idée d'une implication fonctionnelle essentielle de ces récepteurs dans les premières phases du processus de consolidation mnésique. Nos résultats suggèrent ainsi une accélération de la maturation corticale observée à travers l'étude du changement de ratio GluN2A/GluN2B.

Dans les expériences suivantes nous avons examiné si l'accélération de la dynamique de surface des GluN2B-RNMDA pouvait être corrélée à une accélération de la cinétique du dialogue hippocampo-cortical.

E. Expérience 5 : Effet des interactions multiples sur la cinétique de la consolidation systémique des informations olfactives associatives

1. Matériels et méthodes

a) Plan expérimental

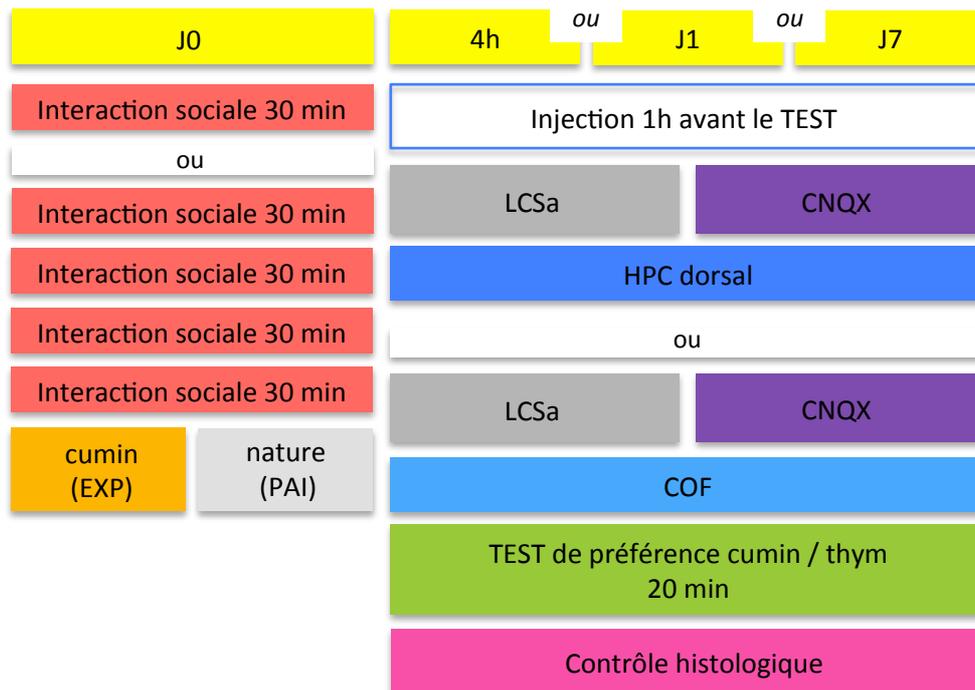


Figure V.11 : Plan expérimental de l'expérience 5

Suite à 1 ou 4 interactions sociales consécutives avec un démonstrateur ayant consommé une nourriture aromatisée au cumin (groupes EXP) ou non aromatisée (groupes PAI), les animaux implantés bilatéralement soit dans l'HPC dorsal, soit dans le COF, ont reçu une injection intracérébrale de LCSa ou de CNQX une heure avant le test de préférence entre le cumin et le thym effectué 4h, 1 jour ou 7 jours après la dernière interaction sociale. A la fin des 20 min du test, la nourriture a été retirée et pesée, et le pourcentage de nourriture au cumin consommée a servi d'indice de performance mnésique. Les animaux ont été sacrifiés et les cerveaux prélevés en vue de procéder à la vérification des sites d'implantations des guides canules. Les animaux ont été répartis en 48 groupes dont les effectifs sont présentés dans les tableaux suivants. Certains groupes sont manquants mais seront effectués prochainement.

1 interaction											
HPC						COF					
4h		J1		J7		4h		J1		J7	
LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX
EXP				n=7	n=9					n=7	n=8
PAI				n=3	n=3					n=3	n=3

4 interactions												
HPC						COF						
4h		J1		J7		4h		J1		J7		
LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	LCSa	CNQX	
EXP	n=6	n=10	n=7	n=9	n=6	n=9	n=5	n=8	n=6	n=10	n=6	n=9
PAI	n=4	n=4	n=3	n=4	n=4							

Tableaux présentant les effectifs de l'expérience 5

2. Résultats

a) Effet de l'inactivation pharmacologique de l'HPC dorsal ou du COF sur le rappel de la mémoire 7 jours après une interaction sociale unique

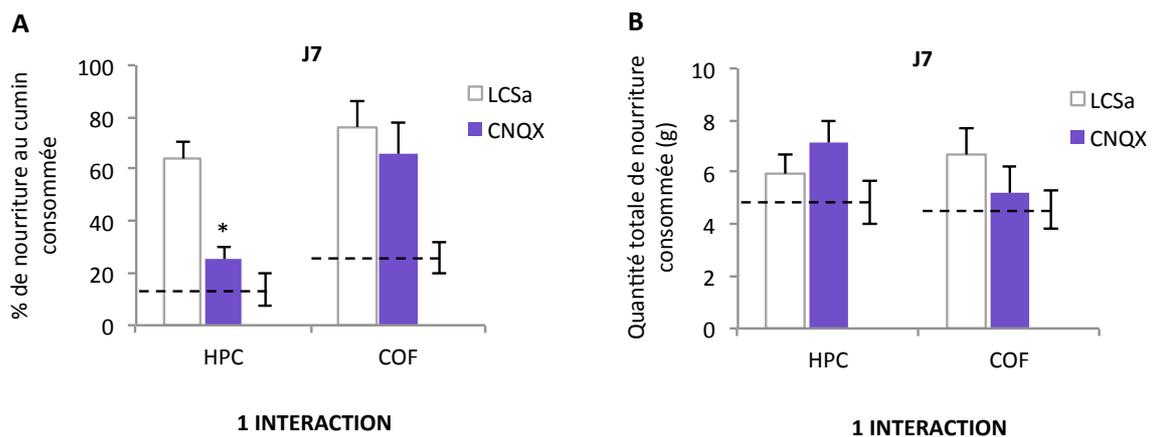


Figure V.12 : Résultats comportementaux des groupes expérimentaux (EXP) 7 jours après une interaction sociale unique et suite à l'inactivation de l'HPC ou du COF 1h avant le rappel. (A) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cummin consommée. (B) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin ($n=6$ par région). La moyenne des performances des groupes témoins PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillés. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture au thym lors du test de rappel. * $p < 0,05$ versus LCSa.

Concernant la part de cummin consommée, une ANOVA à deux facteurs (traitement x région) révèle malgré l'absence d'effet de l'interaction traitement x région ($F_{(1, 27)} = 2,573$, $p > 0,05$), un effet du traitement ($F_{(1, 27)} = 7,705$, $p < 0,01$) et de la région ($F_{(1, 27)} = 8,874$, $p < 0,01$). Suite à une interaction sociale unique, seule l'inactivation de l'HPC dorsal au moment du test de préférence à 7 jours affecte le rappel de la mémoire. Ce résultat confirme que le COF n'est pas nécessaire au rappel

à court terme de l'information, celui-ci étant sous la dépendance de l'HPC. La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x région : $F_{(1, 27)} = 2,031$, $p > 0,05$) révélant que le niveau de motivation des rats était le même au moment du test de préférence.

b) Effet de l'inactivation pharmacologique de l'HPC dorsal ou du COF sur le rappel de la mémoire 4h, 1 jour ou 7 jours après 4 interactions sociales

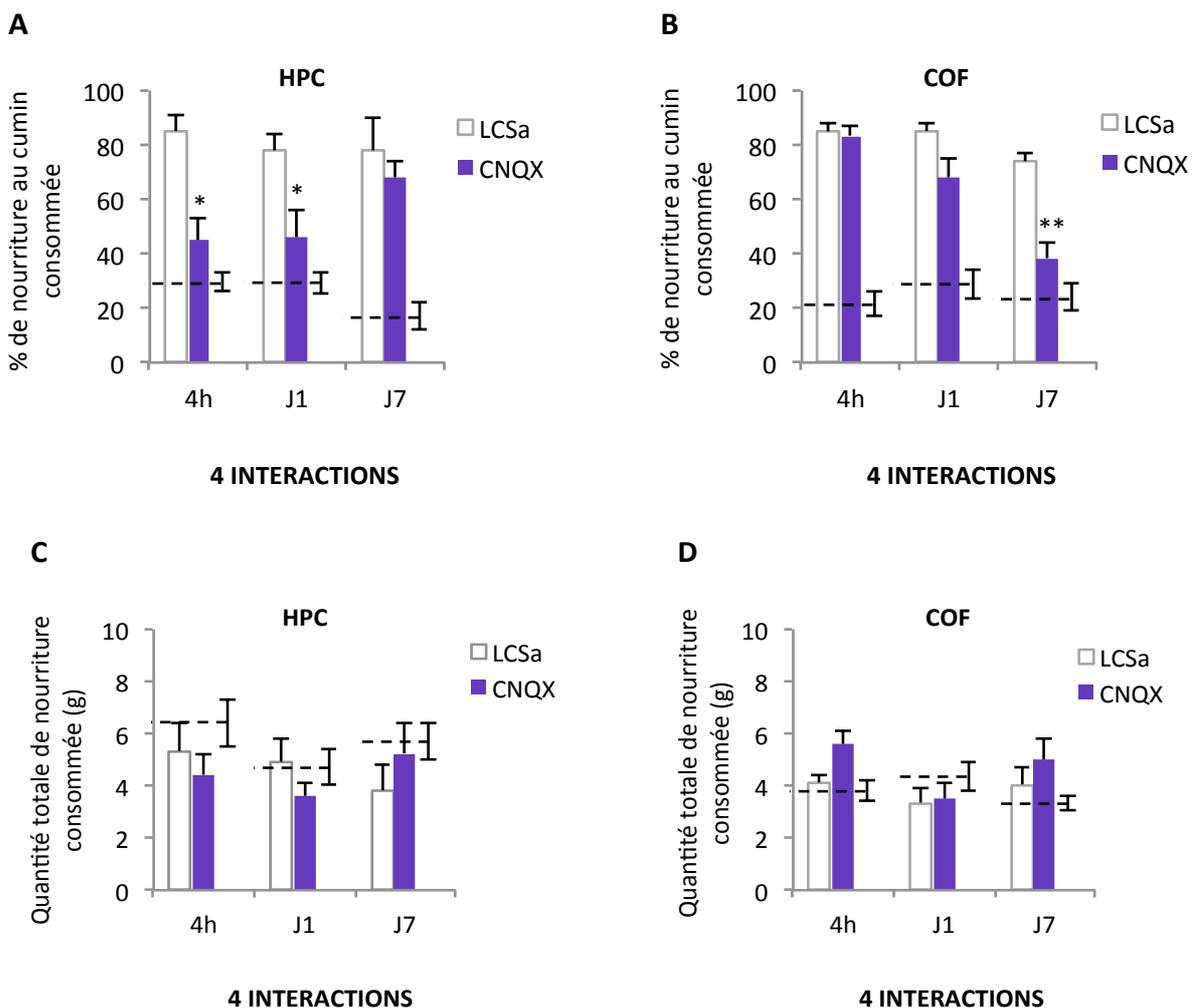


Figure V.13 : Cinétique du désengagement hippocampique et de la prise en charge corticale de la trace mnésique après 4 interactions sociales. Les performances mnésiques des groupes expérimentaux (EXP) ont été évaluées 4h, 1 ou 7 jours, après 4 interactions sociales consécutives et suite à l'inactivation de l'HPC ou du COF 1h avant le rappel. (A,B) Performances mnésiques exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée. (C,D) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence. L'analyse comparative des performances de chaque groupe témoin PAI n'ayant révélé aucune différence entre les groupes, nous avons donc regroupé ces animaux en un seul groupe témoin par délai. La moyenne des performances des groupes témoins PAI a servi de niveau de hasard expérimental, représenté par les lignes en pointillé. Cette moyenne reflète la préférence naturelle des animaux pour la nourriture au thym lors du test de rappel. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ versus LCSa.

Inactivations de l'HPC :

Malgré l'absence d'effet de l'interaction traitement x délai ($F_{(2, 41)} = 1,643$, $p > 0,05$) une ANOVA à deux facteurs (traitement x délai) révèle un effet du traitement ($F_{(1, 41)} = 15,22$, $p < 0,001$) et du délai ($F_{(2, 41)} = 6,9219$, $p < 0,05$). L'inactivation de l'HPC dorsal au moment du test de préférence 4h ou 1 jour après les interactions multiples, affecte le rappel de la mémoire olfactive associative ($p < 0,05$ vs LCSa). Contrairement aux résultats obtenus avec une seule interaction (cf Figure V.12), son inactivation reste sans effet délétère sur le rappel mnésique, 7 jours après la dernière interaction ($p > 0,05$ vs LCSa). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x délai : $F_{(2, 41)} = 1,236$, $p > 0,05$) révélant que le niveau de motivation des rats était le même au moment du test de préférence.

Inactivations du COF:

Une ANOVA à deux facteurs (traitement x délai) révèle un effet du traitement ($F_{(1, 38)} = 14,96$, $p < 0,001$), du délai ($F_{(2, 38)} = 12,68$, $p < 0,0001$) et de l'interaction traitement x délai ($F_{(2, 38)} = 4,237$, $p < 0,05$). Les effets de l'inactivation transitoire du COF au moment du test de préférence aux trois différents délais, sont strictement opposés à ceux obtenus suite aux inactivations hippocampiques. En effet, l'inactivation du COF au moment du test de préférence 4h ou 1 jour après les interactions multiples, n'affecte pas le rappel de la mémoire olfactive associative ($p > 0,05$ vs LCSa). En revanche, contrairement aux résultats obtenus avec une seule interaction (cf Figure V.12), son inactivation 7 jours après la dernière interaction est délétère au rappel mnésique ($p < 0,01$ vs LCSa). La quantité totale de nourriture consommée est la même entre les groupes (ANOVA : interaction traitement x région : $F_{(2, 38)} = 0,4553$, $p > 0,05$) révélant que les résultats obtenus ne sont pas attribuables à des différences dans le niveau de motivation des rats au moment du test de préférence.

3. Conclusion

Nos résultats indiquent que les interactions multiples conduisent à un désengagement hippocampique rapide couplé à un recrutement cortical précoce, révélant ainsi une accélération de la cinétique de consolidation systémique en comparaison de la cinétique du dialogue hippocampo-cortical observé suite à une interaction unique. Ces résultats appuient ainsi l'idée que la cinétique du dialogue hippocampo-cortical n'est pas rigide mais peut être modulée, notamment par la force de l'apprentissage initial.

Cette accélération de la vitesse de corticalisation est corrélée à une accélération de l'augmentation du ratio GluN2A/GluN2B au sein du COF, renforçant l'hypothèse selon laquelle les changements de ratio GluN2A/GluN2B contrôleraient la stabilisation progressive des traces mnésiques au sein des réseaux corticaux. Cependant, aucun lien de causalité entre l'augmentation rapide du ratio GluN2A/GluN2B dans le COF et l'accélération de la vitesse de corticalisation de l'information n'a été établi avec certitude.

Pour ce faire, des expériences complémentaires sont en cours. Celles-ci consistent à mimer artificiellement l'effet des interactions multiples en injectant dans le COF, un peptide biomimétique, mimant les 15 derniers acides aminés du domaine C-terminal de la sous-unité GluN2B. Ce peptide agit en perturbant l'interaction GluN2B-RNMDA avec le domaine PDZ des protéines MAGUKs composant la DPS. Ainsi, en réduisant l'ancrage de ces récepteurs dans la membrane post-synaptique, le peptide favorise la déstabilisation de ces récepteurs, leur diffusion latérale et enfin leur endocytose (Bard et al., 2010 ; Gardoni et al., 2006). Cet outil permet ainsi de manipuler artificiellement le ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes post-synaptiques. L'efficacité du peptide à réduire de façon sélective l'expression synaptique des sous-unités GluN2B dans le COF a d'ores et déjà été établie, il nous faut maintenant évaluer les conséquences de la manipulation du ratio GluN2A/GluN2B sur la cinétique des interactions hippocampo-corticales. Sur la base des résultats obtenus précédemment, nous postulons que l'augmentation artificielle du ratio GluN2A/GluN2B avec ce peptide devrait conduire à un désengagement plus rapide de l'HPC associé à un recrutement précoce du COF, reflétant une stabilisation accélérée de la trace mnésique.

III. DISCUSSION

Bien que nos expériences nécessitent d'être complétées, les résultats principaux obtenus dans ce chapitre tendent à renforcer les observations faites précédemment suggérant que la redistribution des GluN2B-RNMDA corticaux vers l'extérieur du compartiment synaptique contrôle la stabilisation des traces mnésiques au sein des réseaux neuronaux corticaux. Sur la base de ce premier constat, nous avons émis la possibilité qu'accélérer la réduction de l'expression synaptique des GluN2B-RNMDA corticaux devrait accélérer la cinétique de corticalisation de la mémoire. Dans ce sens, nous montrons qu'augmenter la force de l'apprentissage en soumettant les rats à plusieurs sessions d'interactions accélère la redistribution des sous-unités GluN2B dans le COF, et induit un désengagement rapide de l'HPC couplé à un recrutement précoce des réseaux neuronaux corticaux,

appuyé par un recrutement fonctionnel précoce des GluN2A-RNMDA corticaux, reflétant une stabilisation plus rapide de la trace mnésique dans le COF.

A. La force de l'apprentissage influence la cinétique du dialogue hippocampo-cortical

L'idée défendue par certains modèles computationnels et appuyée par plusieurs observations expérimentales est que le remaniement synaptique cortical serait nécessaire à la stabilisation de la mémoire à long terme. Ainsi, le processus de consolidation systémique reflèterait la maturation du réseau néocortical, lente et progressive, permettant d'augmenter la complexité, la distribution et la connectivité entre de multiples régions corticales. Par ailleurs, le remaniement ou la formation de nouvelles connexions pourraient également refléter l'incorporation de nouvelles informations aux souvenirs préexistants (McClelland et al., 1995). Ainsi, il est possible d'envisager que certaines interventions participant à accélérer la maturation du réseau cortical pourraient faciliter voire écourter la stabilisation des traces mnésiques dans ce réseau. Augmenter la force de l'apprentissage constituerait un facteur modulateur de la cinétique du dialogue hippocampo-cortical.

Au-delà de ce travail de thèse, quelques études vont dans le sens de cette hypothèse. Dans la tâche de TSPA, les données obtenus par Ross et al., (2005), indiquent que la lésion sélective des afférences cholinergiques du COF (injection de 192-IgG-saporin) avant l'acquisition produit un déficit de rappel 2 jours après l'interaction. Pourquoi ces auteurs ont-ils observé un déficit si précocement, alors que dans nos conditions, nous n'observons pas d'effet de l'inactivation du COF sur les performances mnésiques une semaine après l'interaction ? Dans leur procédure expérimentale, la phase d'acquisition est composée de 3 sessions d'interaction, espacées chacune d'une heure. La répétition de la procédure d'interaction a pu avoir pour conséquence de réactiver successivement le réseau hippocampo-cortical activé au moment de l'encodage initial. Ainsi, on peut supposer que la répétition des interactions ait pu initier le dialogue hippocampo-cortical plus précocement, et de ce fait induire le recrutement précoce du COF associé à un désengagement hippocampique également plus rapide. Notons, également, que dans une étude d'imagerie cellulaire, en utilisant le même protocole de répétition de l'interaction initiale, les mêmes auteurs ont observé un recrutement précoce du COF (dès 48h) pour le rappel de la mémoire associative induite par la TSPA (Ross & Eichenbaum, 2006). A l'appui de nos propres résultats, l'équipe de Sutherland a également montré, dans une tâche de conditionnement de peur associée au contexte, que la répétition des épisodes de conditionnement a le même effet sur le niveau des performances comportementales des animaux

qu'un seul épisode d'apprentissage. Cependant, la répétition des sessions d'apprentissage comparée à une session unique d'apprentissage, induit un désengagement de l'HPC plus rapide (Lehmann et al., 2009).

Notre étude, en complément de ces études antérieures, démontre que la cinétique du dialogue hippocampo-cortical peut être flexible et suggère par ailleurs que celle-ci peut être accélérée, même en l'absence d'un schéma cortical pré-établi.

B. La dynamique des récepteurs NMDA corticaux contrôle-t-elle la cinétique du dialogue hippocampo-cortical ?

Le fait que l'accélération de la cinétique de corticalisation de l'information puisse être due à une redistribution plus rapide des GluN2B-RNMDA vers l'extérieur de la synapse reste actuellement une question ouverte. Il est vraisemblable d'envisager que renforcer l'apprentissage en augmentant le nombre d'interactions sociales permet d'induire une réactivation précoce des réseaux neuronaux corticaux. En conséquence, l'augmentation de l'activité au sein de ces réseaux pourrait favoriser leur maturation, médiée entre autres par une élévation rapide du ratio GluN2A/GluN2B dans les membranes du COF. Ainsi, au vu de nos résultats précédents, il est vraisemblable de penser que la redistribution des GluN2B-RNMDA observée suite aux interactions multiples est aussi fonctionnellement importante que celle observée suite à une interaction unique. La confirmation de cette hypothèse apporterait une preuve solide que la dynamique de surface des GluN2B-RNMDA au sein des réseaux corticaux est un mécanisme cellulaire crucial sous-tendant la stabilisation de la mémoire dans ces réseaux. Ces résultats renforceraient de plus l'idée contemporaine selon laquelle la consolidation systémique et synaptique sont intimement liées et s'opèrent en parallèle au cours de l'établissement d'une mémoire corticale stabilisée.



