



**HAL**  
open science

# Modulation de la transmission synaptique dans les réseaux limbiques au cours du cycle veille-sommeil chez le rat

Julien Carponcy

► **To cite this version:**

Julien Carponcy. Modulation de la transmission synaptique dans les réseaux limbiques au cours du cycle veille-sommeil chez le rat. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Lyon, 2016. Français. NNT : 2016LYSE1013 . tel-01537713

**HAL Id: tel-01537713**

**<https://theses.hal.science/tel-01537713>**

Submitted on 12 Jun 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.

N° d'ordre

Année 2016

**THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON**

**Délivrée par**

**L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

**ECOLE DOCTORALE NEUROSCIENCES ET COGNITION**

**DIPLOME DE DOCTORAT**

**(Arrêté du 7 août 2006)**

Soutenue publiquement le 28 janvier 2016

Par

**Julien CARPONCY**

**Modulation de la transmission synaptique dans les réseaux limbiques au cours du cycle veille-sommeil chez le rat.**

**Membres du Jury**

**Pr. Rémi Gervais**, examinateur

**Dr. Karim Benchenane**, examinateur

**Pr. René Garcia**, rapporteur

**Dr. Thierry Gallopin**, rapporteur

**Dr. Paul Salin**, directeur de thèse

**Dr. Régis Parmentier**, co-directeur de thèse

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

**M. François-Noël GILLY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

## *COMPOSANTES SANTE*

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : Mme. la Professeure A-M. SCHOTT

## *COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE*

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme Caroline FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur Georges TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. Jean-Claude PLENET

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

# Table des matières

<b>Abbréviations</b> .....	1
<b>Résumé</b> .....	4
<b>Summary/Résumé en anglais</b> .....	5
<b>Introduction Générale</b> .....	6
I. Le Sommeil .....	8
I.1 Les différents états de vigilance .....	8
I.2 Les structures cérébrales et neuromodulateurs contrôlant l’alternance des états de vigilance .....	10
II. La Mémoire .....	18
II.1 Les différents types de mémoire .....	18
II.2 Mémoire, oubli et interférences.....	21
II.3 Les structures impliquées dans la mémoire.....	27
II.4 Les réseaux, plus importants que les structures isolées.....	29
II.5 La consolidation systémique et la réorganisation des traces mnésiques .....	31
II.6 Le Nucleus Accumbens au cœur des réseaux liant apprentissage et émotion.....	33
II.7 Importance de la connexion Hippocampe – Nucleus Accumbens dans la mémoire.....	36
II.8 Connectivité fonctionnelle et apprentissage.....	40
III. Plasticité synaptique et efférences hippocampiques.....	46
III.1 La plasticité synaptique de courte durée .....	47
III.2 La plasticité synaptique de longue durée .....	48
III.3. Caractérisation des efférences hippocampiques vers le cortex préfrontal et le noyau accumbens .....	56
III.4. Voie hippocampo-accumbens .....	59
III.5. Evolution de la transmission synaptique au cours des états de vigilance .....	62
III.6. Influence des oscillations sur la transmission synaptique.....	64
IV. Les liens entre sommeil et mémoire.....	66
IV.1. Observations comportementales.....	67
IV.2. Imagerie cérébrale fonctionnelle chez l’humain.....	70
IV.3. Relations entre activité oscillatoire du sommeil et apprentissage. ....	71
IV.4. Principales théories.....	77