Selon les théories actuelles de la consolidation mnésique, la formation de la mémoire à long terme s'accompagne d'une réorganisation progressive des structures cérébrales sous-tendant le stockage et le rappel de l'information (Frankland et Bontempi, 2005). Bien que la théorie standard de la consolidation (Squire & Alvarez, 1995) et la théorie des traces multiples (Nadel & Moscovitch, 1998) émettent des prédictions différentes quant à l'implication de l'HPC lors du rappel des informations de nature épisodique et sémantique, ces deux modèles s'accordent toutefois sur le fait qu'initialement encodés dans un réseau hippocampo-cortical, les nouveaux souvenirs déclaratifs deviennent progressivement de plus en plus dépendants d'un réseau distribué de neurones corticaux au fur et à mesure qu'ils mûrissent et se stabilisent au cours du temps. Alors que nous avons une bonne compréhension des processus sous-tendant la formation des nouveaux souvenirs au sein des circuits hippocampiques, peu de choses est connu quant aux mécanismes cellulaires et moléculaires grâce auxquels ces souvenirs sont stabilisés et stockés à long terme au niveau cortical.

Dans ce travail de thèse, à l'aide d'une approche intégrative alliant techniques comportementales, d'analyses biochimiques du tissu cérébral, d'injections intracérébrales d'agents pharmacologiques et d'outils moléculaires innovants chez le rat, nous avons cherché à élucider certains des mécanismes responsables de la consolidation systémique et de l'oubli des souvenirs anciens. Cette étude a notamment été initiée par le postulat qu'un stockage mnésique efficace au niveau cortical reposerait sur un équilibre régulé entre plasticité et stabilité des connexions synaptiques impliquées dans le stockage à long-terme des souvenirs. En effet, le réseau de neurones impliqué doit être suffisamment plastique pour permettre l'encodage d'un nouveau souvenir mais suffisamment stable pour permettre son maintien à long terme et limiter les risques d'interférence et d'oubli lors de l'encodage de futurs souvenirs.

A l'échelle synaptique, parmi le nombre très important d'acteurs moléculaires pouvant être impliqués dans la régulation de cette balance, nous nous sommes focalisés sur les récepteurs NMDA. Ces récepteurs sont largement connus pour jouer un rôle essentiel dans l'induction de différentes formes de plasticité des synapses glutamatergiques sous-tendant les processus mnésiques de types associatifs. En effet, le flux de Ca^{2+} dans le cytoplasme des neurones via l'activation des récepteurs NMDA est considéré comme l'un des mécanismes essentiels d'initiation des processus de plasticité synaptique sous-tendant les processus mnésiques chez les mammifères (Ghosh and Greenberg, 1995 ; Magee and Johnston, 1997 ; Malenka and Bear, 2004). Ainsi, il est envisageable de considérer que des modifications de cette source de Ca^{2+} , par exemple via la modulation de l'expression synaptique des différentes sous-unités GluN2, puissent moduler la capacité des synapses à subir des modifications plastiques.

Sur la base de leurs propriétés biophysiques respectives, nous avons donc fait l'hypothèse que la dynamique de surface des deux sous-unités GluN2 principalement exprimées dans le néocortex adulte, c'est-à-dire GluN2A et GluN2B, pourraient jouer un rôle central dans l'intégration et la stabilisation de la mémoire à long terme au sein des réseaux corticaux durant le processus de consolidation mnésique à l'échelle systémique.

I. Synthèse des résultats principaux

A. Le choix de la tâche de TSPA pour l'étude de la consolidation mnésique chez le rat

Afin de tester notre hypothèse, nous avons utilisé une tâche de transmission sociale de préférence alimentaire chez le rat adulte. L'utilisation de ce paradigme nous a permis de nous intéresser de façon fine à l'implication des récepteurs NMDA corticaux durant la consolidation à long terme d'une mémoire associative, non spatiale, et initialement hippocampo-dépendante. La tâche de TSPA offre de nombreux avantages parmi lesquelles l'induction d'une mémoire associative robuste et durable. De plus, la caractérisation de la dynamique sociale des rats durant l'apprentissage (Chapitre I) nous a permis de choisir une configuration initiale permettant d'étudier certains mécanismes responsables du phénomène d'oubli des informations précédemment consolidées. Par ailleurs, le caractère non spatial de la tâche permet d'examiner la contribution de l'HPC au cours du processus de consolidation systémique en s'affranchissant de sa fonction dans la navigation spatiale. L'autre intérêt majeur de cette tâche réside dans la possibilité d'isoler, grâce à une phase d'acquisition ponctuelle et courte, les processus propres à la consolidation tout en évitant un recouvrement temporel avec les processus relatifs à l'apprentissage et à la maîtrise de la tâche.

B. Schéma de synthèse : la redistribution des GluN2B-RNMDA corticaux vers l'extérieur ou l'intérieur de l'espace synaptique contrôle la stabilisation et l'oubli de la mémoire à long terme au cours du temps

Sur la base des résultats présentés et discutés dans chacun des chapitres précédents, nous avons développé un modèle hypothétique (Figure 1) permettant de décrire la dynamique d'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours du processus de consolidation mnésique. Ce modèle intègre trois échelles distinctes : systémique, neuronale et synaptique. La description qui suit

le schéma est présentée dans la chronologie des événements s'opérant durant les processus de consolidation mnésique et d'oubli en englobant pour chacun d'eux les trois échelles d'analyse susnommées.

Avant de présenter notre modèle il est nécessaire de rappeler que notre hypothèse initiale se base sur deux propriétés essentielles des récepteurs NMDA : 1) leur capacité associative, conditionnée par l'ouverture voltage-dépendante de leur canal cationique (équivalente entre les GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA) et par la durée de cette ouverture (plus longue pour les GluN2B-RNMDA) ; 2) leur capacité à moduler les seuils d'induction de la plasticité synaptique, dépendantes de l'influx calcique dans le neurone post-synaptique (plus important au travers des GluN2B-RNMDA) et de leur partenaires intracellulaires (les GluN2B-RNMDA interagissant préférentiellement avec la CaMKII, une kinase nécessaire et suffisante à l'induction de plusieurs formes de plasticité synaptique). Ainsi, les travaux antérieurs réalisés principalement *in vitro* ou *ex vivo* ont permis de développer l'idée que les GluN2A-RNMDA augmenteraient d'une part, la sélectivité des stimuli à associer en réduisant la fenêtre temporelle durant laquelle la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique peut être effectuée et d'autre part, réduiraient la sensibilité des synapses à subir des processus de plasticité synaptique. A l'inverse, les GluN2B-RNMDA, diminueraient la sélectivité des stimuli à associer et augmenteraient la sensibilité des synapses en favorisant l'induction de la plasticité synaptique, notamment grâce à son interaction privilégiée avec la CaMKII. Pour résumer, en comparaison des GluN2A-RNMDA, les GluN2B-RNMDA faciliteraient l'induction de mécanismes de plasticité synaptique en réponse à des stimuli de plus faible intensité et/ou plus distants dans le temps.

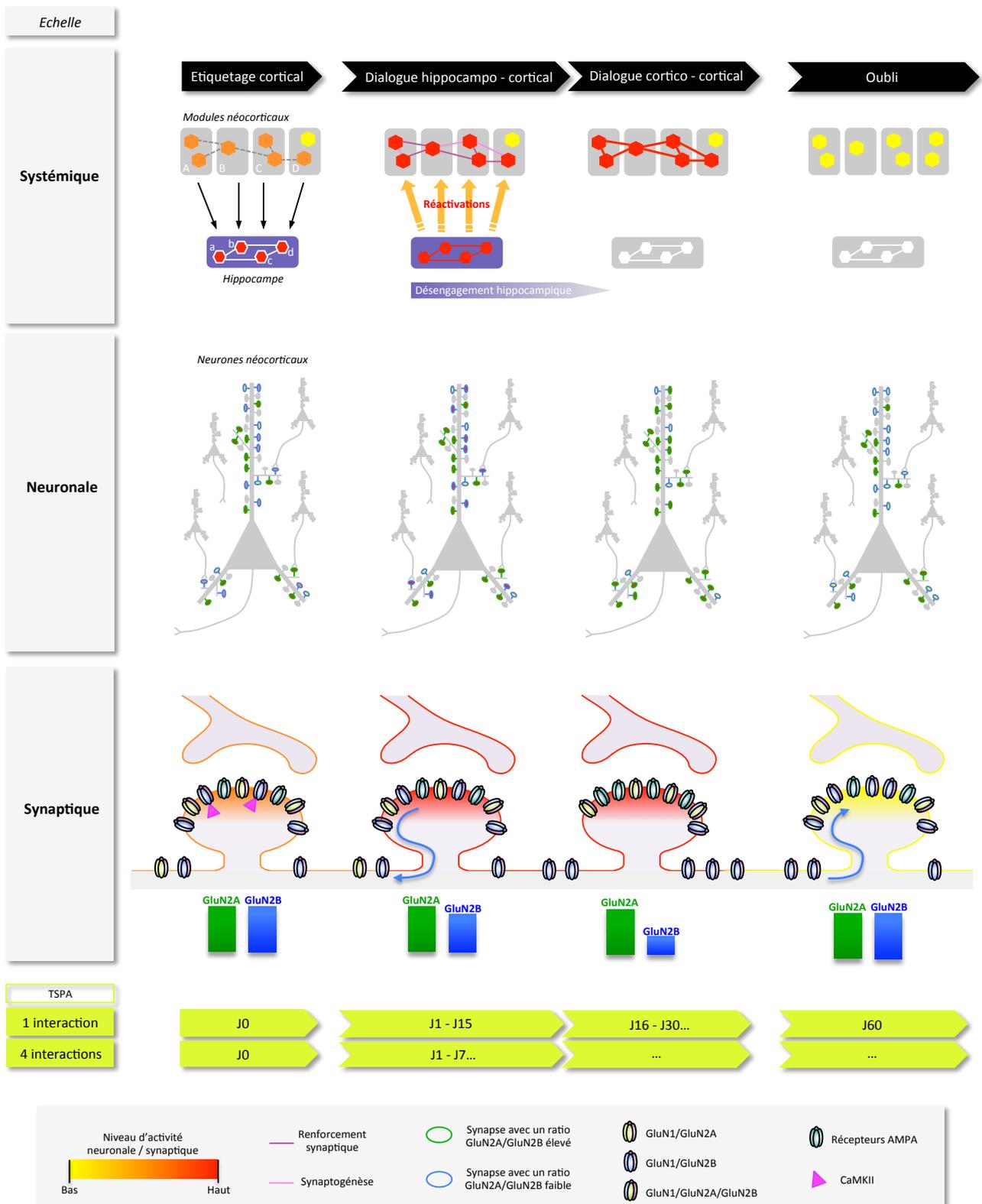


Figure 1 : Schémas illustrant l'implication fonctionnelle différentielle des sous-unités GluN2A et GluN2B corticales au cours des processus de consolidation mnésique et d'oubli. Ce modèle est décrit à trois échelles différentes : systémique, neuronale et synaptique. En vert clair est présenté le déroulé temporel (nombre de jours post-acquisition) de la consolidation des informations acquises dans la tâche de TSPA. Les intervalles de temps attribués à chaque étape du processus de consolidation restent approximatifs.

1. L'étiquetage cortical

An sein des synapses peu actives ou inactives, l'apprentissage induit un processus de plasticité par activation des récepteurs NMDA, principalement ceux contenant les sous-unités GluN2B qui sont plus fortement exprimés dans ces synapses peu actives et favorisant par leur propriété singulière l'encodage de nouvelles informations associative au niveau synaptique. L'entrée massive de Ca^{2+} dans le neurone post-synaptique initie une cascade d'événements intracellulaires conduisant à l'induction de changements synaptiques participant au processus d'étiquetage cortical. Parmi ces modifications, notre étude a fortement suggéré la nécessité d'une interaction entre les sous-unités GluN2B et la CaMKII permettant probablement de « marquer » les synapses recrutées au moment de l'acquisition jusqu'à l'initiation du dialogue hippocampo-cortical durant lequel ces synapses seront réactivées.

Via ce processus, les différentes composantes de l'information seraient encodées au sein de divers sites néocorticaux, participant à la formation d'assemblées neuronales corticales organisées en un réseau disparate. Les patrons d'activation de ces assemblées corticales seraient rapidement indexés au sein de l'HPC qui, grâce à des modifications synaptiques rapides et à sa forte capacité associative, va encoder les adresses de ces diverses assemblées sous la forme d'un index hippocampique et être capable de les relier de façon à permettre une représentation cohérente et unifiée de l'évènement en cours de traitement, le temps que le réseau cortical soit suffisamment mature pour assurer le stockage et éventuellement le rappel de l'information originale sans la contribution de l'HPC.

2. Dialogue hippocampo-cortical

Dans les premiers jours qui suivent l'acquisition, la réactivation répétée de l'index hippocampique (au cours de phases de veille active ou de sommeil) va entraîner la réactivation du réseau étendu de neurones néocorticaux préalablement étiquetés dès l'acquisition. Selon le modèle SRR, appuyé par nos résultats expérimentaux, la récurrence de ces réactivations au niveau cortical, via le recrutement des récepteurs NMDA entraînerait la création et/ou le renforcement des changements synaptiques initiés par le processus d'étiquetage, contribuant à améliorer la connectivité cortico-corticale (Wittenberg and Tsien, 2002).

A l'échelle synaptique, l'activation des GluN2B-RNMDA au début du dialogue hippocampo-cortical serait un médiateur essentiel à la réorganisation de l'architecture des réseaux corticaux préalablement étiquetés. Celle-ci pourrait se traduire par la potentialisation des connexions

synaptiques existantes via une augmentation de la translocation synaptique des récepteurs AMPA accompagnée d'un élargissement des épines dendritiques (non illustré) et par une augmentation de la densité des épines synaptiques reflétant un processus de synaptogénèse.

Puis, au cours de ces interactions hippocampo-corticales récurrentes, la forte activité synaptique au sein des réseaux corticaux favoriserait la diffusion latérale progressive des GluN2B-RNMDA vers l'extérieur de la synapse avant que ceux-ci soient vraisemblablement endocytés et recyclés. Ce processus de maturation synaptique pourrait également s'accompagner de l'exocytose de nouveaux récepteurs GluN2A-RNMDA, bien que ce phénomène n'ait pas été détecté dans notre étude. L'augmentation du ratio post-synaptique GluN2A/GluN2B découlant de la réduction d'expression des GluN2B-RNMDA rendrait plus difficile la mise en place de changements synaptiques fonctionnels et structuraux permettant ainsi la stabilisation de la trace mnésique au niveau cortical. La réduction d'expression des sous-unités GluN2B au sein des réseaux de neurones corticaux impliqués dans le stockage des souvenirs précédemment consolidés permettrait ainsi de limiter les risques d'interférence et d'oubli en évitant aux synapses composant ces réseaux d'être déstabilisées durant l'encodage de nouvelles informations.

En effet, au cours du dialogue hippocampo-cortical, l'élévation du ratio GluN2A/GluN2B augmenterait les seuils d'induction de plusieurs formes de plasticité hebbienne, ce qui impliquerait la nécessité de stimuli plus forts ou plus corrélés temporellement pour permettre des changements synaptiques supplémentaires, en raison notamment de la cinétique d'inactivation rapide des récepteurs GluN2A-RNMDA. Ainsi, augmenter le niveau relatif d'expression des sous-unités GluN2A suite à un premier apprentissage réduirait la probabilité que de futures stimulations puissent atteindre le seuil d'induction de la PLT (pour choisir un exemple de plasticité hebbienne) et réduirait ainsi la probabilité que ces synapses soient recrutées à nouveau pour l'encodage d'une nouvelle information. Ces nouvelles expériences recruteront plutôt un nouveau réseau de neurones dont les synapses sont enrichies en sous-unités GluN2B avec ainsi une forte sensibilité pour l'induction de la plasticité et donc l'encodage de nouvelles informations au niveau synaptique. Enfin, des synapses seulement faiblement activées au cours de l'apprentissage et donc exprimant un faible ratio GluN2A/GluN2B, pourraient laisser l'information vulnérable aux interférences par la réactivation des récepteurs GluN2B-RNMDA. De cette façon, un faible ratio GluN2A/GluN2B pourrait permettre de maintenir les capacités de stockage dans un réseau en favorisant l'élimination de souvenirs faiblement encodés ou peu pertinents grâce à un processus d'oubli induit par l'encodage de nouvelles expériences.

3. Dialogue cortico-cortical

Parallèlement au recrutement des structures corticales, l'HPC se désengagerait progressivement pour laisser place à un processus de maturation des réseaux corticaux dépendant de l'activation des récepteurs NMDA et reposant uniquement sur un dialogue cortico-cortical pouvant impliquer entre-autre le CPFm (Frankland and Bontempi, 2005). Celui-ci pourrait servir de « régénérateur » aux cascades moléculaires associées à l'apprentissage survenant dans les assemblées neuronales engagées dans le stockage mnésique, de la même manière que le faisait l'HPC avant lui. Ainsi, l'activité neuronale « injectée » temporairement par le CPFm au sein des réseaux corticaux supportant le stockage de la trace mnésique permettrait le maintien d'un ratio GluN2A/GluN2B élevé et donc la stabilité de la mémoire ancienne. Ceci est totalement hypothétique en raison du fait que l'implication fonctionnelle du CPFm au cours du processus de consolidation mnésique n'a pas été examinée dans cette étude.

4. L'oubli

Dans une situation où la mémoire n'est pas rappelée et donc la trace mnésique non-réactivée, la réduction de l'activité synaptique au sein des réseaux corticaux favoriserait à nouveau l'expression synaptique des récepteurs GluN2B-RNMDA, plaçant les synapses dans un état plastique et donc favorable à leur déstabilisation, par exemple lors d'un second apprentissage.

5. Augmentation de la force de l'apprentissage

Enfin, augmenter précocement le niveau d'activité au sein des réseaux corticaux en renforçant l'apprentissage initial par des interactions multiples pourrait accélérer la redistribution des GluN2B-RNMDA dans ces réseaux et la stabilisation des traces mnésiques au niveau cortical. Bien que nous ayons révélé que les interactions multiples conduisent à une corticalisation rapide des traces mnésiques, le lien de cause à effet avec l'accélération de la réduction d'expression synaptique des sous-unités GluN2B reste à démontrer.

6. Conclusion

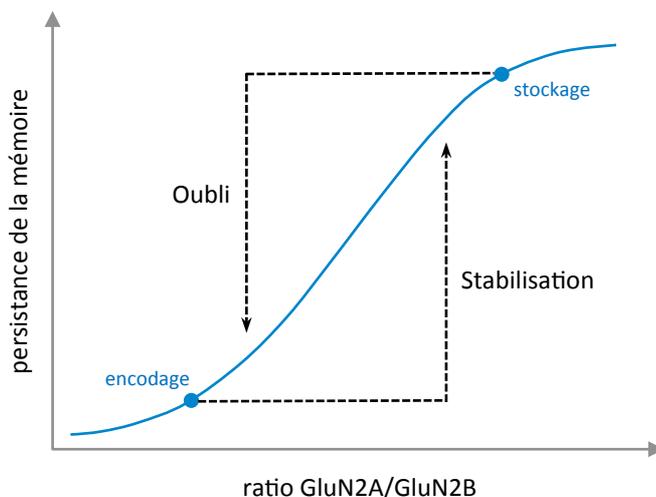


Figure 2 : Résumé graphique de l'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours de la consolidation mnésique et du processus d'oubli

Notre modèle peut être résumé par la Figure 2. La consolidation des traces mnésiques au niveau cortical nécessite dans un premier temps l'activation des GluN2B-RNMDA synaptiques et leur interaction avec la CaMKII afin de permettre l'encodage des nouvelles informations au niveau synaptique. Une fois initiée par le processus d'étiquetage et le remodelage des réseaux corticaux, la consolidation à l'échelle systémique s'accompagne d'une redistribution des GluN2B-RNMDA synaptiques vers le compartiment extra-synaptique, un processus nécessaire à la stabilisation et au stockage des traces mnésiques au niveau cortical.

Dès lors, la modulation du ratio GluN2A/GluN2B au niveau cortical aurait des conséquences distinctes et opposées sur le devenir des souvenirs nouveaux et anciens. Un faible ratio GluN2A/GluN2B serait favorable à l'encodage de nouveaux souvenirs au niveau synaptique mais serait délétère à la stabilité des souvenirs anciens précédemment consolidés. A l'inverse, un fort ratio GluN2A/GluN2B serait délétère à l'encodage de nouveaux souvenirs mais favorable à la persistance des souvenirs anciens.

II. Réflexions sur l'implication fonctionnelle des récepteurs NMDA corticaux au cours de la consolidation systémique

A. Extension de l'implication fonctionnelle des GluN2B-RNMDA corticaux au processus de reconsolidation

Le stockage de la mémoire est souvent considéré comme un processus rigide, statique voire permanent. Cependant il est difficile d'imaginer comment un système conçu pour maintenir la mémoire en une forme statique pourrait permettre des modifications ou une actualisation de celle-ci afin de s'adapter aux changements de son environnement. Ainsi les souvenirs ne seraient pas stockés sous une forme figée mais pourraient retourner à un état labile après réactivation (pour revue Hardt and Nader, 2009). En effet, une amnésie sévère peut être induite longtemps après une acquisition si un agent amnésiant, comme un inhibiteur de synthèse protéique, est administré peu de temps après la présentation d'un indice de rappel présent au moment de l'apprentissage initial. En revanche, cet agent amnésiant n'a aucun effet si la mémoire n'a pas été au préalable réactivée (Nader et al., 2000 ; Nader, 2003 ; Dudai and Eisenberg, 2004). Par ailleurs la mémoire peut aussi être améliorée durant son rappel (Debiec et al., 2011 ; Lee et al., 2006 ; Tian et al., 2011) ou même modifiée par l'incorporation de nouvelles informations (Choi et al., 2010 ; Lee, 2010). Ainsi, dans le cadre de mémoires hippocampo-dépendantes, une information consolidée au niveau cortical pourrait redevenir dépendante de l'HPC et subir à nouveau un processus de stabilisation à long terme correspondant au phénomène de reconsolidation mnésique. Ainsi, de nombreuses études démontrent que la mémoire est malléable non seulement à l'échelle de son expression comportementale (Hubbach et al., 2007) mais aussi au niveau cellulaire et moléculaire (Doyère et al., 2007 ; Lee et al., 2011). A l'échelle moléculaire, les mécanismes sous-tendant les processus de consolidation et de reconsolidation semblent être en partie différents, ainsi que leur cinétique respective et les structures cérébrales impliquées (Alberini, 2005 ; Alberini et al., 2006 ; Alberini, 2008, 2011).

Bien que certains souvenirs aient la possibilité d'être reconsolidés suite à leur réactivation, ce processus de reconsolidation n'est pas systématique. Il existe de nombreuses conditions, telles que la force de l'apprentissage, l'âge des souvenirs, ou le contexte de leur réactivation, limitant la capacité des souvenirs anciens à être reconsolidés, les protégeant ainsi de toute déstabilisation durant le processus de rappel (pour revue Finnie and Nader, 2012).

En accord avec nos résultats expérimentaux, il a notamment été suggéré que certaines procédures d'apprentissage initient des mécanismes métaplastiques empêchant l'induction du processus de reconsolidation lors du test de rappel qui en est normalement l'initiateur. En effet, Wang et al. (2009) démontrent que la réactivation d'une mémoire de peur conditionnée au son deux jours après un conditionnement de forte intensité n'induit pas sa reconsolidation. Cet état pendant lequel la mémoire ne peut être reconsolidée est caractérisé par une réduction de l'expression des GluN2B-RNMDA dans l'amygdale baso-latérale. Ces récepteurs sont connus pour être nécessaires à la reconsolidation de ce type de mémoire (Ben Mamou et al., 2006). En effet, si la déstabilisation de la mémoire est bloquée par infusion d'un antagoniste des GluN2B-RNMDA (l'ifenprodil) dans l'amygdale basolatérale avant la réactivation de la mémoire, celui-ci bloque l'effet délétère sur la rétention mnésique d'un inhibiteur de la synthèse protéique (l'anisomycine) injecté juste après le rappel. Ainsi, les GluN2B-RNMDA seraient nécessaires pour initier la déstabilisation de la mémoire et permettre son retour dans un état labile, à nouveau dépendant d'une nouvelle synthèse protéique. Cependant, si les animaux subissent une lésion hippocampique avant l'apprentissage ou si la mémoire est réactivée 60 jours après celui-ci, le niveau d'expression des GluN2B-RNMDA est alors au niveau de celui des rats non-conditionnés et la reconsolidation de cette mémoire peut être alors induite normalement. Ainsi, la réduction d'expression des GluN2B-RNMDA induit par l'apprentissage serait à l'origine d'un mécanisme métaplastique empêchant la mémoire de rentrer dans un état labile nécessaire à sa reconsolidation. Dès lors le niveau d'expression des GluN2B-RNMDA pourrait être considéré comme un indicateur moléculaire de la capacité des souvenirs à être reconsolidés.

Ainsi, comme mentionné précédemment, favoriser l'activation des récepteurs NMDA et en particulier des GluN2B-RNMDA, pourrait faciliter la déstabilisation des traces mnésiques consolidés, bien que ce processus semble dépendre de la nature de la mémoire comme de la région cérébrale impliquée. Par ailleurs, le processus de déstabilisation n'impliquerait pas uniquement les récepteurs NMDA, mais également des canaux calciques voltage-dépendants ou les récepteurs CB1 aux endocannabinoïdes et leurs voies de signalisation intracellulaires associées impliquant notamment l'activation de phosphatases et celle du protéasome après diverses tâches mnésiques (pour revue Finnie and Nader, 2012).

B. Quid de la mémoire humaine ?

Le statisticien George Box a déclaré un jour « *Tous les modèles sont faux, certains sont utiles* » (*Journal of the American Statistical Association*, 1976). Il est très probable que cette citation soit applicable à notre modèle. Bien que les résultats rapportés dans ce travail de thèse contribuent à

améliorer nos connaissances sur les mécanismes cellulaires sous-tendant la formation de la mémoire à long terme, ils apparaissent cependant incompatibles avec certaines propriétés de la mémoire humaine. Entre-autres, notre modèle ne permet pas de comprendre comment nous sommes capables de stocker des souvenirs durant toute une vie sans oubli significatif.

En effet, une caractéristique inhérente à la mémoire humaine est sa permanence. Comme chacun a pu le constater, nous sommes capables de stocker et se rappeler d'une grande quantité d'informations tout au long de notre vie. Cette aptitude concerne aussi bien des souvenirs acquis durant l'enfance que des informations rarement, voire jamais, utilisées auparavant. Pour donner un exemple, je me suis moi-même livré à une petite expérience. J'ai retrouvé une photo de classe prise en 1997. A part moi, 21 personnes sont sur cette photo, dont la quasi-totalité que je n'ai pas revu en raison d'un déménagement familial la même année. De façon surprenante j'ai su retrouver facilement le prénom et le nom de 18 de mes anciens camarades dont je ne m'étais pas remémoré l'existence depuis presque 20 ans.

Ainsi, une question fondamentale de la neurobiologie de la mémoire est de comprendre comment le stockage de la mémoire humaine peut être aussi stable au cours des décennies au regard du turnover protéique s'opérant au sein des synapses, considérées comme les principaux supports du stockage mnésique. Depuis plus de trois décennies, l'hypothèse de la plasticité synaptique hebbienne et de ses mécanismes de régulation est en effet pratiquement la seule hypothèse reconnue comme un mécanisme cellulaire crédible sous-tendant la consolidation mnésique et le stockage à long terme des souvenirs déclaratifs dans le cerveau des mammifères.

Cependant, ce modèle apparaît incompatible avec les mécanismes de stockage de la mémoire humaine. En effet, des souvenirs se maintenant durant toute une vie devraient être « gravés dans la pierre ». Or la seule structure biologique capable d'assurer une telle stabilité est probablement la molécule d'ADN. Ainsi, bien que l'hypothèse de la plasticité synaptique est assurément un mécanisme contributif au stockage mnésique chez l'animal et chez l'Homme, une hypothèse complémentaire est que le stockage permanent de nos souvenirs au sein des neurones serait assuré par des modifications épigénétiques de l'ADN. Cette « hypothèse génomique » de la mémoire n'est pas récente, elle a d'abord été mentionnée par Davis et Squire (1984) ainsi que par Crick (1984). Ce dernier a notamment déclaré : « *La durée de la mémoire humaine est souvent une question d'années, parfois même de dizaines d'années. Cependant...presque toutes les molécules de notre corps, à l'exception de l'ADN, se recyclent en quelques jours, semaines, voire quelques mois....La mémoire pourrait être encodée par des modifications de certaines portions des chromosomes d'ADN* » Crick (1984). Une hypothèse aujourd'hui soumise à d'intenses investigations.

C. Dérégulations pathologiques du trafic des récepteurs NMDA et potentiels thérapeutiques

Plusieurs pathologies neuropsychiatriques impliquant des déficits d'apprentissage et de mémoire sont associés à une synaptopathie causée par le dysfonctionnement des récepteurs NMDA, incluant une altération de l'expression de leurs sous-unités, de leur trafic, de leur localisation ou de leur activité. Puisque le trafic de ces récepteurs constitue un mode de régulation de la plasticité synaptique sous-tendant les processus mnésiques, il pourrait constituer une cible thérapeutique potentielle afin de contrer certains déficits mnésiques accompagnant une large variété de maladies neuropsychiatriques. Le tableau ci-dessous (Figure 3) donne un aperçu des principales pathologies caractérisées par une altération de la fonction ou du trafic des récepteurs NMDA, et plus spécifiquement de ceux contenant les sous-unités GluN2A et GluN2B.

Pathologies	Principales altérations des récepteurs NMDA	Références
Douleur chronique	Surexpression des GluN2B-RNMDA ; Modification de l'état de phosphorylation	Nozaki et al., 2011 Wu and Zhuo, 2009 Matsumura et al, 2010
Alzheimer	Réduction de l'expression des GluN2B-RNMDA synaptiques ; Activation anormale des récepteurs NMDA extrasynaptiques	Snyder et al., 2005 Ronicke et al., 2010 Kessels et al., 2013
Huntington	Activation anormale des GluN2B-RNMDA extrasynaptiques	Gladding and Raymond, 2011 Heng et al., 2009 Milnerwood et al., 2010
Parkinson (dyskinésies)	Augmentation de l'expression synaptique des GluN2A-RNMDA ; Redistribution des GluN2B-RNMDA de l'espace synaptique vers l'espace extrasynaptique	Dunah et al., 2000 Gardoni et al., 2006
Dépression	Activation anormale des GluN2B-RNMDA synaptiques et extrasynaptiques	Li et al., 2010 Autry et al., 2011
Autisme	Mécanismes à éclaircir et n'impliquant pas nécessairement une sous-unité GluN spécifique	Won et al., 2012 Schmeisser et al., 2012
Schizophrénie	Réduction de l'activité et/ou de l'expression des GluN2A-RNMDA synaptiques, problème au niveau des neurones GABAergiques (inhibiteurs)	Gaspar et al., 2009
Encéphalite auto-immune	Blocage de la dynamique de surface des récepteurs NMDA ; Dispersion spécifique des sous-unités GluN2A depuis l'espace synaptique	Dalmau et al., 2008, 2011 Hughes et al., 2010 Mikasova et al., 2012
Ischémie (ou AVC)	Activation anormale des récepteurs NMDA extrasynaptiques	Hardingham and Bading, 2010
Alcool (éthanol)	Administration aiguë : réduction de l'expression des GluN2A-RNMDA synaptiques ; Traitement chronique : augmentation de la densité synaptique des récepteurs NMDA	Suvarna et al., 2005 Carpenter-Hyland et al., 2004
Cocaïne	Augmentation prolongée de l'expression des GluN2B-RNMDA suite à une prise chronique et durant l'état de manque	Borgland et al., 2006 Brown et al., 2011

Figure 3 : Tableau listant les principales altérations des GluN2A-RNMDA et GluN2B-RNMDA dans différentes pathologies neuropsychiatriques.

A titre d'exemple, il a été montré que les oligomères A β responsables du dysfonctionnement synaptique précoce dans la maladie d'Alzheimer, opèrent entre autres leurs effets délétères sur la plasticité synaptique via l'endocytose des GluN2B-RNMDA synaptique et l'activation des GluN2B-RNMDA extrasynaptiques par inhibition de la recapture du glutamate (Selkoe, 2002 ; Snyder et al., 2005 ; Malinow, 2012). Au regard de nos résultats, on peut ainsi imaginer que l'incapacité à former de nouveaux souvenirs dans les stades précoces de la maladie d'Alzheimer soit liée à un déficit d'étiquetage des réseaux corticaux en raison de la réduction d'expression des GluN2B-RNMDA. Ce déficit d'étiquetage conduisant à une perturbation du processus de consolidation mnésique.

Bien que les mécanismes spécifiques responsables d'un défaut de trafic des récepteurs NMDA dans différentes pathologies restent largement inconnus, un nombre croissant de résultats pointent un défaut d'interaction entre les sous-unités GluN2 et les protéines d'échafaudage composant la DPS. L'altération de l'interaction entre les protéines MAGUKs et les récepteurs NMDA pourrait modifier l'équilibre existant entre les récepteurs synaptiques et extra-synaptiques et conduire ainsi à un dysfonctionnement synaptique. Par exemple dans le cadre de la maladie de Parkinson, altérer artificiellement l'interaction des GluN2B-RNMDA avec les protéines de la DPS (par injection intra-striatale d'un peptide synthétique) est suffisant pour induire la redistribution des GluN2B-RNMDA du compartiment synaptique vers le compartiment extra-synaptique et induire l'apparition de dyskinésies chez les animaux traités à la L-DOPA (Gardoni et al., 2006). Par ailleurs, au-delà du rôle neuroprotecteur de certains antagonistes des récepteurs NMDA dans l'ischémie cérébrale pour réduire les atteintes excitotoxiques, bloquer l'interaction entre les sous-unités GluN2B et les voies de signalisation intracellulaires associées (dont son interaction avec la PSD-95) réduit les dommages neuronaux pendant l'ischémie et améliore la récupération chez le rongeur et le primate (Aarts et al., 2002 ; Cook et al., 2012). Réduire cette même interaction améliore également la mémoire et réduit la mort neuronale dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer (Ittner et al., 2010).

Pour finir, il a été récemment proposé que l'encéphalite auto-immune qui conduit chez l'Homme à des symptômes neuropsychiatriques graves serait liée à l'accumulation d'anticorps auto-immuns au sein du cerveau (Moscato et al, 2010; Vincent et al, 2010). La forme la plus fréquente d'encéphalite auto-immune est associée à des anticorps dirigés contre les épitopes extracellulaires des récepteurs NMDA. Il a été montré *in vitro* que les anticorps de ces patients bloquent la diffusion de surface des récepteurs NMDA au sein des neurones hippocampiques (Dupuis et al., 2014), ce qui pourrait expliquer l'apparition dans les stades précoces de la maladie de déficits de mémoire à court terme suivis par des symptômes psychiatriques (Dalmau et al, 2007, 2008 ; Chapman & Vause, 2011).

Le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant la dérégulation des différents récepteurs NMDA dans plusieurs pathologies neuropsychiatriques reste complexe en raison de leur contribution fonctionnelle différentielle au cours des différents processus synaptiques et cognitifs. Comme notre étude l'illustre, la fonction des différents sous-types de récepteurs NMDA peut être opposée par nature, aussi bien à l'échelle cellulaire que sur le plan cognitif, complexifiant ainsi la mise au point d'un traitement ciblé efficace.

La compréhension de l'implication fonctionnelle des différents récepteurs NMDA durant la consolidation mnésique pourrait ainsi participer à définir de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à contrer les effets délétères des pathologies neurologiques et psychiatriques sur la formation de la mémoire. Bien que ce travail de thèse apporte un éclairage nouveau sur les mécanismes cellulaires et moléculaires grâce auxquels le cerveau organise la formation et le stockage de la mémoire à long terme, de nombreux efforts seront nécessaires avant que l'action sur la dynamique des récepteurs NMDA se concrétise en une solution thérapeutique efficace. Enfin, notre travail s'est focalisé sur un seul acteur synaptique dont la contribution apparaît essentielle au contrôle de la consolidation mnésique. Il faut cependant garder à l'esprit que celui-ci interagit directement ou indirectement avec des dizaines d'autres acteurs moléculaires, participant tous ensemble à moduler la formation et le stockage de nos souvenirs.

BIBLIOGRAPHIE



©Rob & Nick Carter - Paint pigment photographs – www.robandnick.com

- Aarts M, Liu Y, Liu L, Besshoh S, Arundine M, Gurd JW, Wang YT, Salter MW, Tymianski M (2002) Treatment of ischemic brain damage by perturbing NMDA receptor- PSD-95 protein interactions. *Science* 298:846–850.
- Abel T, Nguyen PV, Barad M, Deuel TA, Kandel ER, Bourchouladze R (1997) Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell* 88:615–626.
- Abraham WC (2003) How long will long-term potentiation last? *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 358:735–744.
- Abraham WC (2008) Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nat Rev Neurosci* 9:387.
- Abraham WC, Bear MF (1996) Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19:126–130.
- Abraham WC, Logan B, Greenwood JM, Dragunow M (2002) Induction and experience-dependent consolidation of stable long-term potentiation lasting months in the hippocampus. *J Neurosci* 22:9626–9634.
- Abraham WC, Mason SE, Demmer J, Williams JM, Richardson CL, Tate WP, Lawlor PA, Dragunow M (1993) Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 56:717–727.
- Abraham WC, Otani S (1991) Macromolecules and the maintenance of long-term potentiation. In: *Kindling and Synaptic Plasticity: the Legacy of Graham Goddard* (Morrell F, ed), pp 92–109. Boston: Birkhauser.
- Abraham WC, Robins A (2005) Memory retention—the synaptic stability versus plasticity dilemma. *Trends Neurosci* 28:73–78.
- Abumaria N, Luo L, Ahn M, Liu G (2013) Magnesium supplement enhances spatial-context pattern separation and prevents fear overgeneralization. *Behav Pharmacol* 24:255–263.
- Abumaria N, Yin B, Zhang L, Li XY, Chen T, Descalzi G, Zhao L, Ahn M, Luo L, Ran C, Zhuo M, Liu G (2011) Effects of elevation of brain magnesium on fear conditioning, fear extinction, and synaptic plasticity in the infralimbic prefrontal cortex and lateral amygdala. *J Neurosci* 31:14871–14881.
- Akashi K, Kakizaki T, Kamiya H, Fukaya M, Yamasaki M, Abe M, Natsume R, Watanabe M, Sakimura K (2009) NMDA receptor GluN2B (GluR epsilon 2/NR2B) subunit is crucial for channel function, postsynaptic macromolecular organization, and actin cytoskeleton at hippocampal CA3 synapses. *J Neurosci* 29:10869–10882.
- Al-Hallaq RA, Conrads TP, Veenstra TD, Wenthold RJ (2007) NMDA di-heteromeric receptor populations and associated proteins in rat hippocampus. *J Neurosci* 27:8334–8343.
- Alberini CM (2005) Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 28:51–56.
- Alberini CM (2008) The role of protein synthesis during the labile phases of memory: revisiting the skepticism. *Neurobiol Learn Mem* 89:234–246.
- Alberini CM (2011) The role of reconsolidation and the dynamic process of long-term memory formation and storage. *Front Behav Neurosci* 5:12.
- Alberini CM, Kandel ER (2015) The regulation of transcription in memory consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a021741.
- Alberini CM, Milekic MH, Tronel S (2006) Mechanisms of memory stabilization and de-stabilization. *Cell Mol Life Sci* 63:999–1008.
- Alvarez P, Lipton PA, Melrose R, Eichenbaum H (2001) Differential effects of damage within the hippocampal region on memory for a natural, nonspatial Odor-Odor Association. *Learn Mem* 8:79–86.
- Alvarez P, Squire LR (1994) Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:7041–7045.
- Alvarez P, Zola-Morgan S, Squire LR (1994) The animal model of human amnesia: long-term memory impaired and short-term memory intact. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:5637–5641.
- Alvarez VA, Ridenour DA, Sabatini BL (2007) Distinct structural and ionotropic roles of NMDA receptors in controlling spine and synapse stability. *J Neurosci* 27:7365–7376.
- Amaral DG, Dolorfo C, Alvarez-Royo P (1991) Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1:415–435.
- Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31:571–591.
- Amit DJ, Fusi S (1994) Learning in neural networks with material synapses. *Neural Comput* 6:957–982.
- Anagnostaras SG, Maren S, Fanselow MS (1999) Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination. *J Neurosci* 19:1106–1114.
- Arancio O, Kiebler M, Lee CJ, Lev-Ram V, Tsien RY, Kandel ER, Hawkins RD (1996) Nitric oxide acts directly in the presynaptic neuron to produce long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Cell* 87:1025–1035.
- Arrigoni E, Greene RW (2004) Schaffer collateral and perforant path inputs activate different subtypes of NMDA receptors on the same CA1 pyramidal cell. *Br J Pharmacol* 142:317–322.
- Arshavsky YI (2006) The seven sins" of the Hebbian synapse: can the hypothesis of synaptic plasticity explain long-term memory consolidation? *Prog Neurobiol* 80:99–113.
- Aton SJ, Seibt J, Dumoulin M, Jha SK, Steinmetz N, Coleman T, Naidoo N, Frank MG (2009) Mechanisms of sleep-dependent consolidation of cortical plasticity. *Neuron* 61:454–466.
- Autry AE, Adachi M, Nosyreva E, Na ES, Los MF, Cheng PF, Kavalali ET, Monteggia LM (2011) NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses. *Nature* 475:91–95.
- Bach ME, Hawkins RD, Osman M, Kandel ER, Mayford M (1995) Impairment of spatial but not contextual memory in CaMKII mutant mice with a selective loss of hippocampal LTP in the range of the theta frequency. *Cell* 81:905–915.