V. Objectifs et hypothèses .....	85
V.1. Origines des études .....	85
V.2. Lien entre la première et la deuxième étude .....	86
V.3. Questions en suspens .....	86
V.4. Hypothèses et expériences réalisées.....	87
<b>Résultats</b> .....	89
<b>Première étude : Levels of Interference in Long and Short-Term Memory Differentially Modulate Non-REM and REM Sleep</b> .....	90
<b>Deuxième étude : Opposed modulations of synaptic transmission between structures of the limbic system during the wake-sleep cycle in the rat - impact of local field potential oscillations.</b> .....	107
Introduction.....	109
Materials and Methods.....	112
Animals and general procedure .....	112
Surgery.....	112
Recording setup .....	113
Electrical stimulation .....	114
Slope and amplitude measurement .....	114
Statistical analysis.....	115
Results.....	116
Spontaneous oscillations and coherence between CA1, NAc and mPFC during the sleep-wake cycle. ....	118
Modulation of mono-synaptic transmission during the sleep-wake cycle in the SC-CA1, Fx-NAc and Fx-mPFC pathways.....	119
Modulation of poly-synaptic transmission during the sleep-wake cycle. ....	123
Dynamic of the synaptic transmission within single episodes of WK, SWS or REM sleep. ....	125
Modulation of SC-CA1 synaptic transmission by spontaneous oscillations. ....	126
Discussion.....	128
Characterization of the P25 response.....	129
Modulation of SC-CA1 during the sleep-wake cycle .....	130
Modulation of Fx-NAc and Fx-mPFC transmission during the sleep-wake cycle .....	131

Correlations of synaptic transmission with LFP oscillations.....	134
References.....	137
Supplementary data.....	142
<b>Discussion générale</b> .....	145
I. Première étude.....	147
I.1. Un paradigme expérimental permettant des comparaisons nouvelles.....	147
I.2. Un rôle transitoire du SP dans l'acquisition de la tâche de MR.....	149
I.3. Apprentissage spatial en MR et thêta phasique.....	151
I.4. Sommeil Lent et gestion des interférences.....	152
I.5. Ondes Lentes et interférences.....	153
I.6. Oscillations phasiques du SL et mémoire.....	153
I.7. Résumé des résultats obtenus en première année de thèse.....	155
II. Deuxième étude.....	156
II.1. Interets de l'étude au regard de la littérature existante.....	156
II.2. Mise au point et difficultés techniques.....	158
II.3. L'information suit-elle des flux différents en fonction des états de vigilance ?.....	162
II.4. Implications d'une modulation différentielle de la transmission synaptique au cours du cycle veille-sommeil.....	165
II.5. Rôles du SP dans le traitement de la mémoire émotionnelle.....	167
II.6. Sommeil paradoxal, système dopaminergique mésolimbique et mémoire.....	169
II.7. Les neuromodulateurs possiblement impliqués dans la régulation de la transmission synaptique au cours du cycle veille-sommeil.....	170
II.8. Eveil, SL et SP : Evolution à la hausse ou à la baisse ? Convergences et contradictions.....	172
III. Perspectives.....	178
III.1. Perspectives Analytiques.....	178
III.2. Perspectives Expérimentales.....	183
IV. Conclusion générale.....	188
<b>Références bibliographiques</b> .....	190
<b>Annexe</b> .....	218



## Abbréviations :

A1	Récepteur à l'adénosine de type 1
[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub>	Concentration en calcium intra-cellulaire
A2a	Récepteur à l'adénosine de type 2A
AMPA	Acide $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazolepropionique
AMPAr	Récepteurs à l'Acide $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazolepropionique
AMPc	Adénosine mono-phosphate cyclique
AOL	Activité à Ondes Lentes
AP5	Acide dl-2-amino-5-phosphonopentanoïque, antagoniste des récepteurs NMDA
ATP	Adénosine triphosphate
BCM	Bienenstock, Cooper, Munroe
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
BOLD	<i>Blood Oxygen Level Dependent</i>
CA1	Sous-région hippocampique <i>Cornus Amonis 1</i>
CA3	Sous-région hippocampique <i>Cornus Amonis 3</i>
CaMKII	Protéine kinase II dépendante du complexe Calcium/calmoduline
CNQX	Antagoniste des récepteurs AMPA
COMT	Catécholamine-O-méthyltransférase
CPFm	Cortex préfrontal médian
CREB	<i>cAMP response element-binding protein</i>
D1	Récepteur à la dopamine de type 1
D2	Récepteur à la dopamine de type 2
dCA1	Partie distale de CA1
DNQX	6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione, antagoniste des récepteurs AMPA
DPGi	Noyau para-gigantocellulaire dorsal
EEG	Electro-encéphalographie
EMG	Electro-myographie
FD	Fréquence de décharge
Fx	Fornix
GABA	Acide $\gamma$ -amino butyrique
GD	Gyrus Denté
GiV	Noyau gigantocellulaire ventral
GluA1	Sous-unité A1 des récepteurs du glutamate
HPC	Hippocampe
HRP	Péroxydase de Raifort
IEG	Gène d'expression précoce
IRMf	Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle
L-dopa	Lévodopa, précurseur des catécholamines
LDT	Noyau tegmental laterodorsal
LEC	Cortex entorhinal lateral
LPGi	Noyau para-gigantocellulaires latéral
LPP	Voie perforante latérale