- Baez MV, Oberholzer MV, Cercato MC, Snitcovsky M, Aguirre AI, Jerusalinsky DA (2013) NMDA receptor subunits in the adult rat hippocampus undergo similar changes after 5 minutes in an open field and after LTP induction. *PLoS ONE* 8:e55244.
- Bailey CH, Kandel ER, Harris KM (2015) Structural components of synaptic plasticity and memory consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 43:35-48.
- Banke TG, Dravid SM, Traynelis SF (2005) Protons trap NR1/NR2B NMDA receptors in a nonconducting state. *J Neurosci* 25:42–51.
- Bannerman DM, Good MA, Butcher SP, Ramsay M, Morris RG (1995) Distinct components of spatial learning revealed by prior training and NMDA receptor blockade. *Nature* 378:182–186.
- Bannerman DM, Niewoehner B, Lyon L, Romberg C, Schmitt WB, Taylor A, Sanderson DJ, Cottam J, Sprengel R, Seeburg PH, Köhr G, Rawlins JN (2008) NMDA receptor subunit NR2A is required for rapidly acquired spatial working memory but not incremental spatial reference memory. *J Neurosci* 28:3623–3630.
- Bard L, Groc L (2011) Glutamate receptor dynamics and protein interaction: lessons from the NMDA receptor. *Mol Cell Neurosci* 48:298–307.
- Bard L, Sainlos M, Bouchet D, Cousins S, Mikasova L, Breillat C, Stephenson FA, Imperiali B, Choquet D, Groc L (2010) Dynamic and specific interaction between synaptic NR2-NMDA receptor and PDZ proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:19561–19566.
- Barnes CA (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 93:74–104.
- Barnes CA, McNaughton BL (1985) An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behav Neurosci* 99:1040–1048.
- Barria A, Malinow R (2002) Subunit-specific NMDA receptor trafficking to synapses. *Neuron* 35:345–353.
- Barria A, Malinow R (2005) NMDA receptor subunit composition controls synaptic plasticity by regulating binding to CaMKII. *Neuron* 48:289–301.
- Barth AL, Malenka RC (2001) NMDAR EPSC kinetics do not regulate the critical period for LTP at thalamocortical synapses. *Nat Neurosci* 4:235–236.
- Bartlett F (1932) *Remembering, A study in experimental and social psychology* (Bartlett FC, ed). Cambridge (UK): Cambridge University Press.
- Bayer KU, De Koninck P, Leonard AS, Hell JW, Schulman H (2001) Interaction with the NMDA receptor locks CaMKII in an active conformation. *Nature* 411:801–805.
- Bayer KU, LeBel E, McDonald GL, O’Leary H, Schulman H, De Koninck P (2006) Transition from reversible to persistent binding of CaMKII to postsynaptic sites and NR2B. *J Neurosci* 26:1164–1174.
- Bayley PJ, Gold JJ, Hopkins RO, Squire LR (2005) The neuroanatomy of remote memory. *Neuron* 46:799–810.
- Bayley PJ, Hopkins RO, Squire LR (2003) Successful recollection of remote autobiographical memories by amnesic patients with medial temporal lobe lesions. *Neuron* 38:135–144.
- Bear MF (1996) Progress in understanding NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity in the visual cortex. *J Physiol Paris* 90:223–227.
- Bellone C, Mameli M, Lüscher C (2011) In utero exposure to cocaine delays postnatal synaptic maturation of glutamatergic transmission in the VTA. *Nat Neurosci* 14:1439–1446.
- Bellone C, Nicoll RA (2007) Rapid bidirectional switching of synaptic NMDA receptors. *Neuron* 55:779–785.
- Ben Mamou C, Gamache K, Nader K (2006) NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nat Neurosci* 9:1237–1239.
- Benke TA, Lüthi A, Isaac JT, Collingridge GL (1998) Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature* 393:793–797.
- Bethus I, Tse D, Morris RG (2010) Dopamine and memory: modulation of the persistence of memory for novel hippocampal NMDA receptor-dependent paired associates. *J Neurosci* 30:1610–1618.
- Bettini E, Sava A, Griffante C, Carignani C, Buson A, Capelli AM, Negri M, Andreetta F, Senar-Sancho SA, Guiral L, Cardullo F (2010) Identification and characterization of novel NMDA receptor antagonists selective for NR2A- over NR2B-containing receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 335:636–644.
- Bibb JA, Mayford MR, Tsien JZ, Alberini CM (2010) Cognition enhancement strategies. *J Neurosci* 30:14987–14992.
- Biedenkapp JC, Rudy JW (2007) Context preexposure prevents forgetting of a contextual fear memory: implication for regional changes in brain activation patterns associated with recent and remote memory tests. *Learn Mem* 14:200–203.
- Blair HT, Sotres-Bayon F, Moita MA, Ledoux JE (2005) The lateral amygdala processes the value of conditioned and unconditioned aversive stimuli. *Neuroscience* 133:561–569.
- Blanpied TA, Scott DB, Ehlers MD (2002) Dynamics and regulation of clathrin coats at specialized endocytic zones of dendrites and spines. *Neuron* 36:435–449.
- Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31–39.
- Bliss TV, Gardner-Medwin AR (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond)* 232:357–374.
- Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond)* 232:331–356.

- Blum S, Runyan JD, Dash PK (2006) Inhibition of prefrontal protein synthesis following recall does not disrupt memory for trace fear conditioning. *BMC Neurosci* 7:67.
- Bolhuis JJ, Stewart CA, Forrest EM (1994) Retrograde amnesia and memory reactivation in rats with ibotenate lesions to the hippocampus or subiculum. *Q J Exp Psychol B* 47:129–150.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671–675.
- Borgland SL, Taha SA, Sarti F, Fields HL, Bonci A (2006) Orexin A in the VTA is critical for the induction of synaptic plasticity and behavioral sensitization to cocaine. *Neuron* 49:589–601.
- Boulougouris V, Dalley JW, Robbins TW (2007) Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. *Behav Brain Res* 179:219–228.
- Bozon B, Kelly A, Josselyn SA, Silva AJ, Davis S, Laroche S (2003) MAPK, CREB and zif268 are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 358:805–814.
- Bramham CR, Alme MN, Bittins M, Kuipers SD, Nair RR, Pai B, Panja D, Schubert M, Soule J, Tiron A, Wibrand K (2010) The Arc of synaptic memory. *Exp Brain Res* 200:125–140.
- Bransford JD (1979) *Human cognition: Learning, understanding, and remembering* (Bransford JD, ed). Belmont (CA): Wadsworth Publishing Co.
- Brasier DJ, Feldman DE (2008) Synapse-specific expression of functional presynaptic NMDA receptors in rat somatosensory cortex. *J Neurosci* 28:2199–2211.
- Braunewell KH, Manahan-Vaughan D (2001) Long-term depression: a cellular basis for learning? *Rev Neurosci* 12:121–140.
- Bredt DS, Nicoll RA (2003) AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. *Neuron* 40:361–379.
- Brightwell JJ, Smith CA, Countryman RA, Neve RL, Colombo PJ (2005) Hippocampal overexpression of mutant creb blocks long-term, but not short-term memory for a socially transmitted food preference. *Learn Mem* 12:12–17.
- Brigman JL, Wright T, Talani G, Prasad-Mulcare S, Jinde S, Seabold GK, Mathur P, Davis MI, Bock R, Gustin RM, Colbran RJ, Alvarez VA, Nakazawa K, Delpire E, Lovinger DM, Holmes A (2010) Loss of GluN2B-containing NMDA receptors in CA1 hippocampus and cortex impairs long-term depression, reduces dendritic spine density, and disrupts learning. *J Neurosci* 30:4590–4600.
- Broadbent NJ, Clark RE (2013) Remote context fear conditioning remains hippocampus-dependent irrespective of training protocol, training-surgery interval, lesion size, and lesion method. *Neurobiol Learn Mem*.
- Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE (2006) Reversible hippocampal lesions disrupt water maze performance during both recent and remote memory tests. *Learn Mem* 13:187–191.
- Brown TE, Lee BR, Mu P, Ferguson D, Dietz D, Ohnishi YN, Lin Y, Suska A, Ishikawa M, Huang YH, Shen H, Kalivas PW, Sorg BA, Zukin RS, Nestler EJ, Dong Y, Schlüter OM (2011) A silent synapse-based mechanism for cocaine-induced locomotor sensitization. *J Neurosci* 31:8163–8174.
- Bruce D (2001) Fifty years since Lashley's In search of the Engram: refutations and conjectures. *J Hist Neurosci* 10:308–318.
- Buard I, Coultrap SJ, Freund RK, Lee YS, Dell'Acqua ML, Silva AJ, Bayer KU (2010) CaMKII "autonomy" is required for initiating but not for maintaining neuronal long-term information storage. *J Neurosci* 30:8214–8220.
- Bunsey M, Eichenbaum H (1995) Selective damage to the hippocampal region blocks long-term retention of a natural and nonspatial stimulus-stimulus association. *Hippocampus* 5:546–556.
- Burette F, Jay TM, Laroche S (1997) Reversal of LTP in the hippocampal afferent fiber system to the prefrontal cortex in vivo with low-frequency patterns of stimulation that do not produce LTD. *J Neurophysiol* 78:1155–1160.
- Burzomato V, Frugier G, Pérez-Otaño I, Kittler JT, Attwell D (2010) The receptor subunits generating NMDA receptor mediated currents in oligodendrocytes. *J Physiol (Lond)* 588:3403–3414.
- Buzsáki G (1989) Two-stage model of memory trace formation: a role for "noisy" brain states. *Neuroscience* 31:551–570.
- Camp LL, Rudy JW (1988) Changes in the categorization of appetitive and aversive events during postnatal development of the rat. *Dev Psychobiol* 21:25–42.
- Cai DJ, Aharoni D, Shuman T, Shobe J, Biane J, Lou J, Kimm K, Baumgaertner K, Levenstain A, Tuszyński M, Mayford M, Golshani P, Silva AJ. A shared neural ensemble links distinct contextual memories encoded close in time. *Program No. 725.19*. 2015. *Neuroscience Meeting Planner*. Chicago, IL: Society for Neuroscience, 2015. Online
- Cao X, Cui Z, Feng R, Tang YP, Qin Z, Mei B, Tsien JZ (2007) Maintenance of superior learning and memory function in NR2B transgenic mice during ageing. *Eur J Neurosci* 25:1815–1822.
- Caporale N, Dan Y (2008) Spike timing-dependent plasticity: a Hebbian learning rule. *Annu Rev Neurosci* 31:25–46.
- Carey S, Bartlett E (1978) Acquiring a single new word. *Papers and reports on Child Language Development* 15:17–29.
- Carmignoto G, Vicini S (1992) Activity-dependent decrease in NMDA receptor responses during development of the visual cortex. *Science* 258:1007–1011.
- Carpenter-Hyland EP, Woodward JJ, Chandler LJ (2004) Chronic ethanol induces synaptic but not extrasynaptic targeting of NMDA receptors. *J Neurosci* 24:7859–7868.
- Carroll RC, Beattie EC, von Zastrow M, Malenka RC (2001) Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2:315–324.
- Chapman MR, Vause HE (2011) Anti-NMDA receptor encephalitis: diagnosis, psychiatric presentation, and treatment. *Am J Psychiatry* 168:245–251.
- Chen BS, Roche KW (2007) Regulation of NMDA receptors by phosphorylation. *Neuropharmacology* 53:362–368.
- Chen L, Cooper NG, Mower GD (2000) Developmental changes in the expression of NMDA receptor subunits (NR1, NR2A, NR2B) in the cat visual cortex and the effects of dark rearing. *Brain Res Mol Brain Res* 78:196–200.

- Chen WS, Bear MF (2007) Activity-dependent regulation of NR2B translation contributes to metaplasticity in mouse visual cortex. *Neuropharmacology* 52:200–214.
- Cho YH, Giese KP, Tanila H, Silva AJ, Eichenbaum H (1998) Abnormal hippocampal spatial representations in alphaCaMKII286A and CREBalphaDelta- mice. *Science* 279:867–869.
- Choi GB, Stettler DD, Kallman BR, Bhaskar ST, Fleischmann A, Axel R (2011) Driving opposing behaviors with ensembles of piriform neurons. *Cell* 146:1004–1015.
- Choi JH, Kim JE, Kaang BK (2010) Protein synthesis and degradation are required for the incorporation of modified information into the pre-existing object-location memory. *Mol Brain* 3:1.
- Choquet D, Triller A (2003) The role of receptor diffusion in the organization of the postsynaptic membrane. *Nat Rev Neurosci* 4:251–265.
- Choquet D, Triller A (2013) The dynamic synapse. *Neuron* 80:691–703.
- Chung HJ, Huang YH, Lau LF, Huganir RL (2004) Regulation of the NMDA receptor complex and trafficking by activity-dependent phosphorylation of the NR2B subunit PDZ ligand. *J Neurosci* 24:10248–10259.
- Chwang WB, O’Riordan KJ, Levenson JM, Sweatt JD (2006) ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. *Learn Mem* 13:322–328.
- Clark RE, Broadbent NJ, Squire LR (2005) Impaired remote spatial memory after hippocampal lesions despite extensive training beginning early in life. *Hippocampus* 15:340–346.
- Clark RE, Broadbent NJ, Zola SM, Squire LR (2002) Anterograde amnesia and temporally graded retrograde amnesia for a nonspatial memory task after lesions of hippocampus and subiculum. *J Neurosci* 22:4663–4669.
- Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM (2010) Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:2652–2657.
- Clayton DA, Grosshans DR, Browning MD (2002) Aging and surface expression of hippocampal NMDA receptors. *J Biol Chem* 277:14367–14369.
- Cohen NJ, Eichenbaum H (1991) The theory that wouldn’t die: a critical look at the spatial mapping theory of hippocampal function. *Hippocampus* 1:265–268.
- Cohen Y, Reuveni I, Barkai E, Maroun M (2008) Olfactory learning-induced long-lasting enhancement of descending and ascending synaptic transmission to the piriform cortex. *J Neurosci* 28:6664–6669.
- Collingridge GL, Isaac JT (2003) Functional roles of protein interactions with AMPA and kainate receptors. *Neurosci Res* 47:3–15.
- Collingridge GL, Isaac JT, Wang YT (2004) Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 5:952–962.
- Collingridge GL, Volianskis A, Bannister N, France G, Hanna L, Mercier M, Tidball P, Fang G, Irvine MW, Costa BM, Monaghan DT, Bortolotto ZA, Molnár E, Lodge D, Jane DE (2013) The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement. *Neuropharmacology* 64:13–26.
- Condé F, Maire-Lepoivre E, Audinat E, Crépel F (1995) Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *J Comp Neurol* 352:567–593.
- Cook DJ, Teves L, Tymianski M (2012) Treatment of stroke with a PSD-95 inhibitor in the gyrencephalic primate brain. *Nature* 483:213–217.
- Cooke SF, Bear MF (2010) Visual experience induces long-term potentiation in the primary visual cortex. *J Neurosci* 30:16304–16313.
- Cooper LN, Bear MF (2012) The BCM theory of synapse modification at 30: interaction of theory with experiment. *Nat Rev Neurosci* 13:798–810.
- Corkin S (2002) What’s new with the amnesic patient H.M.? *Nat Rev Neurosci* 3:153–160.
- Corlew R, Brasier DJ, Feldman DE, Philpot BD (2008) Presynaptic NMDA receptors: newly appreciated roles in cortical synaptic function and plasticity. *Neuroscientist* 14:609–625.
- Costa-Mattioli M, Sossin WS, Klann E, Sonenberg N (2009) Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory. *Neuron* 61:10–26.
- Cowansage KK, Shuman T, Dillingham BC, Chang A, Golshani P, Mayford M (2014) Direct reactivation of a coherent neocortical memory of context. *Neuron* 84:432–441.
- Crick F (1984) Memory and molecular turnover. *Nature* 312:101.
- Critchley HD, Rolls ET (1996) Olfactory neuronal responses in the primate orbitofrontal cortex: analysis in an olfactory discrimination task. *J Neurophysiol* 75:1659–1672.
- Crump FT, Dillman KS, Craig AM (2001) cAMP-dependent protein kinase mediates activity-regulated synaptic targeting of NMDA receptors. *J Neurosci* 21:5079–5088.
- Cui Y, Jin J, Zhang X, Xu H, Yang L, Du D, Zeng Q, Tsien JZ, Yu H, Cao X (2011) Forebrain NR2B overexpression facilitating the prefrontal cortex long-term potentiation and enhancing working memory function in mice. *PLoS ONE* 6:e20312.
- Cui Z, Feng R, Jacobs S, Duan Y, Wang H, Cao X, Tsien JZ (2013) Increased NR2A:NR2B ratio compresses long-term depression range and constrains long-term memory. *Sci Rep* 3:1036.
- Cui Z, Lindl KA, Mei B, Zhang S, Tsien JZ (2005) Requirement of NMDA receptor reactivation for consolidation and storage of nondeclarative taste memory revealed by inducible NR1 knockout. *Eur J Neurosci* 22:755–763.
- Cui Z, Wang H, Tan Y, Zaia KA, Zhang S, Tsien JZ (2004) Inducible and reversible NR1 knockout reveals crucial role of the NMDA receptor in preserving remote memories in the brain. *Neuron* 41:781–793.
- Cull-Candy SG, Leszkiewicz DN (2004) Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Sci STKE* 2004:re16.

- Curtis DR, Watkins JC (1963) Acidic amino acids with strong excitatory actions on mammalian neurones. *J Physiol (Lond)* 166:1–14.
- Czajkowski R, Jayaprakash B, Wiltgen B, Rogerson T, Guzman-Karlsson MC, Barth AL, Trachtenberg JT, Silva AJ (2014) Encoding and storage of spatial information in the retrosplenial cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
- Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, Rossi JE, Peng X, Lai M, Dessain SK, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Lynch DR (2008) Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol* 7:1091–1098.
- Dalton GL, Ma LM, Phillips AG, Floresco SB (2011) Blockade of NMDA GluN2B receptors selectively impairs behavioral flexibility but not initial discrimination learning. *Psychopharmacology (Berl)* 216:525–535.
- Dalton GL, Wu DC, Wang YT, Floresco SB, Phillips AG (2012) NMDA GluN2A and GluN2B receptors play separate roles in the induction of LTP and LTD in the amygdala and in the acquisition and extinction of conditioned fear. *Neuropharmacology* 62:797–806.
- Davis HP, Squire LR (1984) Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull* 96:518–559.
- Davis S, Butcher SP, Morris RG (1992) The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *J Neurosci* 12:21–34.
- De Roo M, Klauser P, Muller D (2008) LTP promotes a selective long-term stabilization and clustering of dendritic spines. *PLoS Biol* 6:e219.
- Dębiec J, Bush DE, LeDoux JE (2011) Noradrenergic enhancement of reconsolidation in the amygdala impairs extinction of conditioned fear in rats—a possible mechanism for the persistence of traumatic memories in PTSD. *Depress Anxiety* 28:186–193.
- Delaney AJ, Power JM, Sah P (2012) Ifenprodil reduces excitatory synaptic transmission by blocking presynaptic P/Q type calcium channels. *J Neurophysiol* 107:1571–1575.
- Deng W, Mayford M, Gage FH (2013) Selection of distinct populations of dentate granule cells in response to inputs as a mechanism for pattern separation in mice. *elife* 2:e00312.
- Denny CA, Kheirbek MA, Alba EL, Tanaka KF, Brachman RA, Laughman KB, Tomm NK, Turi GF, Losonczy A, Hen R (2014) Hippocampal memory traces are differentially modulated by experience, time, and adult neurogenesis. *Neuron* 83:189–201.
- Derkach V, Barria A, Soderling TR (1999) Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3269–3274.
- Descalzi G, Li XY, Chen T, Mercaldo V, Koga K, Zhuo M (2012) Rapid synaptic potentiation within the anterior cingulate cortex mediates trace fear learning. *Mol Brain* 5:6.
- Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF (1999) The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 51:7–61.
- Dombeck DA, Harvey CD, Tian L, Looger LL, Tank DW (2010) Functional imaging of hippocampal place cells at cellular resolution during virtual navigation. *Nat Neurosci* 13:1433–1440.
- Dong Z et al. (2015) Long-term potentiation decay and memory loss are mediated by AMPAR endocytosis. *J Clin Invest* 125:234–247.
- Doyère V, Debiec J, Monfils MH, Schafe GE, LeDoux JE (2007) Synapse-specific reconsolidation of distinct fear memories in the lateral amygdala. *Nat Neurosci* 10:414–416.
- Dudai Y (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51–86.
- Dudai Y (2012) The restless engram: consolidations never end. *Annu Rev Neurosci* 35:227–247.
- Dudai Y, Eisenberg M (2004) Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 44:93–100.
- Dudai Y, Karni A, Born J (2015) The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron* 88:20–32.
- Dudai Y, Morris RG (2013) Memorable trends. *Neuron* 80:742–750.
- Duffy S, Labrie V, Roder JC (2008) D-serine augments NMDA-NR2B receptor-dependent hippocampal long-term depression and spatial reversal learning. *Neuropsychopharmacology* 33:1004–1018.
- Dumas TC (2005) Developmental regulation of cognitive abilities: modified composition of a molecular switch turns on associative learning. *Prog Neurobiol* 76:189–211.
- Dunaevsky A, Tashiro A, Majewska A, Mason C, Yuste R (1999) Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:13438–13443.
- Dunah AW, Wang Y, Yasuda RP, Kameyama K, Haganir RL, Wolfe BB, Standaert DG (2000) Alterations in subunit expression, composition, and phosphorylation of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in a rat 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Mol Pharmacol* 57:342–352.
- Dupuis JP, Ladépêche L, Seth H, Bard L, Varela J, Mikasova L, Bouchet D, Rogemond V, Honnorat J, Hanse E, Groc L (2014) Surface dynamics of GluN2B-NMDA receptors controls plasticity of maturing glutamate synapses. *EMBO J* 33:842–861.
- Edman S, McKay S, Macdonald LJ, Samadi M, Livesey MR, Hardingham GE, Wyllie DJ (2012) TCN 201 selectively blocks GluN2A-containing NMDARs in a GluN1 co-agonist dependent but non-competitive manner. *Neuropharmacology* 63:441–449.
- Ehlers MD (2000) Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* 28:511–525.
- Ehlers MD (2003) Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin-proteasome system. *Nat Neurosci* 6:231–242.
- Eichenbaum H (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* 1:41–50.

- Eichenbaum H (2004) Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 44:109–120.
- El Gaamouch F, Buisson A, Moustié O, Lemieux M, Labrecque S, Bontempi B, De Koninck P, Nicole O (2012) Interaction between α CaMKII and GluN2B controls ERK-dependent plasticity. *J Neurosci* 32:10767–10779.
- Eldridge LL, Knowlton BJ, Furmanski CS, Bookheimer SY, Engel SA (2000) Remembering episodes: a selective role for the hippocampus during retrieval. *Nat Neurosci* 3:1149–1152.
- Erisir A, Harris JL (2003) Decline of the critical period of visual plasticity is concurrent with the reduction of NR2B subunit of the synaptic NMDA receptor in layer 4. *J Neurosci* 23:5208–5218.
- Erreger K, Dravid SM, Banke TG, Wyllie DJ, Traynelis SF (2005) Subunit-specific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles. *J Physiol (Lond)* 563:345–358.
- Ewald RC, Van Keuren-Jensen KR, Aizenman CD, Cline HT (2008) Roles of NR2A and NR2B in the development of dendritic arbor morphology in vivo. *J Neurosci* 28:850–861.
- Ferreira JS, Schmidt J, Rio P, Águas R, Rooyackers A, Li KW, Smit AB, Craig AM, Carvalho AL (2015) GluN2B-Containing NMDA Receptors Regulate AMPA Receptor Traffic through Anchoring of the Synaptic Proteasome. *J Neurosci* 35:8462–8479.
- Finke C, Kopp UA, Prüss H, Dalmau J, Wandinger KP, Ploner CJ (2012) Cognitive deficits following anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 83:195–198.
- Finnie PS, Nader K (2012) The role of metaplasticity mechanisms in regulating memory destabilization and reconsolidation. *Neurosci Biobehav Rev* 36:1667–1707.
- Flavell SW, Greenberg ME (2008) Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 31:563–590.
- Fligstein D, Barabasz A, Barabasz M, Trevisan MS, Warner D (1998) Hypnosis enhances recall memory: a test of forced and non-forced conditions. *Am J Clin Hypn* 40:297–305.
- Flint AC, Maisch US, Weishaupt JH, Kriegstein AR, Monyer H (1997) NR2A subunit expression shortens NMDA receptor synaptic currents in developing neocortex. *J Neurosci* 17:2469–2476.
- Follesa P, Ticku MK (1996) NMDA receptor upregulation: molecular studies in cultured mouse cortical neurons after chronic antagonist exposure. *J Neurosci* 16:2172–2178.
- Foster KA, McLaughlin N, Edbauer D, Phillips M, Bolton A, Constantine-Paton M, Sheng M (2010) Distinct roles of NR2A and NR2B cytoplasmic tails in long-term potentiation. *J Neurosci* 30:2676–2685.
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6:119–130.
- Frankland PW, Bontempi B (2006) Fast track to the medial prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:509–510.
- Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ (2004) The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* 304:881–883.
- Frankland PW, O'Brien C, Ohno M, Kirkwood A, Silva AJ (2001) Alpha-CaMKII-dependent plasticity in the cortex is required for permanent memory. *Nature* 411:309–313.
- Frey U, Morris RG (1997) Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature* 385:533–536.
- Frey U, Morris RG (1998) Weak before strong: dissociating synaptic tagging and plasticity-factor accounts of late-LTP. *Neuropharmacology* 37:545–552.
- Furman O, Mendelsohn A, Dudai Y (2012) The episodic engram transformed: Time reduces retrieval-related brain activity but correlates it with memory accuracy. *Learn Mem* 19:575–587.
- Furuyashiki T, Holland PC, Gallagher M (2008) Rat orbitofrontal cortex separately encodes response and outcome information during performance of goal-directed behavior. *J Neurosci* 28:5127–5138.
- Fusi S, Abbott LF (2007) Limits on the memory storage capacity of bounded synapses. *Nat Neurosci* 10:485–493.
- Fusi S, Drew PJ, Abbott LF (2005) Cascade models of synaptically stored memories. *Neuron* 45:599–611.
- Gais S, Rasch B, Wagner U, Born J (2008) Visual-procedural memory consolidation during sleep blocked by glutamatergic receptor antagonists. *J Neurosci* 28:5513–5518.
- Galef BG (2002) Social influences on food choices of Norway rats and mate choices of Japanese quail. *Appetite* 39:179–180.
- Galef BG (2003) Social learning of food preferences in rodents: rapid appetitive learning. *Curr Protoc Neurosci Chapter 8:Unit 8.5D*.
- Galef BG, Beck M (1985) Aversive and attractive marking of toxic and safe foods by Norway rats. *Behav Neural Biol* 43:298–310.
- Galef BG, Mason JR, Preti G, Bean NJ (1988) Carbon disulfide: a semiochemical mediating socially-induced diet choice in rats. *Physiol Behav* 42:119–124.
- Galef BG, Whiskin EE (1998) Limits on social influence on food choices of Norway rats. *Anim Behav* 56:1015–1020.
- Galef BG, Whiskin EE (2000) Social exploitation of intermittently available foods and the social reinstatement of food preference. *Anim Behav* 60:611–615.
- Galef BG, Whiskin EE (2003) Socially transmitted food preferences can be used to study long-term memory in rats. *Learn Behav* 31:160–164.
- Galef BG, Wigmore SW, Kennett DJ (1983) A failure to find socially mediated taste aversion learning in Norway rats (*R. norvegicus*). *J Comp Psychol* 97:358–363.
- Gallistel CR, Matzel LD (2013) The neuroscience of learning: beyond the Hebbian synapse. *Annu Rev Psychol* 64:169–200.
- Gambrill AC, Barria A (2011) NMDA receptor subunit composition controls synaptogenesis and synapse stabilization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:5855–5860.

- Gardoni F, Mauceri D, Fiorentini C, Bellone C, Missale C, Cattabeni F, Di Luca M (2003) CaMKII-dependent phosphorylation regulates SAP97/NR2A interaction. *J Biol Chem* 278:44745–44752.
- Gardoni F, Picconi B, Ghiglieri V, Polli F, Bagetta V, Bernardi G, Cattabeni F, Di Luca M, Calabresi P (2006) A critical interaction between NR2B and MAGUK in L-DOPA induced dyskinesia. *J Neurosci* 26:2914–2922.
- Garner AR, Rowland DC, Hwang SY, Baumgaertel K, Roth BL, Kentros C, Mayford M (2012) Generation of a synthetic memory trace. *Science* 335:1513–1516.
- Gaspar PA, Bustamante ML, Silva H, Aboitiz F (2009) Molecular mechanisms underlying glutamatergic dysfunction in schizophrenia: therapeutic implications. *J Neurochem* 111:891–900.
- Ge Y, Dong Z, Bagot RC, Howland JG, Phillips AG, Wong TP, Wang YT (2010) Hippocampal long-term depression is required for the consolidation of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:16697–16702.
- Ghosh A, Greenberg ME (1995) Calcium signaling in neurons: molecular mechanisms and cellular consequences. *Science* 268:239–247.
- Ghosh VE, Gilboa A (2014) What is a memory schema? A historical perspective on current neuroscience literature. *Neuropsychologia* 53:104–114.
- Gielen M, Siegler Retchless B, Mony L, Johnson JW, Paoletti P (2009) Mechanism of differential control of NMDA receptor activity by NR2 subunits. *Nature* 459:703–707.
- Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, Silva AJ (1998) Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science* 279:870–873.
- Gilboa A, Winocur G, Rosenbaum RS, Poreh A, Gao F, Black SE, Westmacott R, Moscovitch M (2006) Hippocampal contributions to recollection in retrograde and anterograde amnesia. *Hippocampus* 16:966–980.
- Gipson CD, Reissner KJ, Kupchik YM, Smith AC, Stankeviciute N, Hensley-Simon ME, Kalivas PW (2013) Reinstatement of nicotine seeking is mediated by glutamatergic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:9124–9129.
- Gladding CM, Raymond LA (2011) Mechanisms underlying NMDA receptor synaptic/extrasynaptic distribution and function. *Mol Cell Neurosci* 48:308–320.
- Glazewski S, Chen CM, Silva A, Fox K (1996) Requirement for alpha-CaMKII in experience-dependent plasticity of the barrel cortex. *Science* 272:421–423.
- Glazewski S, Giese KP, Silva A, Fox K (2000) The role of alpha-CaMKII autophosphorylation in neocortical experience-dependent plasticity. *Nat Neurosci* 3:911–918.
- Goshen I, Brodsky M, Prakash R, Wallace J, Gradinaru V, Ramakrishnan C, Deisseroth K (2011) Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell* 147:678–689.
- Granado N, Ortiz O, Suárez LM, Martín ED, Ceña V, Solís JM, Moratalla R (2008) D1 but not D5 dopamine receptors are critical for LTP, spatial learning, and LTP-Induced arc and zif268 expression in the hippocampus. *Cereb Cortex* 18:1–12.
- Green JP (1999) Hypnosis, context effects, and the recall of early autobiographical memories. *Int J Clin Exp Hypn* 47:284–300.
- Groc L, Choquet D, Chaouloff F (2008) The stress hormone corticosterone conditions AMPAR surface trafficking and synaptic potentiation. *Nat Neurosci* 11:868–870.
- Groc L, Choquet D, Stephenson FA, Verrier D, Manzoni OJ, Chavis P (2007) NMDA receptor surface trafficking and synaptic subunit composition are developmentally regulated by the extracellular matrix protein Reelin. *J Neurosci* 27:10165–10175.
- Groc L, Heine M, Cognet L, Brickley K, Stephenson FA, Lounis B, Choquet D (2004) Differential activity-dependent regulation of the lateral mobilities of AMPA and NMDA receptors. *Nat Neurosci* 7:695–696.
- Groc L, Heine M, Cousins SL, Stephenson FA, Lounis B, Cognet L, Choquet D (2006) NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:18769–18774.
- Gruart A, Muñoz MD, Delgado-García JM (2006) Involvement of the CA3-CA1 synapse in the acquisition of associative learning in behaving mice. *J Neurosci* 26:1077–1087.
- Guzowski JF, McNaughton BL, Barnes CA, Worley PF (1999) Environment-specific expression of the immediate-early gene Arc in hippocampal neuronal ensembles. *Nat Neurosci* 2:1120–1124.
- Haist F, Bowden Gore J, Mao H (2001) Consolidation of human memory over decades revealed by functional magnetic resonance imaging. *Nat Neurosci* 4:1139–1145.
- Hall J, Thomas KL, Everitt BJ (2001) Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. *J Neurosci* 21:2186–2193.
- Halt AR, Dallapiazza RF, Zhou Y, Stein IS, Qian H, Juntti S, Wojcik S, Brose N, Silva AJ, Hell JW (2012) CaMKII binding to GluN2B is critical during memory consolidation. *EMBO J* 31:1203–1216.
- Han JH, Kushner SA, Yiu AP, Cole CJ, Matynia A, Brown RA, Neve RL, Guzowski JF, Silva AJ, Josselyn SA (2007) Neuronal competition and selection during memory formation. *Science* 316:457–460.
- Han JH, Kushner SA, Yiu AP, Hsiang HL, Buch T, Waisman A, Bontempi B, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA (2009) Selective erasure of a fear memory. *Science* 323:1492–1496.
- Hansen KB, Ogden KK, Traynelis SF (2012) Subunit-selective allosteric inhibition of glycine binding to NMDA receptors. *J Neurosci* 32:6197–6208.
- Hansen KB, Ogden KK, Yuan H, Traynelis SF (2014) Distinct functional and pharmacological properties of Triheteromeric GluN1/GluN2A/GluN2B NMDA receptors. *Neuron* 81:1084–1096.

- Hardingham GE, Bading H (2010) Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci* 11:682–696.
- Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H (2002) Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci* 5:405–414.
- Hardt O, Miguez PV, Hastings M, Wong J, Nader K (2010) PKMzeta maintains 1-day- and 6-day-old long-term object location but not object identity memory in dorsal hippocampus. *Hippocampus* 20:691–695.
- Hardt O, Nader K, Nadel L (2013) Decay happens: the role of active forgetting in memory. *Trends Cogn Sci (Regul Ed)* 17:111–120.
- Hardt O, Nader K, Wang YT (2014) GluA2-dependent AMPA receptor endocytosis and the decay of early and late long-term potentiation: possible mechanisms for forgetting of short- and long-term memories. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 369:20130141.
- Hardt O, Wang SH, Nader K (2009) Storage or retrieval deficit: the yin and yang of amnesia. *Learn Mem* 16:224–230.
- Harvey CD, Svoboda K (2007) Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. *Nature* 450:1195–1200.
- Hasegawa I (2000) Neural mechanisms of memory retrieval: role of the prefrontal cortex. *Rev Neurosci* 11:113–125.
- Hatton CJ, Paoletti P (2005) Modulation of triheteromeric NMDA receptors by N-terminal domain ligands. *Neuron* 46:261–274.
- Hawasli AH, Benavides DR, Nguyen C, Kansy JW, Hayashi K, Chambon P, Greengard P, Powell CM, Cooper DC, Bibb JA (2007) Cyclin-dependent kinase 5 governs learning and synaptic plasticity via control of NMDAR degradation. *Nat Neurosci* 10:880–886.
- Hayashi ML, Choi SY, Rao BS, Jung HY, Lee HK, Zhang D, Chattarji S, Kirkwood A, Tonegawa S (2004) Altered cortical synaptic morphology and impaired memory consolidation in forebrain-specific dominant-negative PAK transgenic mice. *Neuron* 42:773–787.
- He HY, Hodos W, Quinlan EM (2006) Visual deprivation reactivates rapid ocular dominance plasticity in adult visual cortex. *J Neurosci* 26:2951–2955.
- Hebb DO (1949) *The organization of behavior*. (Hebb DO, ed). New York: Wiley.
- Heine M, Groc L, Frischknecht R, Béique JC, Lounis B, Rumbaugh G, Huganir RL, Cognet L, Choquet D (2008) Surface mobility of postsynaptic AMPARs tunes synaptic transmission. *Science* 320:201–205.
- Heng MY, Detloff PJ, Wang PL, Tsien JZ, Albin RL (2009) In vivo evidence for NMDA receptor-mediated excitotoxicity in a murine genetic model of Huntington disease. *J Neurosci* 29:3200–3205.
- Hensch TK (2004) Critical period regulation. *Annu Rev Neurosci* 27:549–579.
- Henson MA, Roberts AC, Pérez-Otaño I, Philpot BD (2010) Influence of the NR3A subunit on NMDA receptor functions. *Prog Neurobiol* 91:23–37.
- Hestrin S (1992) Developmental regulation of NMDA receptor-mediated synaptic currents at a central synapse. *Nature* 357:686–689.
- Higgins GA, Ballard TM, Huwyler J, Kemp JA, Gill R (2003) Evaluation of the NR2B-selective NMDA receptor antagonist Ro 63-1908 on rodent behaviour: evidence for an involvement of NR2B NMDA receptors in response inhibition. *Neuropharmacology* 44:324–341.
- Hoffmann H, Gremme T, Hatt H, Gottmann K (2000) Synaptic activity-dependent developmental regulation of NMDA receptor subunit expression in cultured neocortical neurons. *J Neurochem* 75:1590–1599.
- Holtmaat A, Svoboda K (2009) Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat Rev Neurosci* 10:647–658.
- Horak M, Wenthold RJ (2009) Different roles of C-terminal cassettes in the trafficking of full-length NR1 subunits to the cell surface. *J Biol Chem* 284:9683–9691.
- Huang YH, Lin Y, Mu P, Lee BR, Brown TE, Wayman G, Marie H, Liu W, Yan Z, Sorg BA, Schlüter OM, Zukin RS, Dong Y (2009) In vivo cocaine experience generates silent synapses. *Neuron* 63:40–47.
- Hübener M, Bonhoeffer T (2010) Searching for engrams. *Neuron* 67:363–371.
- Huerta PT, Sun LD, Wilson MA, Tonegawa S (2000) Formation of temporal memory requires NMDA receptors within CA1 pyramidal neurons. *Neuron* 25:473–480.
- Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, Lai M, Zhou L, Tsou R, Parsons TD, Lynch DR, Dalmau J, Balice-Gordon RJ (2010) Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurosci* 30:5866–5875.
- Hupbach A, Gomez R, Hardt O, Nadel L (2007) Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information. *Learn Mem* 14:47–53.
- Inglis J, Martin SJ, Morris RG (2013) Upstairs/downstairs revisited: spatial pretraining-induced rescue of normal spatial learning during selective blockade of hippocampal N-methyl-d-aspartate receptors. *Eur J Neurosci* 37:718–727.
- Isaac JT, Nicoll RA, Malenka RC (1995) Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron* 15:427–434.
- Ito I, Futai K, Katagiri H, Watanabe M, Sakimura K, Mishina M, Sugiyama H (1997) Synapse-selective impairment of NMDA receptor functions in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 or epsilon 2 subunit. *J Physiol (Lond)* 500 (Pt 2):401–408.
- Ito I, Kawakami R, Sakimura K, Mishina M, Sugiyama H (2000) Input-specific targeting of NMDA receptor subtypes at mouse hippocampal CA3 pyramidal neuron synapses. *Neuropharmacology* 39:943–951.

- Ittner LM, Ke YD, Delerue F, Bi M, Gladbach A, van Eersel J, Wölfing H, Chieng BC, Christie MJ, Napier IA, Eckert A, Staufenbiel M, Hardeman E, Götz J (2010) Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell* 142:387–397.
- Ivanov A, Pellegrino C, Rama S, Dumalska I, Salyha Y, Ben-Ari Y, Medina I (2006) Opposing role of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in regulation of the extracellular signal-regulated kinases (ERK) activity in cultured rat hippocampal neurons. *J Physiol (Lond)* 572:789–798.
- Jacobs S, Cui Z, Feng R, Wang H, Wang D, Tsien JZ (2014) Molecular and genetic determinants of the NMDA receptor for superior learning and memory functions. *PLoS ONE* 9:e111865.
- Jacobs S, Wei W, Wang D, Tsien JZ (2015) Importance of the GluN2B carboxy-terminal domain for enhancement of social memories. *Learn Mem* 22:401–410.
- Jacobs SA, Tsien JZ (2012) genetic overexpression of NR2B subunit enhances social recognition memory for different strains and species. *PLoS ONE* 7:e36387.
- Jacobs SA, Tsien JZ (2014) Overexpression of the NR2A subunit in the forebrain impairs long-term social recognition and non-social olfactory memory. *Genes Brain Behav* 13:376–384.
- Jay TM, Burette F, Laroche S (1995) NMDA receptor-dependent long-term potentiation in the hippocampal afferent fibre system to the prefrontal cortex in the rat. *Eur J Neurosci* 7:247–250.
- Jay TM, Burette F, Laroche S (1996) Plasticity of the hippocampal-prefrontal cortex synapses. *J Physiol Paris* 90:361–366.
- Jay TM, Glowinski J, Thierry AM (1989) Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain Res* 505:337–340.
- Jay TM, Witter MP (1991) Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 313:574–586.
- Jeffery KJ, Abraham WC, Dragunow M, Mason SE (1990) Induction of Fos-like immunoreactivity and the maintenance of long-term potentiation in the dentate gyrus of unanesthetized rats. *Brain Res Mol Brain Res* 8:267–274.
- Jeyifous O, Waites CL, Specht CG, Fujisawa S, Schubert M, Lin EI, Marshall J, Aoki C, de Silva T, Montgomery JM, Garner CC, Green WN (2009) SAP97 and CASK mediate sorting of NMDA receptors through a previously unknown secretory pathway. *Nat Neurosci* 12:1011–1019.
- Ji D, Wilson MA (2007) Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 10:100–107.
- Johansen JP, Tarpley JW, LeDoux JE, Blair HT (2010) Neural substrates for expectation-modulated fear learning in the amygdala and periaqueductal gray. *Nat Neurosci* 13:979–986.
- Johansen JP, Wolff SB, Lüthi A, LeDoux JE (2012) Controlling the elements: an optogenetic approach to understanding the neural circuits of fear. *Biol Psychiatry* 71:1053–1060.
- Jones EG (1994) Santiago Ramón y Cajal and the Croonian Lecture, March 1894. *Trends Neurosci* 17:190–192.
- Josselyn SA, Köhler S, Frankland PW (2015) Finding the engram. *Nat Rev Neurosci* 16:521–534.
- Jourdain P, Bergersen LH, Bhaukaurally K, Bezzi P, Santello M, Domercq M, Matute C, Tonello F, Gundersen V, Volterra A (2007) Glutamate exocytosis from astrocytes controls synaptic strength. *Nat Neurosci* 10:331–339.
- Jung MW, Baeg EH, Kim MJ, Kim YB, Kim JJ (2008) Plasticity and memory in the prefrontal cortex. *Rev Neurosci* 19:29–46.
- Jurd R, Thornton C, Wang J, Luong K, Phamluong K, Kharazia V, Gibb SL, Ron D (2008) Mind bomb-2 is an E3 ligase that ubiquitinates the N-methyl-D-aspartate receptor NR2B subunit in a phosphorylation-dependent manner. *J Biol Chem* 283:301–310.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294:1030–1038.
- Kandel ER, O'Dell TJ (1992) Are adult learning mechanisms also used for development? *Science* 258:243–245.
- Karakas E, Simorowski N, Furukawa H (2011) Subunit arrangement and phenylethanolamine binding in GluN1/GluN2B NMDA receptors. *Nature* 475:249–253.
- Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi A, Noguchi J (2010) Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci* 33:121–129.
- Kawakami R, Shinohara Y, Kato Y, Sugiyama H, Shigemoto R, Ito I (2003) Asymmetrical allocation of NMDA receptor epsilon2 subunits in hippocampal circuitry. *Science* 300:990–994.
- Kemp A, Manahan-Vaughan D (2007) Hippocampal long-term depression: master or minion in declarative memory processes? *Trends Neurosci* 30:111–118.
- Kentros C, Hargreaves E, Hawkins RD, Kandel ER, Shapiro M, Muller RV (1998) Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science* 280:2121–2126.
- Kessels HW, Malinow R (2009) Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior. *Neuron* 61:340–350.
- Kessels HW, Nabavi S, Malinow R (2013) Metabotropic NMDA receptor function is required for β -amyloid-induced synaptic depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:4033–4038.
- Kim JJ, Baxter MG (2001) Multiple brain-memory systems: the whole does not equal the sum of its parts. *Trends Neurosci* 24:324–330.
- Kim JJ, Clark RE, Thompson RF (1995) Hippocampectomy impairs the memory of recently, but not remotely, acquired trace eyeblink conditioned responses. *Behav Neurosci* 109:195–203.
- Kim JJ, Fanselow MS (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256:675–677.
- Kirwan CB, Bayley PJ, Galván VV, Squire LR (2008) Detailed recollection of remote autobiographical memory after damage to the medial temporal lobe. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:2676–2680.