LTD	Dépression à long terme
LTP	Potentialisation à long terme
M1	Aire motrice primaire
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein kinases</i>
MCH	<i>Melanin-concentrating hormone</i>
mEPSC	Courant exciteur post-synaptique miniature
MPP	Voie perforante médiane
MR	Mémoire de référence
MTFI	Mémoire de Travail à Faible niveau d'Interférences
MTHI	Mémoire de Travail à Haut niveau d'Interférences
NAc	Noyau Accumbens
NMDA	N-methyl-D-aspartate
NMDAr	récepteurs au N-methyl-D-aspartate
OL	Ondes Lentes
OSRP	<i>Orientation-Specific Response Potentiation</i>
PA	Potentiel d'action
PCL	Potentiels de champs locaux
PGO	Ponto-Geniculo Occipitales
PKA	Protéine kinase dépendante de l'AMPc
PKC	Protéine kinase C
PP1	Protéine phosphatase de type 1
PP2A	Protéine phosphatase de type 2A
PP2B	Protéine phosphatase de type 2B (calcineurine)
PPD	<i>Paired-Pulse Depression</i>
PPF	<i>Paired-Pulse Facilitation</i>
PPSE	Potentiel Post-Synaptique Excitateur
PPSEc	Potentiels Post-Synaptiques Excitateurs de champ
PPSI	Potentiel Post-Synaptique Inhibiteur
PPT	pedunculo-pontine tegmental nucleus
REM	<i>Rapid Eye-Movement</i>
S1	Cortex somesthésique primaire
SC	Collatérales de Schaffer
SCH-23390	Antagoniste des récepteurs à la dopamine de type 1
Ser <sub>845</sub>	Sérine 845
SHY	<i>Synaptic homeostasis hypothesis</i>
SKF38393	Agoniste des récepteurs à la dopamine de type 1
SL	Sommeil Lent
SLD	Noyau sublatérodorsal
SNAP-7941	Antagoniste des récepteurs à la MCH de type 1
SP	Sommeil Paradoxal
STDP	<i>Spike-Timing Dependant Plasticity</i>
SubLDT	Noyau tegmental sublaterodorsal
Subv	Subiculum ventral
SW-R	<i>Sharp wave-ripples</i>

TA	Voie Temporo-ammonique
tDCS	Stimulation transcrânienne à courant direct
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
V1	Aire visuelle primaire
vIPAG	Substance grise péri-aqueducule ventro-latérale
VTA	Aire tegmentale ventrale
Zif268	<i>Zinc finger binding protein clone 268</i>

## Résumé :

Aujourd'hui, de nombreux travaux de recherche semblent montrer ce que nous savions intuitivement depuis longtemps: le sommeil aurait un effet bénéfique sur la mémoire, mais également, selon certains, sur l'oubli. Les paramètres du sommeil définis comme clés varient d'un travail à l'autre en fonction du type de test examiné, et quelques auteurs ont émis l'hypothèse que le sommeil aurait pour fonction essentielle d'éliminer les souvenirs inutiles afin de préparer les apprentissages subséquents. Afin de mieux comprendre les liens entre sommeil, mémoire et oubli, nous avons soumis des rats à des tâches comportementales impliquant différents degrés d'oubli. Ces tâches, impliquant mémoire de référence (MR), ou mémoire de travail avec différents niveaux d'interférences, ont été réalisées dans un même dispositif comportemental (labyrinthe radial à 8 bras). Elles ont été contrôlées afin de pouvoir comparer les modifications du sommeil résultant de l'exécution de ces tâches mnésiques.