- Kitamura T, Saitoh Y, Takashima N, Murayama A, Niibori Y, Ageta H, Sekiguchi M, Sugiyama H, Inokuchi K (2009) Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell* 139:814–827.
- Konorski J (1948) *Conditioned Reflexes and neuron organization* (A M, ed). Cambridge: Cambridge University Press.
- Kopp C, Longordo F, Lüthi A (2007) Experience-dependent changes in NMDA receptor composition at mature central synapses. *Neuropharmacology* 53:1–9.
- Kumar SS, Huguenard JR (2003) Pathway-specific differences in subunit composition of synaptic NMDA receptors on pyramidal neurons in neocortex. *J Neurosci* 23:10074–10083.
- Kwon JT, Nakajima R, Kim HS, Jeong Y, Augustine GJ, Han JH (2014) Optogenetic activation of presynaptic inputs in lateral amygdala forms associative fear memory. *Learn Mem* 21:627–633.
- Lamprecht R, LeDoux J (2004) Structural plasticity and memory. *Nat Rev Neurosci* 5:45–54.
- Laroche S, Davis S, Jay TM (2000) Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus* 10:438–446.
- Larsen RS, Corlew RJ, Henson MA, Roberts AC, Mishina M, Watanabe M, Lipton SA, Nakanishi N, Pérez-Otaño I, Weinberg RJ, Philpot BD (2011) NR3A-containing NMDARs promote neurotransmitter release and spike timing-dependent plasticity. *Nat Neurosci* 14:338–344.
- Lashley K (1950) In search of the engram. *Symp Soc Exp Biol* 4:454–482.
- Lau CG, Zukin RS (2007) NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 8:413–426.
- Laurie DJ, Seeburg PH (1994) Regional and developmental heterogeneity in splicing of the rat brain NMDAR1 mRNA. *J Neurosci* 14:3180–3194.
- Lavenex P, Amaral DG (2000) Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus* 10:420–430.
- Lebel D, Grossman Y, Barkai E (2001) Olfactory learning modifies predisposition for long-term potentiation and long-term depression induction in the rat piriform (olfactory) cortex. *Cereb Cortex* 11:485–489.
- Lebel D, Sidhu N, Barkai E, Quinlan EM (2006) Learning in the absence of experience-dependent regulation of NMDAR composition. *Learn Mem* 13:566–570.
- Lechner HA, Squire LR, Byrne JH (1999) 100 years of consolidation--remembering Müller and Pilzecker. *Learn Mem* 6:77–87.
- Lee JL (2010) Memory reconsolidation mediates the updating of hippocampal memory content. *Front Behav Neurosci* 4:168.
- Lee MC, Yasuda R, Ehlers MD (2010) Metaplasticity at single glutamatergic synapses. *Neuron* 66:859–870.
- Lee S, Kim J, Choi S (2011) In vitro synaptic reconsolidation in amygdala slices prepared from rat brains. *Biochem Biophys Res Commun* 407:339–342.
- Lee SH, Choi JH, Lee N, Lee HR, Kim JI, Yu NK, Choi SL, Lee SH, Kim H, Kaang BK (2008) Synaptic protein degradation underlies destabilization of retrieved fear memory. *Science* 319:1253–1256.
- Lee YS, Silva AJ (2009) The molecular and cellular biology of enhanced cognition. *Nat Rev Neurosci* 10:126–140.
- Lehmann H, Lacanilao S, Sutherland RJ (2007) Complete or partial hippocampal damage produces equivalent retrograde amnesia for remote contextual fear memories. *Eur J Neurosci* 25:1278–1286.
- Lehmann H, Sparks FT, Spanswick SC, Hadikin C, McDonald RJ, Sutherland RJ (2009) Making context memories independent of the hippocampus. *Learn Mem* 16:417–420.
- Lemon N, Manahan-Vaughan D (2006) Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 26:7723–7729.
- Leonard AS, Lim IA, Hemsworth DE, Horne MC, Hell JW (1999) Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II is associated with the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3239–3244.
- Lesburgères E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi B (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331:924–928.
- Leutgeb S, Leutgeb JK, Treves A, Moser MB, Moser EI (2004) Distinct ensemble codes in hippocampal areas CA3 and CA1. *Science* 305:1295–1298.
- Levine B, Svoboda E, Hay JF, Winocur G, Moscovitch M (2002) Aging and autobiographical memory: dissociating episodic from semantic retrieval. *Psychol Aging* 17:677–689.
- Levy DA, Hopkins RO, Squire LR (2004) Impaired odor recognition memory in patients with hippocampal lesions. *Learn Mem* 11:794–796.
- Levy DA, Manns JR, Hopkins RO, Gold JJ, Broadbent NJ, Squire LR (2003) Impaired visual and odor recognition memory span in patients with hippocampal lesions. *Learn Mem* 10:531–536.
- Levy WB, Steward O (1983) Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience* 8:791–797.
- Li S, Gu Y, Meng B, Mei B, Li F (2010a) The different effects of over-expressing murine NMDA receptor 2B subunit in the forebrain on conditioned taste aversion. *Brain Res* 1351:165–171.
- Li Y, Zhang X, Liu H, Cao Z, Chen S, Cao B, Liu J (2012) Phosphorylated CaMKII post-synaptic binding to NR2B subunits in the anterior cingulate cortex mediates visceral pain in visceral hypersensitive rats. *J Neurochem* 121:662–671.
- Li Z, Jo J, Jia JM, Lo SC, Whitcomb DJ, Jiao S, Cho K, Sheng M (2010b) Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization. *Cell* 141:859–871.
- Liao D, Hessler NA, Malinow R (1995) Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* 375:400–404.

- Ling DS, Benardo LS, Sacktor TC (2006) Protein kinase Mzeta enhances excitatory synaptic transmission by increasing the number of active postsynaptic AMPA receptors. *Hippocampus* 16:443–452.
- Ling DS, Benardo LS, Serrano PA, Blace N, Kelly MT, Crary JF, Sacktor TC (2002) Protein kinase Mzeta is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat Neurosci* 5:295–296.
- Lipton PA, Alvarez P, Eichenbaum H (1999) Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* 22:349–359.
- Lisman J (1989) A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:9574–9578.
- Lisman J, Grace AA, Duzel E (2011) A neoHebbian framework for episodic memory; role of dopamine-dependent late LTP. *Trends Neurosci* 34:536–547.
- Lisman J, Schulman H, Cline H (2002) The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 3:175–190.
- Lisman J, Yasuda R, Raghavachari S (2012) Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nat Rev Neurosci* 13:169–182.
- Lisman JE, Grace AA (2005) The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 46:703–713.
- Liu HN, Kurotani T, Ren M, Yamada K, Yoshimura Y, Komatsu Y (2004) Presynaptic activity and Ca²⁺ entry are required for the maintenance of NMDA receptor-independent LTP at visual cortical excitatory synapses. *J Neurophysiol* 92:1077–1087.
- Liu X, Ramirez S, Pang PT, Puryear CB, Govindarajan A, Deisseroth K, Tonegawa S (2012) Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* 484:381–385.
- Lledo PM, Hjelmstad GO, Mukherji S, Soderling TR, Malenka RC, Nicoll RA (1995) Calcium/calmodulin-dependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:11175–11179.
- Loeblich S, Nedivi E (2009) The function of activity-regulated genes in the nervous system. *Physiol Rev* 89:1079–1103.
- Lopez de Armentia M, Sah P (2003) Development and subunit composition of synaptic NMDA receptors in the amygdala: NR2B synapses in the adult central amygdala. *J Neurosci* 23:6876–6883.
- Losonczy A, Makara JK, Magee JC (2008) Compartmentalized dendritic plasticity and input feature storage in neurons. *Nature* 452:436–441.
- Lu HC, Gonzalez E, Crair MC (2001) Barrel cortex critical period plasticity is independent of changes in NMDA receptor subunit composition. *Neuron* 32:619–634.
- Lucchesi W, Mizuno K, Giese KP (2011) Novel insights into CaMKII function and regulation during memory formation. *Brain Res Bull* 85:2–8.
- Luo J, Wang Y, Yasuda RP, Dunah AW, Wolfe BB (1997) The majority of N-methyl-D-aspartate receptor complexes in adult rat cerebral cortex contain at least three different subunits (NR1/NR2A/NR2B). *Mol Pharmacol* 51:79–86.
- Lüscher C, Frerking M (2001) Restless AMPA receptors: implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends Neurosci* 24:665–670.
- Lüscher C, Malenka RC (2012) NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4.
- Lüscher C, Nicoll RA, Malenka RC, Muller D (2000) Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane. *Nat Neurosci* 3:545–550.
- Lüscher C, Xia H, Beattie EC, Carroll RC, von Zastrow M, Malenka RC, Nicoll RA (1999) Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity. *Neuron* 24:649–658.
- Lynch G, Larson J, Kelso S, Barrionuevo G, Schottler F (1983) Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 305:719–721.
- Magee JC, Johnston D (1997) A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science* 275:209–213.
- Magnusson KR, Brim BL, Das SR (2010) Selective Vulnerabilities of N-methyl-D-aspartate (NMDA) Receptors During Brain Aging. *Front Aging Neurosci* 2:11.
- Malenka RC (1994) Synaptic plasticity. Mucking up movements. *Nature* 372:218–219.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5–21.
- Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation—a decade of progress? *Science* 285:1870–1874.
- Malinow R (2012) New developments on the role of NMDA receptors in Alzheimer’s disease. *Curr Opin Neurobiol* 22:559–563.
- Malinow R, Malenka RC (2002) AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 25:103–126.
- Manahan-Vaughan D, Braunewell KH (1999) Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:8739–8744.
- Manns JR, Eichenbaum H (2006) Evolution of declarative memory. *Hippocampus* 16:795–808.
- Mansuy IM, Shenolikar S (2006) Protein serine/threonine phosphatases in neuronal plasticity and disorders of learning and memory. *Trends Neurosci* 29:679–686.
- Maquet P, Laureys S, Peigneux P, Fuchs S, Petiau C, Phillips C, Aerts J, Del Fiore G, Degueldre C, Meulemans T, Luxen A, Franck G, Van Der Linden M, Smith C, Cleeremans A (2000) Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat Neurosci* 3:831–836.

- Maren S, Fanselow MS (1996) The amygdala and fear conditioning: has the nut been cracked? *Neuron* 16:237–240.
- Marie H, Morishita W, Yu X, Calakos N, Malenka RC (2005) Generation of silent synapses by acute in vivo expression of CaMKIV and CREB. *Neuron* 45:741–752.
- Marr D (1970) A theory for cerebral neocortex. *Proc R Soc Lond, B, Biol Sci* 176:161–234.
- Marr D (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 262:23–81.
- Martin KC, Kosik KS (2002) Synaptic tagging -- who's it? *Nat Rev Neurosci* 3:813–820.
- Martin SJ, de Hoz L, Morris RG (2005) Retrograde amnesia: neither partial nor complete hippocampal lesions in rats result in preferential sparing of remote spatial memory, even after reminding. *Neuropsychologia* 43:609–624.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649–711.
- Massey PV, Bashir ZI (2007) Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci* 30:176–184.
- Matsumura S, Kunori S, Mabuchi T, Katano T, Nakazawa T, Abe T, Watanabe M, Yamamoto T, Okuda-Ashitaka E, Ito S (2010) Impairment of CaMKII activation and attenuation of neuropathic pain in mice lacking NR2B phosphorylated at Tyr1472. *Eur J Neurosci* 32:798–810.
- Matsuo N (2015) Irreplaceability of Neuronal Ensembles after Memory Allocation. *Cell Rep* 11:351–357.
- Matsuo N, Reijmers L, Mayford M (2008) Spine-type-specific recruitment of newly synthesized AMPA receptors with learning. *Science* 319:1104–1107.
- Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H (2004) Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 429:761–766.
- Matta JA, Ashby MC, Sanz-Clemente A, Roche KW, Isaac JT (2011) mGluR5 and NMDA receptors drive the experience- and activity-dependent NMDA receptor NR2B to NR2A subunit switch. *Neuron* 70:339–351.
- Mauceri D, Gardoni F, Marcello E, Di Luca M (2007) Dual role of CaMKII-dependent SAP97 phosphorylation in mediating trafficking and insertion of NMDA receptor subunit NR2A. *J Neurochem* 100:1032–1046.
- Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, Bontempi B (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science* 305:96–99.
- Mayford M, Bach ME, Kandel E (1996) CaMKII function in the nervous system explored from a genetic perspective. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 61:219–224.
- McClelland JL (2013) Incorporating rapid neocortical learning of new schema-consistent information into complementary learning systems theory. *J Exp Psychol Gen* 142:1190–1210.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC (1995) Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 102:419–457.
- McCormack SG, Stornetta RL, Zhu JJ (2006) Synaptic AMPA receptor exchange maintains bidirectional plasticity. *Neuron* 50:75–88.
- McDonald RJ, Devan BD, Hong NS (2004a) Multiple memory systems: the power of interactions. *Neurobiol Learn Mem* 82:333–346.
- McDonald RJ, Hong NS, Devan BD (2004b) The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: an interactive learning and memory systems approach. *Neurosci Biobehav Rev* 28:719–745.
- McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA (1996) Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. *Cell* 87:1339–1349.
- Medina AE, Liao DS, Mower AF, Ramoa AS (2001) Do NMDA receptor kinetics regulate the end of critical periods of plasticity? *Neuron* 32:553–555.
- Melnikova T, Fromholt S, Kim H, Lee D, Xu G, Price A, Moore BD, Golde TE, Felsenstein KM, Savonenko A, Borchelt DR (2013) Reversible pathologic and cognitive phenotypes in an inducible model of Alzheimer-amyloidosis. *J Neurosci* 33:3765–3779.
- Merhav M, Karni A, Gilboa A (2014) Neocortical catastrophic interference in healthy and amnesic adults: a paradoxical matter of time. *Hippocampus* 24:1653–1662.
- Merhav M, Karni A, Gilboa A (2015) Not all declarative memories are created equal: Fast Mapping as a direct route to cortical declarative representations. *Neuroimage* 117:80–92.
- Michaluk P, Mikasova L, Groc L, Frischknecht R, Choquet D, Kaczmarek L (2009) Matrix metalloproteinase-9 controls NMDA receptor surface diffusion through integrin beta1 signaling. *J Neurosci* 29:6007–6012.
- Migaud M, Charlesworth P, Dempster M, Webster LC, Watabe AM, Makhinson M, He Y, Ramsay MF, Morris RG, Morrison JH, O'Dell TJ, Grant SG (1998) Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein. *Nature* 396:433–439.
- Migues PV, Hardt O, Wu DC, Gamache K, Sacktor TC, Wang YT, Nader K (2010) PKMzeta maintains memories by regulating GluR2-dependent AMPA receptor trafficking. *Nat Neurosci* 13:630–634.
- Mikasova L, De Rossi P, Bouchet D, Georges F, Rogemond V, Didelot A, Meissirel C, Honnorat J, Groc L (2012) Disrupted surface cross-talk between NMDA and Ephrin-B2 receptors in anti-NMDA encephalitis. *Brain* 135:1606–1621.
- Miller EK (1999) The prefrontal cortex: complex neural properties for complex behavior. *Neuron* 22:15–17.
- Miller SG, Kennedy MB (1986) Regulation of brain type II Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase by autophosphorylation: a Ca²⁺-triggered molecular switch. *Cell* 44:861–870.

- Milnerwood AJ, Gladding CM, Pouladi MA, Kaufman AM, Hines RM, Boyd JD, Ko RW, Vasuta OC, Graham RK, Hayden MR, Murphy TH, Raymond LA (2010) Early increase in extrasynaptic NMDA receptor signaling and expression contributes to phenotype onset in Huntington's disease mice. *Neuron* 65:178–190.
- Milton AL, Merlo E, Ratano P, Gregory BL, Dumbreck JK, Everitt BJ (2013) Double dissociation of the requirement for GluN2B- and GluN2A-containing NMDA receptors in the destabilization and restabilization of a reconsolidating memory. *J Neurosci* 33:1109–1115.
- Miyashita Y (2004) Cognitive memory: cellular and network machineries and their top-down control. *Science* 306:435–440.
- Mony L, Zhu S, Carvalho S, Paoletti P (2011) Molecular basis of positive allosteric modulation of GluN2B NMDA receptors by polyamines. *EMBO J* 30:3134–3146.
- Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH (1994) Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 12:529–540.
- Morris RG (2013) NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology* 74:32–40.
- Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319:774–776.
- Morris RG, Frey U (1997) Hippocampal synaptic plasticity: role in spatial learning or the automatic recording of attended experience? *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 352:1489–1503.
- Morris RGM, Hitch GJ, Graham K, Bussey T (2006) Learning and memory. In: *Cognitive Systems: Information Processing Meets Brain Science* (Morris R, Tarassenka L, Kenward M, eds), pp 193–235. San Diego (CA): Elsevier Academic Press.
- Moscato EH, Jain A, Peng X, Hughes EG, Dalmau J, Balice-Gordon RJ (2010) Mechanisms underlying autoimmune synaptic encephalitis leading to disorders of memory, behavior and cognition: insights from molecular, cellular and synaptic studies. *Eur J Neurosci* 32:298–309.
- Moscovitch M, Nadel L (1998) Consolidation and the hippocampal complex revisited: in defense of the multiple-trace model. *Curr Opin Neurobiol* 8:297–300.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:179–190.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, Grady C, McAndrews MP, Levine B, Black S, Winocur G, Nadel L (2005) Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J Anat* 207:35–66.
- Mulkey RM, Endo S, Shenolikar S, Malenka RC (1994) Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 369:486–488.
- Mulkey RM, Herron CE, Malenka RC (1993) An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 261:1051–1055.
- Mullally SL, Maguire EA (2014) Counterfactual thinking in patients with amnesia. *Hippocampus* 24:1261–1266.
- Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY, Malinow R (2014) Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511:348–352.
- Nadal JP, Toulouse G, Changeux JP, Dehaene S (1986) Networks of formal neurons and memory palimpsests. *Europhys Lett* 1:535–542.
- Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7:217–227.
- Nader K, Hardt O (2009) A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 10:224–234.
- Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722–726.
- Nägerl UV, Eberhorn N, Cambridge SB, Bonhoeffer T (2004) Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 44:759–767.
- Nase G, Weishaupt J, Stern P, Singer W, Monyer H (1999) Genetic and epigenetic regulation of NMDA receptor expression in the rat visual cortex. *Eur J Neurosci* 11:4320–4326.
- Neves G, Cooke SF, Bliss TV (2008) Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci* 9:65–75.
- Nevian T, Sakmann B (2006) Spine Ca²⁺ signaling in spike-timing-dependent plasticity. *J Neurosci* 26:11001–11013.
- Nguyen PV, Abel T, Kandel ER (1994) Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science* 265:1104–1107.
- Nozaki C, Vergnano AM, Filliol D, Ouagazzal AM, Le Goff A, Carvalho S, Reiss D, Gaveriaux-Ruff C, Neyton J, Paoletti P, Kieffer BL (2011) Zinc alleviates pain through high-affinity binding to the NMDA receptor NR2A subunit. *Nat Neurosci* 14:1017–1022.
- O'Carroll CM, Martin SJ, Sandin J, Frenguelli B, Morris RG (2006) Dopaminergic modulation of the persistence of one-trial hippocampus-dependent memory. *Learn Mem* 13:760–769.
- O'Carroll CM, Morris RG (2004) Heterosynaptic co-activation of glutamatergic and dopaminergic afferents is required to induce persistent long-term potentiation. *Neuropharmacology* 47:324–332.
- O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34:171–175.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map* (Nadel and O'Keefe, ed). Oxford: Oxford University Press.
- O'Reilly RC, Norman KA (2002) Hippocampal and neocortical contributions to memory: advances in the complementary learning systems framework. *Trends Cogn Sci (Regul Ed)* 6:505–510.

- Ohkawa N, Saitoh Y, Suzuki A, Tsujimura S, Murayama E, Kosugi S, Nishizono H, Matsuo M, Takahashi Y, Nagase M, Sugimura YK, Watabe AM, Kato F, Inokuchi K (2015) Artificial association of pre-stored information to generate a qualitatively new memory. *Cell Rep* 11:261–269.
- Olshausen BA, Field DJ (2004) Sparse coding of sensory inputs. *Curr Opin Neurobiol* 14:481–487.
- Otani S, Abraham WC (1989) Inhibition of protein synthesis in the dentate gyrus, but not the entorhinal cortex, blocks maintenance of long-term potentiation in rats. *Neurosci Lett* 106:175–180.
- Otmakhov N, Griffith LC, Lisman JE (1997) Postsynaptic inhibitors of calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II block induction but not maintenance of pairing-induced long-term potentiation. *J Neurosci* 17:5357–5365.
- Paoletti P (2011) Molecular basis of NMDA receptor functional diversity. *Eur J Neurosci* 33:1351–1365.
- Paoletti P, Ascher P, Neyton J (1997) High-affinity zinc inhibition of NMDA NR1-NR2A receptors. *J Neurosci* 17:5711–5725.
- Paoletti P, Bellone C, Zhou Q (2013) NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci* 14:383–400.
- Park S, Lee S, Kim J, Choi S (2012) Ex vivo depotentiation of conditioning-induced potentiation at thalamic input synapses onto the lateral amygdala requires GluN2B-containing NMDA receptors. *Neurosci Lett* 530:121–126.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC (2006) Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 313:1141–1144.
- Patterson MA, Szatmari EM, Yasuda R (2010) AMPA receptors are exocytosed in stimulated spines and adjacent dendrites in a Ras-ERK-dependent manner during long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:15951–15956.
- Pavlopoulos E, Trifilieff P, Chevalerey V, Fioriti L, Zairis S, Pagano A, Malleret G, Kandel ER (2011) Neuralized1 activates CPEB3: a function for nonproteolytic ubiquitin in synaptic plasticity and memory storage. *Cell* 147:1369–1383.
- Penfield W (1958) Some mechanisms of consciousness discovered during electrical stimulation of the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 44:51–66.
- Peng Y, Zhao J, Gu QH, Chen RQ, Xu Z, Yan JZ, Wang SH, Liu SY, Chen Z, Lu W (2010) Distinct trafficking and expression mechanisms underlie LTP and LTD of NMDA receptor-mediated synaptic responses. *Hippocampus* 20:646–658.
- Pereda AE, Bell TD, Chang BH, Czernik AJ, Nairn AC, Soderling TR, Faber DS (1998) Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II mediates simultaneous enhancement of gap-junctional conductance and glutamatergic transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:13272–13277.
- Pérez-Otaño I, Ehlers MD (2005) Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci* 28:229–238.
- Petralia RS, Wang YX, Wenthold RJ (2003) Internalization at glutamatergic synapses during development. *Eur J Neurosci* 18:3207–3217.
- Philpot BD, Bear MF, Abraham WC (1999) Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. In: *Beyond Neurotransmission: Neuromodulation and its importance for information flow.* (Katz PS, ed). Oxford (UK): Oxford University Press.
- Philpot BD, Weisberg MP, Ramos MS, Sawtell NB, Tang YP, Tsien JZ, Bear MF (2001) Effect of transgenic overexpression of NR2B on NMDA receptor function and synaptic plasticity in visual cortex. *Neuropharmacology* 41:762–770.
- Philpot BD, Zukin RS (2010) Synapse-specific metaplasticity: to be silenced is not to silence 2B. *Neuron* 66:814–816.
- Pi HJ, Otmakhov N, Lemelin D, De Koninck P, Lisman J (2010) Autonomous CaMKII can promote either long-term potentiation or long-term depression, depending on the state of T305/T306 phosphorylation. *J Neurosci* 30:8704–8709.
- Poldrack RA, Packard MG (2003) Competition among multiple memory systems: converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia* 41:245–251.
- Potier M, Georges F, Brayda-Bruno L, Ladépêche L, Lamothe V, Al Abed AS, Groc L, Marighetto A (2015) Temporal Memory and Its Enhancement by Estradiol Requires Surface Dynamics of Hippocampal CA1 N-Methyl-D-Aspartate Receptors. *Biol Psychiatry*.
- Price JL (2007) Definition of the orbital cortex in relation to specific connections with limbic and visceral structures and other cortical regions. *Ann N Y Acad Sci* 1121:54–71.
- Prybylowski K, Chang K, Sans N, Kan L, Vicini S, Wenthold RJ (2005) The synaptic localization of NR2B-containing NMDA receptors is controlled by interactions with PDZ proteins and AP-2. *Neuron* 47:845–857.
- Prybylowski K, Fu Z, Losi G, Hawkins LM, Luo J, Chang K, Wenthold RJ, Vicini S (2002) Relationship between availability of NMDA receptor subunits and their expression at the synapse. *J Neurosci* 22:8902–8910.
- Quinlan EM, Lebel D, Brosh I, Barkai E (2004) A molecular mechanism for stabilization of learning-induced synaptic modifications. *Neuron* 41:185–192.
- Quinlan EM, Philpot BD, Hugarir RL, Bear MF (1999) Rapid, experience-dependent expression of synaptic NMDA receptors in visual cortex in vivo. *Nat Neurosci* 2:352–357.
- Quiroga RQ, Kreiman G, Koch C, Fried I (2008) Sparse but not “grandmother-cell” coding in the medial temporal lobe. *Trends Cogn Sci (Regul Ed)* 12:87–91.
- Racine RJ, Chapman CA, Trepel C, Teskey GC, Milgram NW (1995) Post-activation potentiation in the neocortex. IV. Multiple sessions required for induction of long-term potentiation in the chronic preparation. *Brain Res* 702:87–93.
- Racine RJ, Milgram NW, Hafner S (1983) Long-term potentiation phenomena in the rat limbic forebrain. *Brain Res* 260:217–231.
- Rajasethupathy P, Sankaran S, Marshel JH, Kim CK, Ferenczi E, Lee SY, Berndt A, Ramakrishnan C, Jaffe A, Lo M, Liston C, Deisseroth K (2015) Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature* 526:653–659.
- Ramirez S, Liu X, Lin PA, Suh J, Pignatelli M, Redondo RL, Ryan TJ, Tonegawa S (2013) Creating a false memory in the hippocampus. *Science* 341:387–391.

- Ramón y Cajal S (1894) The Croonian lecture: la fine structure des centres nerveux. *Proceedings of the Royal Society of London* 55:444–467.
- Rampon C, Tang YP, Goodhouse J, Shimizu E, Kyin M, Tsien JZ (2000) Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat Neurosci* 33:238–244.
- Ramus SJ, Eichenbaum H (2000) Neural correlates of olfactory recognition memory in the rat orbitofrontal cortex. *J Neurosci* 20:8199–8208.
- Rauner C, Köhr G (2011) Triheteromeric NR1/NR2A/NR2B receptors constitute the major N-methyl-D-aspartate receptor population in adult hippocampal synapses. *J Biol Chem* 286:7558–7566.
- Redondo RL, Kim J, Arons AL, Ramirez S, Liu X, Tonegawa S (2014) Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram. *Nature* 513:426–430.
- Redondo RL, Morris RG (2011) Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nat Rev Neurosci* 12:17–30.
- Reijmers LG, Perkins BL, Matsuo N, Mayford M (2007) Localization of a stable neural correlate of associative memory. *Science* 317:1230–1233.
- Restivo L, Vetere G, Bontempi B, Ammassari-Teule M (2009) The formation of recent and remote memory is associated with time-dependent formation of dendritic spines in the hippocampus and anterior cingulate cortex. *J Neurosci* 29:8206–8214.
- Ribeiro S, Gervasoni D, Soares ES, Zhou Y, Lin SC, Pantoja J, Lavine M, Nicolelis MA (2004) Long-lasting novelty-induced neuronal reverberation during slow-wave sleep in multiple forebrain areas. *PLoS Biol* 2:E24.
- Ribot TA (1881) LA MÉMOIRE ET SES MALADIES SELON THÉODORE RIBOT (Nicolas S, ed), Acteur de la science. Paris (France): Harmattan.
- Riedel G, Platt B, Micheau J (2003) Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res* 140:1–47.
- Riout-Pedotti MS, Friedman D, Donoghue JP (2000) Learning-induced LTP in neocortex. *Science* 290:533–536.
- Roberts EB, Ramoa AS (1999) Enhanced NR2A subunit expression and decreased NMDA receptor decay time at the onset of ocular dominance plasticity in the ferret. *J Neurophysiol* 81:2587–2591.
- Robison AJ, Bartlett RK, Bass MA, Colbran RJ (2005) Differential modulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II activity by regulated interactions with N-methyl-D-aspartate receptor NR2B subunits and alpha-actinin. *J Biol Chem* 280:39316–39323.
- Rodenas-Ruano A, Chávez AE, Cossio MJ, Castillo PE, Zukin RS (2012) REST-dependent epigenetic remodeling promotes the developmental switch in synaptic NMDA receptors. *Nat Neurosci* 15:1382–1390.
- Rodríguez-Durán LF, Castillo DV, Moguel-González M, Escobar ML (2011) Conditioned taste aversion modifies persistently the subsequent induction of neocortical long-term potentiation in vivo. *Neurobiol Learn Mem* 95:519–526.
- Rogan MT, Leon KS, Perez DL, Kandel ER (2005) Distinct neural signatures for safety and danger in the amygdala and striatum of the mouse. *Neuron* 46:309–320.
- Rogan MT, Stäubli UV, LeDoux JE (1997) Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390:604–607.
- Rogerson T, Cai DJ, Frank A, Sano Y, Shobe J, Lopez-Aranda MF, Silva AJ (2014) Synaptic tagging during memory allocation. *Nat Rev Neurosci* 15:157–169.
- Rolls ET (1996) A theory of hippocampal function in memory. *Hippocampus* 6:601–620.
- Rolls ET, Kesner RP (2006) A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Prog Neurobiol* 79:1–48.
- Röncke R, Mikhaylova M, Röncke S, Meinhardt J, Schröder UH, Fändrich M, Reiser G, Kreutz MR, Reymann KG (2011) Early neuronal dysfunction by amyloid β oligomers depends on activation of NR2B-containing NMDA receptors. *Neurobiol Aging* 32:2219–2228.
- Rosenbaum RS, Köhler S, Schacter DL, Moscovitch M, Westmacott R, Black SE, Gao F, Tulving E (2005) The case of K.C.: contributions of a memory-impaired person to memory theory. *Neuropsychologia* 43:989–1021.
- Rosenbaum RS, Priselac S, Köhler S, Black SE, Gao F, Nadel L, Moscovitch M (2000) Remote spatial memory in an amnesic person with extensive bilateral hippocampal lesions. *Nat Neurosci* 3:1044–1048.
- Rosenbaum RS, Winocur G, Moscovitch M (2001) New views on old memories: re-evaluating the role of the hippocampal complex. *Behav Brain Res* 127:183–197.
- Ross RS, Eichenbaum H (2006) Dynamics of hippocampal and cortical activation during consolidation of a nonspatial memory. *J Neurosci* 26:4852–4859.
- Ross RS, McGaughy J, Eichenbaum H (2005) Acetylcholine in the orbitofrontal cortex is necessary for the acquisition of a socially transmitted food preference. *Learn Mem* 12:302–306.
- Rossato JI, Bevilacqua LR, Izquierdo I, Medina JH, Cammarota M (2009) Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science* 325:1017–1020.
- Rotenberg A, Mayford M, Hawkins RD, Kandel ER, Muller RU (1996) Mice expressing activated CaMKII lack low frequency LTP and do not form stable place cells in the CA1 region of the hippocampus. *Cell* 87:1351–1361.
- Rumbaugh G, Prybylowski K, Wang JF, Vicini S (2000) Exon 5 and spermine regulate deactivation of NMDA receptor subtypes. *J Neurophysiol* 83:1300–1306.
- Rumpel S, LeDoux J, Zador A, Malinow R (2005) Postsynaptic receptor trafficking underlying a form of associative learning. *Science* 308:83–88.

- Ryan TJ, Roy DS, Pignatelli M, Arons A, Tonegawa S (2015) Memory. Engram cells retain memory under retrograde amnesia. *Science* 348:1007–1013.
- Sacchetti B, Baldi E, Lorenzini CA, Bucherelli C (2002) Differential contribution of some cortical sites to the formation of memory traces supporting fear conditioning. *Exp Brain Res* 146:223–232.
- Sacktor TC (2011) How does PKM ζ maintain long-term memory? *Nat Rev Neurosci* 12:9–15.
- Sah P, Lopez De Armentia M (2003) Excitatory synaptic transmission in the lateral and central amygdala. *Ann N Y Acad Sci* 985:67–77.
- Sakimura K, Kutsuwada T, Ito I, Manabe T, Takayama C, Kushiya E, Yagi T, Aizawa S, Inoue Y, Sugiyama H (1995) Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit. *Nature* 373:151–155.
- Salter MW, Kalia LV (2004) Src kinases: a hub for NMDA receptor regulation. *Nat Rev Neurosci* 5:317–328.
- Sanders MJ, Fanselow MS (2003) Pre-training prevents context fear conditioning deficits produced by hippocampal NMDA receptor blockade. *Neurobiol Learn Mem* 80:123–129.
- Sanhueza M, Fernandez-Villalobos G, Stein IS, Kasumova G, Zhang P, Bayer KU, Otmakhov N, Hell JW, Lisman J (2011) Role of the CaMKII/NMDA receptor complex in the maintenance of synaptic strength. *J Neurosci* 31:9170–9178.
- Sanhueza M, Lisman J (2013) The CaMKII/NMDAR complex as a molecular memory. *Mol Brain* 6:10.
- Sans N, Petralia RS, Wang YX, Blahos J, Hell JW, Wenthold RJ (2000) A developmental change in NMDA receptor-associated proteins at hippocampal synapses. *J Neurosci* 20:1260–1271.
- Sans N, Prybylowski K, Petralia RS, Chang K, Wang YX, Racca C, Vicini S, Wenthold RJ (2003) NMDA receptor trafficking through an interaction between PDZ proteins and the excocyt complex. *Nat Cell Biol* 5:520–530.
- Sans N, Wang PY, Du Q, Petralia RS, Wang YX, Nakka S, Blumer JB, Macara IG, Wenthold RJ (2005) mPins modulates PSD-95 and SAP102 trafficking and influences NMDA receptor surface expression. *Nat Cell Biol* 7:1179–1190.
- Sanz-Clemente A, Gray JA, Ogilvie KA, Nicoll RA, Roche KW (2013a) Activated CaMKII couples GluN2B and casein kinase 2 to control synaptic NMDA receptors. *Cell Rep* 3:607–614.
- Sanz-Clemente A, Matta JA, Isaac JT, Roche KW (2010) Casein kinase 2 regulates the NR2 subunit composition of synaptic NMDA receptors. *Neuron* 67:984–996.
- Sanz-Clemente A, Nicoll RA, Roche KW (2013b) Diversity in NMDA receptor composition: many regulators, many consequences. *Neuroscientist* 19:62–75.
- Saucier D, Cain DP (1995) Spatial learning without NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Nature* 378:186–189.
- Saucier D, Cain DP (1996) Competitive NMDA receptor antagonists do not block cholinergic kindling with carbachol. *Epilepsy Res* 24:9–18.
- Sawtell NB, Frenkel MY, Philpot BD, Nakazawa K, Tonegawa S, Bear MF (2003) NMDA receptor-dependent ocular dominance plasticity in adult visual cortex. *Neuron* 38:977–985.
- Schacter DL, Eich JE, Tulving E (1978) Richard Semon's theory of memory. *Journal of verbal learning and verbal behavior* 17:721–743.
- Schmeisser MJ et al. (2012) Autistic-like behaviours and hyperactivity in mice lacking ProSAP1/Shank2. *Nature* 486:256–260.
- Schoenbaum G, Eichenbaum H (1995a) Information coding in the rodent prefrontal cortex. I. Single-neuron activity in orbitofrontal cortex compared with that in pyriform cortex. *J Neurophysiol* 74:733–750.
- Schoenbaum G, Eichenbaum H (1995b) Information coding in the rodent prefrontal cortex. II. Ensemble activity in orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* 74:751–762.
- Schroeder BW, Shinnick-Gallagher P (2005) Fear learning induces persistent facilitation of amygdala synaptic transmission. *Eur J Neurosci* 22:1775–1783.
- Scott DB, Michailidis I, Mu Y, Logothetis D, Ehlers MD (2004) Endocytosis and degradative sorting of NMDA receptors by conserved membrane-proximal signals. *J Neurosci* 24:7096–7109.
- Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 20:11–21.
- Selkoe DJ (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 298:789–791.
- Semon R (1923) *Mnemonic Psychology* (Allen and Unwin G, ed). London: Unwin Brothers limited.
- Sepulveda FJ, Bustos FJ, Inostroza E, Zúñiga FA, Neve RL, Montecino M, van Zundert B (2010) Differential roles of NMDA Receptor Subtypes NR2A and NR2B in dendritic branch development and requirement of RasGRF1. *J Neurophysiol* 103:1758–1770.
- Serrano P, Friedman EL, Kenney J, Taubenfeld SM, Zimmerman JM, Hanna J, Alberini C, Kelley AE, Maren S, Rudy JW, Yin JC, Sacktor TC, Fenton AA (2008) PKMzeta maintains spatial, instrumental, and classically conditioned long-term memories. *PLoS Biol* 6:2698–2706.
- Sharon T, Moscovitch M, Gilboa A (2011) Rapid neocortical acquisition of long-term arbitrary associations independent of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:1146–1151.
- Shema R, Haramati S, Ron S, Hazvi S, Chen A, Sacktor TC, Dudai Y (2011) Enhancement of consolidated long-term memory by overexpression of protein kinase Mzeta in the neocortex. *Science* 331:1207–1210.
- Shema R, Sacktor TC, Dudai Y (2007) Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science* 317:951–953.
- Shen K, Meyer T (1999) Dynamic control of CaMKII translocation and localization in hippocampal neurons by NMDA receptor stimulation. *Science* 284:162–166.

- Shen K, Teruel MN, Subramanian K, Meyer T (1998) CaMKII β functions as an F-actin targeting module that localizes CaMKII α / β heterooligomers to dendritic spines. *Neuron* 21:593–606.
- Sheng M, Cummings J, Roldan LA, Jan YN, Jan LY (1994) Changing subunit composition of heteromeric NMDA receptors during development of rat cortex. *Nature* 368:144–147.
- Shimizu E, Tang YP, Rampon C, Tsien JZ (2000) NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* 290:1170–1174.
- Shinohara Y, Hirase H, Watanabe M, Itakura M, Takahashi M, Shigemoto R (2008) Left-right asymmetry of the hippocampal synapses with differential subunit allocation of glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:19498–19503.
- Shonesy BC, Jalan-Sakrikar N, Cavener VS, Colbran RJ (2014) CaMKII: a molecular substrate for synaptic plasticity and memory. *Prog Mol Biol Transl Sci* 122:61–87.
- Si K, Giustetto M, Etkin A, Hsu R, Janisiewicz AM, Miniaci MC, Kim JH, Zhu H, Kandel ER (2003) A neuronal isoform of CPEB regulates local protein synthesis and stabilizes synapse-specific long-term facilitation in aplysia. *Cell* 115:893–904.
- Siegler Retchless B, Gao W, Johnson JW (2012) A single GluN2 subunit residue controls NMDA receptor channel properties via intersubunit interaction. *Nat Neurosci* 15:406–13, S1.
- Sierra-Mercado D, McAllister LM, Lee CC, Milad MR, Eskandar EN, Whalen MJ (2015) Controlled cortical impact before or after fear conditioning does not affect fear extinction in mice. *Brain Res* 1606:133–141.
- Silva AJ, Zhou Y, Rogerson T, Shobe J, Balaji J (2009) Molecular and cellular approaches to memory allocation in neural circuits. *Science* 326:391–395.
- Singh TD, Heinrich JE, Wissman AM, Brenowitz EA, Nordeen EJ, Nordeen KW (2003) Seasonal regulation of NMDA receptor NR2B mRNA in the adult canary song system. *J Neurobiol* 54:593–603.
- Slutsky I, Abumaria N, Wu LJ, Huang C, Zhang L, Li B, Zhao X, Govindarajan A, Zhao MG, Zhuo M, Tonegawa S, Liu G (2010) Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *Neuron* 65:165–177.
- Smith CN, Frascino JC, Kripke DL, McHugh PR, Treisman GJ, Squire LR (2010) Losing memories overnight: a unique form of human amnesia. *Neuropsychologia* 48:2833–2840.
- Smith CN, Squire LR (2009) Medial temporal lobe activity during retrieval of semantic memory is related to the age of the memory. *J Neurosci* 29:930–938.
- Smith DM, Bulkin DA (2014) The form and function of hippocampal context representations. *Neurosci Biobehav Rev* 40:52–61.
- Smith WB, Starck SR, Roberts RW, Schuman EM (2005) Dopaminergic stimulation of local protein synthesis enhances surface expression of GluR1 and synaptic transmission in hippocampal neurons. *Neuron* 45:765–779.
- Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P (2005) Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- β . *Nat Neurosci* 8:1051–1058.
- Sobczyk A, Scheuss V, Svoboda K (2005) NMDA receptor subunit-dependent [Ca²⁺] signaling in individual hippocampal dendritic spines. *J Neurosci* 25:6037–6046.
- Sotres-Bayon F, Bush DE, LeDoux JE (2007) Acquisition of fear extinction requires activation of NR2B-containing NMDA receptors in the lateral amygdala. *Neuropsychopharmacology* 32:1929–1940.
- Sparks FT, Lehmann H, Hernandez K, Sutherland RJ (2011) Suppression of neurotoxic lesion-induced seizure activity: evidence for a permanent role for the hippocampus in contextual memory. *PLoS ONE* 6:e27426.
- Sporns O, Tononi G, Edelman GM (2000) Connectivity and complexity: the relationship between neuroanatomy and brain dynamics. *Neural Netw* 13:909–922.
- Sprengel R et al. (1998) Importance of the intracellular domain of NR2 subunits for NMDA receptor function in vivo. *Cell* 92:279–289.
- Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 99:195–231.
- Squire LR (2004) Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82:171–177.
- Squire LR (2009) The legacy of patient H.M. for neuroscience. *Neuron* 61:6–9.
- Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5:169–177.
- Squire LR, Bayley PJ (2007) The neuroscience of remote memory. *Curr Opin Neurobiol* 17:185–196.
- Squire LR, Genzel L, Wixted JT, Morris RG (2015) Memory consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a021766.
- Squire LR, Haist F, Shimamura AP (1989) The neurology of memory: quantitative assessment of retrograde amnesia in two groups of amnesic patients. *J Neurosci* 9:828–839.
- Squire LR, Schmolck H, Stark SM (2001) Impaired auditory recognition memory in amnesic patients with medial temporal lobe lesions. *Learn Mem* 8:252–256.
- Squire LR, Stark CE, Clark RE (2004) The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci* 27:279–306.
- Squire LR, Zola SM (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:13515–13522.
- Staubli U, Lynch G (1987) Stable hippocampal long-term potentiation elicited by “theta” pattern stimulation. *Brain Res* 435:227–234.
- Stefanacci L, Buffalo EA, Schmolck H, Squire LR (2000) Profound amnesia after damage to the medial temporal lobe: A neuroanatomical and neuropsychological profile of patient E. P. *J Neurosci* 20:7024–7036.
- Stein IS, Donaldson MS, Hell JW (2014) CaMKII binding to GluN2B is important for massed spatial learning in the Morris water maze. [version 1; referees: 3 approved]. *F1000Res* 3:193.