Alors que nous avons observés une augmentation transitoire du sommeil paradoxal (SP) lors de l'apprentissage en MR, les performances dans la tâche de mémoire de travail nécessitant un fort degré d'oubli paraissent dépendantes de la quantité de sommeil lent (SL) et de la puissance de ses ondes lentes (OL). Nous avons également observé des différences dans les quantités ou la durée de phénomènes oscillatoires phasiques induit par nos différentes tâches. De plus, seuls les rats entraînés en MR montrent une augmentation des bouffées de thêta phasique durant le SP, ainsi que des fuseaux durant le SL. Cependant, toutes les autres tâches mnésiques entraînent une augmentation des complexes « *Sharp Wave-Ripples* » (SW-R) du SL par rapport aux animaux contrôles. Ces résultats indiquent donc un rôle important du SP dans les apprentissages spatiaux à long terme, alors que la flexibilité comportementale requise par les tâches de mémoire de travail et la gestion des interférences semble plus dépendante du SL.

Afin de mieux comprendre les influences respectives du SP et du SL sur la mémoire, il nous a paru pertinent de chercher à examiner plus en détail le rôle du sommeil et de ses oscillations dans les modifications de transmission synaptique. En effet, il existe aujourd'hui de nombreuses évidences suggérant que l'apprentissage résulte de modifications des connexions synaptiques, et différentes théories suggèrent des rôles différents du SL et du SP pour optimiser ces changements. Nous avons donc, dans une deuxième étude, cherché à comprendre l'évolution de la transmission synaptique dans l'hippocampe (HPC), mais aussi entre l'HPC et deux de ses structures efférentes, également impliquées dans la mémoire, que sont le cortex préfrontal médian (CPFm) et le noyau accumbens (NAc). Alors que le SL semble accroître la transmission synaptique dans l'HPC, le SP parait la diminuer rapidement. Au niveau des efférences hippocampiques au contraire, le SL semble diminuer globalement la transmission vers le CPFm alors que les épisodes de SP favorisent la communication vers le NAc. Nos premiers résultats montrent également qu'au sein de l'HPC, la transmission synaptique peut être modulée aussi bien par les ondes delta que par les oscillations à haute fréquence.

Plutôt que de favoriser globalement des processus communs à l'ensemble du cerveau, nos résultats suggèrent que le SL et le SP permettent de rediriger les flux d'informations entre différents réseaux, et que cet « aiguillage » différentiel de l'information est dynamiquement modulé par les diverses oscillations du sommeil. Nous pensons donc que ces résultats constituent une contribution significative dans la compréhension des mécanismes par lesquels le SL et le SP sont susceptibles de favoriser les processus de mémorisation.

## Summary:

Numerous studies have now demonstrated what we intuitively knew for a long time: that sleep has a beneficial influence on memory. But, according to some scientists, it also seems to impact forgetting. The sleep parameters highlighted as crucial vary from one study to another, and some authors have put forward the hypothesis that one essential function of sleep might be the elimination of useless memories so as to prepare subsequent learning. Aiming at a better understanding of the links between sleep, memory and forgetting, we have submitted rats to behavioral tasks involving different levels of forgetting. These tasks, implying reference memory (RM) or working memory with different level of interferences, were executed in the same behavioral apparatus (8-arm radial maze). They were controlled so we could compare the modifications of sleep resulting from these mnemonic tasks.

Whereas we observed a transient increase of paradoxical sleep (PS) during the RM training, the performances in the working memory task requiring a high level of forgetting seemed to be dependent on the quantity of slow-wave sleep (SWS) and on the power of the slow oscillations (SO). We also observed differences in the quantity or duration of phasic oscillatory phenomena induced by our different tasks. Moreover, only the RM trained rats exhibited an increase in phasic theta bursts during PS, as well as spindles during SWS. But all the other mnemonic tasks increased the sharp wave-ripples complexes of SWS when compared with control animals. These results thus indicate an important role of PS in long-term spatial learning, whereas behavioral flexibility required by working memory tasks and interferences seems to be more dependent on SWS.

In order to disentangle the respective influence of PS and SWS on memory, we thought that it was pertinent to examine more closely the role of sleep and its oscillations in the modulations of the strength of synaptic transmission. Indeed, there are today numerous pieces of evidence suggesting that learning is caused by modifications of synaptic connections, and different theories suggest different roles of the SWS and PS to optimize these changes. During a second study, we sought to understand the evolution of synaptic transmission in the hippocampal network but also between the hippocampus (HPC) and two of its efferent structures, the medial prefrontal cortex (mPFC) and the nucleus accumbens (NAc). While SWS seems to increase synaptic transmission in the HPC, PS seems to decrease it rapidly. In contrast and regarding hippocampal efferents, SWS seems to globally reduce transmission to the mPFC while PS episodes enhance transmission to the NAc. Our preliminary results show that within the HPC, synaptic transmission can be modulated by both delta waves and high-frequency oscillations.

In contrast to the hypotheses posing that sleep promotes a global process common to the entire brain; our results suggest that SWS and PS redirect data flows between different networks, and that this switch between different information pathways could be dynamically modulated by the various sleep oscillations. We therefore believe that these results constitute a significant contribution in the determination of the mechanisms by which SWS and PS are likely to favor memory processes.

# **Introduction Générale**

Le sommeil est considéré depuis toujours comme un état très particulier de notre existence. Il intrigue et fascine l'homme, non seulement parce que nous passons un tiers de notre vie à dormir, mais aussi parce que c'est, dans la conscience collective, le domaine des rêves. Cette formule est pour le moins paradoxale, puisque le propre du sommeil est justement l'absence de conscience. C'est donc au sein de cet inconscient que même les plus rationalistes entrent dans le domaine onirique, souvent associé au sommeil que l'on dit lui-même paradoxal. De toutes les fonctions possiblement attribuables au sommeil, la plus fascinante pour beaucoup d'entre nous, est incontestablement son rôle dans la mémoire. Pour autant, si nous ignorons encore largement comment le sommeil facilite la mémoire, nous savons que l'apprentissage, en retour, modifie notre sommeil. C'est la problématique que nous avons choisi de traiter lors de notre première année de thèse. Nous avons donc montré que différents types d'apprentissage, réalisés dans un dispositif expérimental identique, aboutissent à des modifications différentes, aussi bien quantitatives que qualitatives, du sommeil lent et du sommeil paradoxal (voir **Résultats, première étude**). En plus de son impact sur le sommeil, l'apprentissage implique la modification de connexions synaptiques afin d'encoder et de stocker l'information au sein du cerveau. Nous nous sommes alors demandés quelle était la nature des modifications que le sommeil, et les différentes oscillations enregistrées pendant celui-ci, était susceptible d'engendrer au niveau de la transmission synaptique entre différentes aires du cerveau. En effet, ces modifications de transmission synaptique durant le sommeil seraient susceptibles de favoriser la consolidation de la mémoire. Cependant, avant d'exposer les liens entre la mémoire et le sommeil, il nous faut tout d'abord commencer par définir ces deux notions.