- Stevens CF (1998) A million dollar question: does LTP = memory? *Neuron* 20:1–2.
- Strack S, Colbran RJ (1998) Autophosphorylation-dependent targeting of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II by the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor. *J Biol Chem* 273:20689–20692.
- Strack S, McNeill RB, Colbran RJ (2000) Mechanism and regulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II targeting to the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor. *J Biol Chem* 275:23798–23806.
- Sun L, Shipley MT, Lidow MS (2000) Expression of NR1, NR2A-D, and NR3 subunits of the NMDA receptor in the cerebral cortex and olfactory bulb of adult rat. *Synapse* 35:212–221.
- Sun Y, Cheng X, Zhang L, Hu J, Chen Y, Zhan L, Gao Z (2016) The Functional and Molecular Properties, Physiological Functions, and Pathophysiological Roles of GluN2A in the Central Nervous System. *Mol Neurobiol*.
- Sutherland GR, McNaughton B (2000) Memory trace reactivation in hippocampal and neocortical neuronal ensembles. *Curr Opin Neurobiol* 10:180–186.
- Sutherland RJ, Lehmann H (2011) Alternative conceptions of memory consolidation and the role of the hippocampus at the systems level in rodents. *Curr Opin Neurobiol* 21:446–451.
- Sutherland RJ, O'Brien J, Lehmann H (2008) Absence of systems consolidation of fear memories after dorsal, ventral, or complete hippocampal damage. *Hippocampus* 18:710–718.
- Sutherland RJ, Weisend MP, Mumby D, Astur RS, Hanlon FM, Koerner A, Thomas MJ, Wu Y, Moses SN, Cole C, Hamilton DA, Hoising JM (2001) Retrograde amnesia after hippocampal damage: recent vs. remote memories in two tasks. *Hippocampus* 11:27–42.
- Suvarna N, Borgland SL, Wang J, Phamluong K, Auberson YP, Bonci A, Ron D (2005) Ethanol alters trafficking and functional N-methyl-D-aspartate receptor NR2 subunit ratio via H-Ras. *J Biol Chem* 280:31450–31459.
- Suzuki W, Naya Y (2011) Two routes for remembering the past. *Cell* 147:493–495.
- Sweatt JD (2001) Memory mechanisms: the yin and yang of protein phosphorylation. *Curr Biol* 11:R391–R394.
- Sweatt JD (2004) Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 14:311–317.
- Taha S, Hanover JL, Silva AJ, Stryker MP (2002) Autophosphorylation of alphaCaMKII is required for ocular dominance plasticity. *Neuron* 36:483–491.
- Takashima A, Jensen O, Oostenveld R, Maris E, van de Coevering M, Fernández G (2006) Successful declarative memory formation is associated with ongoing activity during encoding in a distributed neocortical network related to working memory: a magnetoencephalography study. *Neuroscience* 139:291–297.
- Takashima A, Nieuwenhuis IL, Jensen O, Talamini LM, Rijpkema M, Fernández G (2009) Shift from hippocampal to neocortical centered retrieval network with consolidation. *J Neurosci* 29:10087–10093.
- Takehara K, Kawahara S, Kirino Y (2003) Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory retention in trace eyeblink conditioning. *J Neurosci* 23:9897–9905.
- Takehara-Nishiuchi K, Kawahara S, Kirino Y (2005) NMDA receptor-dependent processes in the medial prefrontal cortex are important for acquisition and the early stage of consolidation during trace, but not delay eyeblink conditioning. *Learn Mem* 12:606–614.
- Takehara-Nishiuchi K, McNaughton BL (2008) Spontaneous changes of neocortical code for associative memory during consolidation. *Science* 322:960–963.
- Takehara-Nishiuchi K, Nakao K, Kawahara S, Matsuki N, Kirino Y (2006) Systems consolidation requires postlearning activation of NMDA receptors in the medial prefrontal cortex in trace eyeblink conditioning. *J Neurosci* 26:5049–5058.
- Takeuchi T, Duzkiewicz AJ, Morris RG (2014) The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 369:20130288.
- Tanaka KZ, Pevzner A, Hamidi AB, Nakazawa Y, Graham J, Wiltgen BJ (2014) Cortical representations are reinstated by the hippocampus during memory retrieval. *Neuron* 84:347–354.
- Tang YP, Shimizu E, Dube GR, Rampon C, Kerchner GA, Zhuo M, Liu G, Tsien JZ (1999) Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 401:63–69.
- Tang YP, Wang H, Feng R, Kyin M, Tsien JZ (2001) Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. *Neuropharmacology* 41:779–790.
- Taylor KK, Lowry E, Tanaka K, Levy B, Reijmers L, Mayford M, Wiltgen BJ (2011) Characterization of NMDAR-Independent Learning in the Hippocampus. *Front Behav Neurosci* 5:28.
- Taylor KK, Tanaka KZ, Reijmers LG, Wiltgen BJ (2013) Reactivation of neural ensembles during the retrieval of recent and remote memory. *Curr Biol* 23:99–106.
- Teixeira CM, Pomedli SR, Maei HR, Kee N, Frankland PW (2006) Involvement of the anterior cingulate cortex in the expression of remote spatial memory. *J Neurosci* 26:7555–7564.
- Teng E, Squire LR (1999) Memory for places learned long ago is intact after hippocampal damage. *Nature* 400:675–677.
- Teyler TJ, DiScenna P (1986) The hippocampal memory indexing theory. *Behav Neurosci* 100:147–154.
- Teyler TJ, Rudy JW (2007) The hippocampal indexing theory and episodic memory: updating the index. *Hippocampus* 17:1158–1169.
- Thomas CG, Miller AJ, Westbrook GL (2006) Synaptic and extrasynaptic NMDA receptor NR2 subunits in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 95:1727–1734.
- Thompson RF, Kim JJ (1996) Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:13438–13444.
- Tian S, Huang F, Li P, Li Z, Zhou S, Deng H, Yang Y (2011) Nicotine enhances contextual fear memory reconsolidation in rats. *Neurosci Lett* 487:368–371.

- Tonegawa S, Liu X, Ramirez S, Redondo R (2015) Memory Engram Cells Have Come of Age. *Neuron* 87:918–931.
- Toni N, Buchs PA, Nikonenko I, Bron CR, Muller D (1999) LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402:421–425.
- Tovar KR, McGinley MJ, Westbrook GL (2013) Triheteromeric NMDA Receptors at Hippocampal Synapses. *J Neurosci* 33:9150–9160.
- Tovar KR, Westbrook GL (1999) The incorporation of NMDA receptors with a distinct subunit composition at nascent hippocampal synapses in vitro. *J Neurosci* 19:4180–4188.
- Tovar KR, Westbrook GL (2002) Mobile NMDA receptors at hippocampal synapses. *Neuron* 34:255–264.
- Toyoda H, Zhao MG, Zhuo M (2005) Roles of NMDA receptor NR2A and NR2B subtypes for long-term depression in the anterior cingulate cortex. *Eur J Neurosci* 22:485–494.
- Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan H, Myers SJ, Dingledine R (2010) Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev* 62:405–496.
- Tronel S, Sara SJ (2003) Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. *J Neurosci* 23:5472–5476.
- Tsanov M, Manahan-Vaughan D (2007) The adult visual cortex expresses dynamic synaptic plasticity that is driven by the light/dark cycle. *J Neurosci* 27:8414–8421.
- Tse D, Langston RF, Kakeyama M, Bethus I, Spooner PA, Wood ER, Witter MP, Morris RG (2007) Schemas and memory consolidation. *Science* 316:76–82.
- Tse D, Takeuchi T, Kakeyama M, Kajii Y, Okuno H, Tohyama C, Bito H, Morris RG (2011) Schema-dependent gene activation and memory encoding in neocortex. *Science* 333:891–895.
- Tsien JZ (2000) Linking Hebb's coincidence-detection to memory formation. *Curr Opin Neurobiol* 10:266–273.
- Tsien JZ, Chen DF, Gerber D, Tom C, Mercer EH, Anderson DJ, Mayford M, Kandel ER, Tonegawa S (1996a) Subregion- and cell type-restricted gene knockout in mouse brain. *Cell* 87:1317–1326.
- Tsien JZ, Huerta PT, Tonegawa S (1996b) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* 87:1327–1338.
- Tsien RW, Schulman H, Malinow R (1990) Peptide inhibitors of PKC and CaMK block induction but not expression of long-term potentiation. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 24:101–107.
- Tulving E (1972) Episodic and semantic memory. In: *Organisation of memory* (Tulving E, Donaldson W, eds), pp 381–403. New York: Academic Press.
- Tulving E (1985) Memory and consciousness. *Canadian Psychology/Psychologie canadienne* 26:1–12.
- Valjent E, Caboche J, Vanhoutte P (2001) Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase induced gene regulation in brain: a molecular substrate for learning and memory? *Mol Neurobiol* 23:83–99.
- Van Kesteren MT, Ruiters DJ, Fernández G, Henson RN (2012) How schema and novelty augment memory formation. *Trends Neurosci* 35:211–219.
- Vazdarjanova A, Guzowski JF (2004) Differences in hippocampal neuronal population responses to modifications of an environmental context: evidence for distinct, yet complementary, functions of CA3 and CA1 ensembles. *J Neurosci* 24:6489–6496.
- Vest RS, Davies KD, O'Leary H, Port JD, Bayer KU (2007) Dual mechanism of a natural CaMKII inhibitor. *Mol Biol Cell* 18:5024–5033.
- Vicini S, Wang JF, Li JH, Zhu WJ, Wang YH, Luo JH, Wolfe BB, Grayson DR (1998) Functional and pharmacological differences between recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. *J Neurophysiol* 79:555–566.
- Villarreal DM, Do V, Haddad E, Derrick BE (2002) NMDA receptor antagonists sustain LTP and spatial memory: active processes mediate LTP decay. *Nat Neurosci* 5:48–52.
- Vogt MB, Rudy JW (1984) Ontogenesis of learning: IV. Dissociation of memory and perceptual-altering processes mediating taste neophobia in the rat. *Dev Psychobiol* 17:601–611.
- Volk LJ, Bachman JL, Johnson R, Yu Y, Hagan RL (2013) PKM- ζ is not required for hippocampal synaptic plasticity, learning and memory. *Nature* 493:420–423.
- Von Engelhardt J, Doganci B, Jensen V, Hvalby Ø, Göngrich C, Taylor A, Barkus C, Sanderson DJ, Rawlins JN, Seeburg PH, Bannerman DM, Monyer H (2008) Contribution of hippocampal and extra-hippocampal NR2B-containing NMDA receptors to performance on spatial learning tasks. *Neuron* 60:846–860.
- Walker DL, Davis M (2008) Amygdala infusions of an NR2B-selective or an NR2A-preferring NMDA receptor antagonist differentially influence fear conditioning and expression in the fear-potentiated startle test. *Learn Mem* 15:67–74.
- Wang D, Cui Z, Zeng Q, Kuang H, Wang LP, Tsien JZ, Cao X (2009a) Genetic enhancement of memory and long-term potentiation but not CA1 long-term depression in NR2B transgenic rats. *PLoS ONE* 4:e7486.
- Wang D, Jacobs SA, Tsien JZ (2014) Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for treating or preventing age-related memory decline. *Expert Opin Ther Targets* 18:1121–1130.
- Wang GW, Cai JX (2006) Disconnection of the hippocampal-prefrontal cortical circuits impairs spatial working memory performance in rats. *Behav Brain Res* 175:329–336.
- Wang H, Hu Y, Tsien JZ (2006) Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Prog Neurobiol* 79:123–135.
- Wang H, Shimizu E, Tang YP, Cho M, Kyin M, Zuo W, Robinson DA, Alaimo PJ, Zhang C, Morimoto H, Zhuo M, Feng R, Shokat KM, Tsien JZ (2003) Inducible protein knockout reveals temporal requirement of CaMKII reactivation for memory consolidation in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4287–4292.

- Wang SH, de Oliveira Alvares L, Nader K (2009b) Cellular and systems mechanisms of memory strength as a constraint on auditory fear reconsolidation. *Nat Neurosci* 12:905–912.
- Wang SH, Morris RG (2010) Hippocampal-neocortical interactions in memory formation, consolidation, and reconsolidation. *Annu Rev Psychol* 61:49–79, C1.
- Wang XB, Yang Y, Zhou Q (2007) Independent expression of synaptic and morphological plasticity associated with long-term depression. *J Neurosci* 27:12419–12429.
- Watanabe M, Inoue Y, Sakimura K, Mishina M (1992) Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs. *Neuroreport* 3:1138–1140.
- Watt AJ, van Rossum MC, MacLeod KM, Nelson SB, Turrigiano GG (2000) Activity coregulates quantal AMPA and NMDA currents at neocortical synapses. *Neuron* 26:659–670.
- Wenthold RJ, Prybylowski K, Standley S, Sans N, Petralia RS (2003) Trafficking of NMDA receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43:335–358.
- Wheeler AL, Teixeira CM, Wang AH, Xiong X, Kovacevic N, Lerch JP, McIntosh AR, Parkinson J, Frankland PW (2013) Identification of a functional connectome for long-term fear memory in mice. *PLoS Comput Biol* 9:e1002853.
- Wheeler MA, Stuss DT, Tulving E (1997) Toward a theory of episodic memory: the frontal lobes and autonoetic consciousness. *Psychol Bull* 121:331–354.
- Whishaw IQ, Tomie J, Kolb B (1992) Ventrolateral prefrontal cortex lesions in rats impair the acquisition and retention of a tactile-olfactory configural task. *Behav Neurosci* 106:597–603.
- White TL, Youngentob SL (2004) The effect of NMDA-NR2B receptor subunit over-expression on olfactory memory task performance in the mouse. *Brain Res* 1021:1–7.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093–1097.
- Wiedenmayer CP, Myers MM, Mayford M, Barr GA (2000) Olfactory based spatial learning in neonatal mice and its dependence on CaMKII. *Neuroreport* 11:1051–1055.
- Williams K (1993) Ifenprodil discriminates subtypes of the N-methyl-D-aspartate receptor: selectivity and mechanisms at recombinant heteromeric receptors. *Mol Pharmacol* 44:851–859.
- Wilson MA, McNaughton BL (1994) Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265:676–679.
- Wiltgen BJ, Brown RA, Talton LE, Silva AJ (2004) New circuits for old memories: the role of the neocortex in consolidation. *Neuron* 44:101–108.
- Wiltgen BJ, Silva AJ (2007) Memory for context becomes less specific with time. *Learn Mem* 14:313–317.
- Wiltgen BJ, Zhou M, Cai Y, Balaji J, Karlsson MG, Parivash SN, Li W, Silva AJ (2010) The hippocampus plays a selective role in the retrieval of detailed contextual memories. *Curr Biol* 20:1336–1344.
- Winocur G (1990) Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. *Behav Brain Res* 38:145–154.
- Winocur G, McDonald RM, Moscovitch M (2001) Anterograde and retrograde amnesia in rats with large hippocampal lesions. *Hippocampus* 11:18–26.
- Winocur G, Moscovitch M (2011) Memory transformation and systems consolidation. *J Int Neuropsychol Soc* 17:766–780.
- Winocur G, Moscovitch M, Bontempi B (2010) Memory formation and long-term retention in humans and animals: convergence towards a transformation account of hippocampal-neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48:2339–2356.
- Winocur G, Moscovitch M, Fogel S, Rosenbaum RS, Sekeres M (2005) Preserved spatial memory after hippocampal lesions: effects of extensive experience in a complex environment. *Nat Neurosci* 8:273–275.
- Winocur G, Moscovitch M, Sekeres M (2007) Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nat Neurosci* 10:555–557.
- Winocur G, Sekeres MJ, Binns MA, Moscovitch M (2013) Hippocampal lesions produce both nongraded and temporally graded retrograde amnesia in the same rat. *Hippocampus* 23:330–341.
- Wittenberg GM, Sullivan MR, Tsien JZ (2002) Synaptic reentry reinforcement based network model for long-term memory consolidation. *Hippocampus* 12:637–647.
- Wittenberg GM, Tsien JZ (2002) An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci* 25:501–505.
- Won H, Lee HR, Gee HY, Mah W, Kim JI, Lee J, Ha S, Chung C, Jung ES, Cho YS, Park SG, Lee JS, Lee K, Kim D, Bae YC, Kaang BK, Lee MG, Kim E (2012) Autistic-like social behaviour in Shank2-mutant mice improved by restoring NMDA receptor function. *Nature* 486:261–265.
- Won J, Silva AJ (2008) Molecular and cellular mechanisms of memory allocation in neuronetworks. *Neurobiol Learn Mem* 89:285–292.
- Wong RW, Setou M, Teng J, Takei Y, Hirokawa N (2002) Overexpression of motor protein KIF17 enhances spatial and working memory in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:14500–14505.
- Woodhall G, Evans DI, Cunningham MO, Jones RS (2001) NR2B-containing NMDA autoreceptors at synapses on entorhinal cortical neurons. *J Neurophysiol* 86:1644–1651.
- Woodside BL, Borroni AM, Hammonds MD, Teyler TJ (2004) NMDA receptors and voltage-dependent calcium channels mediate different aspects of acquisition and retention of a spatial memory task. *Neurobiol Learn Mem* 81:105–114.
- Wu LJ, Zhuo M (2009) Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for the treatment of neuropathic pain. *Neurotherapeutics* 6:693–702.

- Wu Y, Kawakami R, Shinohara Y, Fukaya M, Sakimura K, Mishina M, Watanabe M, Ito I, Shigemoto R (2005) Target-cell-specific left-right asymmetry of NMDA receptor content in schaffer collateral synapses in epsilon1/NR2A knock-out mice. *J Neurosci* 25:9213–9226.
- Xie H, Liu Y, Zhu Y, Ding X, Yang Y, Guan JS (2014) In vivo imaging of immediate early gene expression reveals layer-specific memory traces in the mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:2788–2793.
- Xu S, Jiang W, Poo MM, Dan Y (2012) Activity recall in a visual cortical ensemble. *Nat Neurosci* 15:449–55, S1.
- Xu W (2011) PSD-95-like membrane associated guanylate kinases (PSD-MAGUKs) and synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 21:306–312.
- Yashiro K, Corlew R, Philpot BD (2005) Visual deprivation modifies both presynaptic glutamate release and the composition of perisynaptic/extrasynaptic NMDA receptors in adult visual cortex. *J Neurosci* 25:11684–11692.
- Yashiro K, Philpot BD (2008) Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP, and metaplasticity. *Neuropharmacology* 55:1081–1094.
- Yasuda M, Mayford MR (2006) CaMKII activation in the entorhinal cortex disrupts previously encoded spatial memory. *Neuron* 50:309–318.
- Yeung LC, Shouval HZ, Blais BS, Cooper LN (2004) Synaptic homeostasis and input selectivity follow from a calcium-dependent plasticity model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:14943–14948.
- Yin X, Takei Y, Kido MA, Hirokawa N (2011) Molecular motor KIF17 is fundamental for memory and learning via differential support of synaptic NR2A/2B levels. *Neuron* 70:310–325.
- Yiu AP, Mercaldo V, Yan C, Richards B, Rashid AJ, Hsiang HL, Pressey J, Mahadevan V, Tran MM, Kushner SA, Woodin MA, Frankland PW, Josselyn SA (2014) Neurons are recruited to a memory trace based on relative neuronal excitability immediately before training. *Neuron* 83:722–735.
- Zelikowsky M, Hersman S, Chawla MK, Barnes CA, Fanselow MS (2014) Neuronal ensembles in amygdala, hippocampus, and prefrontal cortex track differential components of contextual fear. *J Neurosci* 34:8462–8466.
- Zhang J, Diamond JS (2009) Subunit- and pathway-specific localization of NMDA receptors and scaffolding proteins at ganglion cell synapses in rat retina. *J Neurosci* 29:4274–4286.
- Zhang XM, Yan XY, Zhang B, Yang Q, Ye M, Cao W, Qiang WB, Zhu LJ, Du YL, Xu XX, Wang JS, Xu F, Lu W, Qiu S, Yang W, Luo JH (2015) Activity-induced synaptic delivery of the GluN2A-containing NMDA receptor is dependent on endoplasmic reticulum chaperone Bip and involved in fear memory. *Cell Res* 25:818–836.
- Zhao MG, Toyoda H, Lee YS, Wu LJ, Ko SW, Zhang XH, Jia Y, Shum F, Xu H, Li BM, Kaang BK, Zhuo M (2005) Roles of NMDA NR2B subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. *Neuron* 47:859–872.
- Zhao X, Rosenke R, Kronemann D, Brim B, Das SR, Dunah AW, Magnusson KR (2009) The effects of aging on N-methyl-D-aspartate receptor subunits in the synaptic membrane and relationships to long-term spatial memory. *Neuroscience* 162:933–945.
- Zhou Q, Homma KJ, Poo MM (2004) Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron* 44:749–757.
- Zhou Y, Takahashi E, Li W, Halt A, Wiltgen B, Ehninger D, Li GD, Hell JW, Kennedy MB, Silva AJ (2007) Interactions between the NR2B receptor and CaMKII modulate synaptic plasticity and spatial learning. *J Neurosci* 27:13843–13853.
- Zhou Y, Won J, Karlsson MG, Zhou M, Rogerson T, Balaji J, Neve R, Poirazi P, Silva AJ (2009) CREB regulates excitability and the allocation of memory to subsets of neurons in the amygdala. *Nat Neurosci* 12:1438–1443.
- Zhuo M (2009) Plasticity of NMDA receptor NR2B subunit in memory and chronic pain. *Mol Brain* 2:4.
- Zinebi F, Xie J, Liu J, Russell RT, Gallagher JP, McKernan MG, Shinnick-Gallagher P (2003) NMDA currents and receptor protein are downregulated in the amygdala during maintenance of fear memory. *J Neurosci* 23:10283–10291.
- Zola-Morgan S, Squire LR, Ramus SJ (1994) Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus* 4:483–495.
- Zola-Morgan SM, Squire LR (1990) The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science* 250:288–290.