## I. Le Sommeil

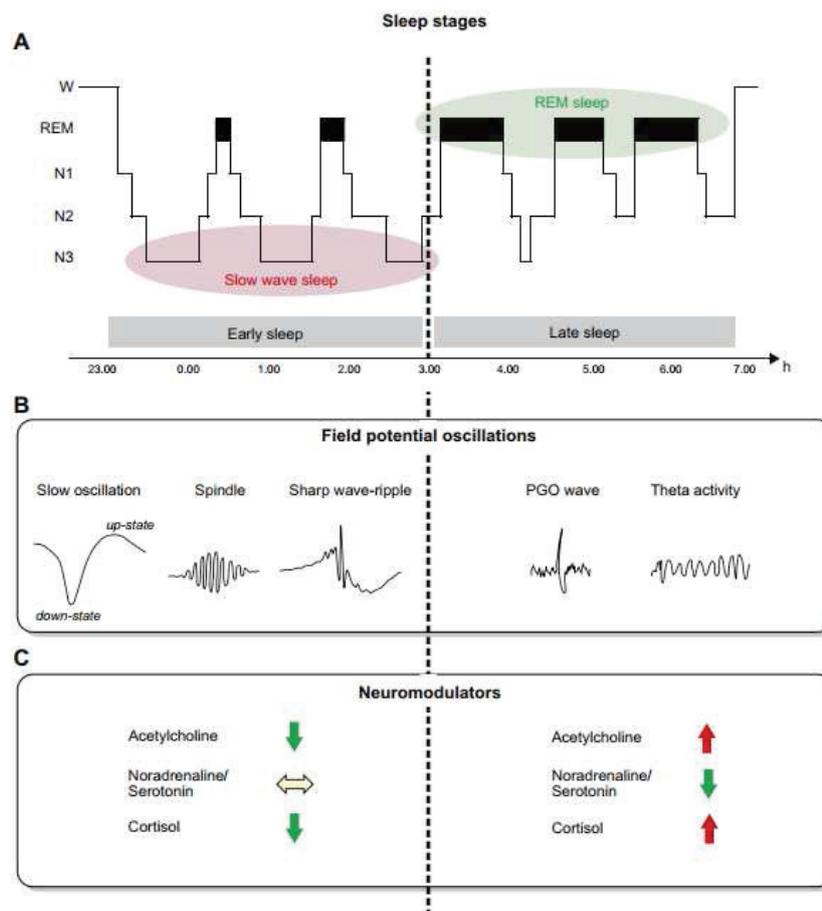
### I.1 Les différents états de vigilance

Chez les mammifères, l'étude du sommeil s'est largement faite grâce à l'utilisation d'enregistrements Electro-encéphalographique (EEG) et Electromyographique (EMG). Ces derniers permettent respectivement d'enregistrer l'activité corticale et musculaire de l'animal au cours des différents états de vigilance. Cependant, même si la caractérisation de ces états de vigilance repose sur des phénomènes observés au niveau cortical, la régulation de ces états s'effectue au niveau de structures beaucoup plus profondes. Nous allons donc, dans cette première partie, nous attacher à décrire brièvement les connaissances scientifiques quant à la structure du sommeil et à la caractérisation des différents états de vigilance, avant d'aborder les connaissances relatives à leurs mécanismes de régulation.

Le sommeil est donc d'abord défini par opposition à l'état d'éveil. Ce dernier est caractérisé par une activité rapide et de faible amplitude au niveau de l'EEG, alors que l'EMG montre une activité de forte amplitude, hautement variable. Nous allons voir que les caractéristiques du sommeil sont différentes. Néanmoins, celui-ci n'est pas un état homogène et on peut distinguer deux types de sommeil: le sommeil lent (SL) et le sommeil paradoxal (SP). Durant le SL, on constate d'une manière générale un tonus musculaire amoindri mais présent, alors que le sujet présente une faible sensibilité aux stimuli extérieurs. Bien qu'il soit courant chez les rongeurs de considérer le SL de manière uniforme, les travaux chez l'humain établissent des distinctions entre différents stades de ce SL. Chez l'homme, on distingue le SL léger (stade I et II) au sein duquel peuvent être observés des complexes K, qui sont des déflexions négatives et de grande amplitude, ainsi que des fuseaux (ou *spindles* en anglais) de courtes durées et de fréquence plus élevée (10-14Hz); ceci par opposition au SL profond (**Figure 1A**). Ce dernier (stade III chez l'homme), est facilement définissable par la présence d'ondes dites delta (1-4Hz), et d'ondes encore plus lentes et de grande amplitude (0,1-1 Hz). Durant l'éveil calme mais aussi le SL, il est également possible d'observer au niveau de l'HPC des complexes transitoires appelés *sharp wave-ripples* (SW-R). Ces derniers sont constitués d'une pointe-onde (ou *sharp-wave*), issue de la région CA3 hippocampique, accompagnée par des oscillations de haute fréquence (ou *ripples*, 100-250Hz), principalement observables au niveau du *stratum radiatum* de la région CA1 hippocampique (**Figure 1B**). Enfin, de manière

périodique et après la succession de plusieurs de ces phases de SL, les mammifères rentrent dans une phase dite de sommeil paradoxal (SP).

Ce stade particulier est dénommé dans la littérature anglophone sous l'acronyme de *REM sleep* (pour *Rapid Eye Movement* - Mouvements oculaires rapides). La dénomination française de *paradoxal* illustre le fait que l'activité cérébrale visible sur l'EEG est très similaire à celle enregistrée pendant l'éveil, alors que l'animal est bien endormi et présente un tonus musculaire complètement aboli (Jouvet, 1965). La dénomination anglaise se réfère à la



**Figure 1: Profil typique du sommeil et signaux caractéristiques. (A)** Le sommeil est caractérisé par l'occurrence de SP (*REM sleep*) de SL et de phases de sommeil plus léger (N1 et N2). Chez l'humain, la première partie de la nuit est dominée par le SL alors que le SP prévaut durant la seconde moitié de la nuit. **(B)** Les ondes lentes sont les oscillations les plus proéminentes en potentiel de champs durant le SL. Elles sont accompagnées de fuseaux thalamo-corticaux (*spindles*) et des SW-R hippocampiques. Le SP, chez l'animal, est caractérisé par des ondes Ponto-Géniculo-Occipitales (PGO) qui sont associées à des bouffées intenses d'activité synchronisée se propageant du pont et enregistrées principalement au niveau du noyau géniculé latéral et du cortex visuel. Au niveau de l'EEG, on enregistre principalement les ondes thêta hippocampiques, qui sont moins facilement identifiables chez l'humain, tout comme les ondes PGO. **(C)** Le sommeil est accompagné par des changements importants de concentrations en différents neuromodulateurs et neurotransmetteurs. Comparée à l'éveil, l'activité cholinergique atteint un minimum pendant le SL, alors que durant le SP, cette activité est similaire voire supérieure à celle de l'éveil. Le cortisol, hormone du stress, évolue de manière similaire. La sérotonine et la noradrénaline sont présentes dans des concentrations importantes à l'éveil, intermédiaires pendant le SL et minimales lors du SP. Figure extraite de Rasch et Born (2013).

présence de saccades oculaires, présentes par intermittence durant cet état, et servant à le définir chez l'humain. On considère que ces mouvements oculaires prennent naissance dans la formation réticulaire pontique par la génération d'ondes pontiques ("*P-waves*" chez les rongeurs- Farber *et al.*, 1980), qui correspondraient aux pointes ponto-geniculo occipitales (PGO) caractérisées chez le chat par l'équipe de Jouvet. Il a été suggéré que ces ondes PGO puissent être reliées à l'imagerie onirique. Le SP se caractérise aussi par des « *twitches* », correspondant à de légers spasmes des muscles des extrémités (doigts, vibrisses), et par une activité oculomotrice phasique rapide (d'où sa dénomination de « *Rapid-Eye-Movement sleep* »). Alors qu'il est facile d'observer des ondes thêta (6-8 Hz) chez les rongeurs dans cet état, ceci est moins clair chez l'humain, où la conjonction des mouvements oculaires et d'une absence de tonus musculaire constituent des indices beaucoup plus fiables. Enfin, comme à l'éveil, une activité de haute fréquence, dite gamma (30-60 Hz), est également visible durant cet état.

Pour résumé, l'éveil actif comme le SP se traduisent au niveau cortical par une activité de faible amplitude, principalement caractérisée par le rythme thêta, alors que le SL présente surtout une activité corticale de basse fréquence et de grande amplitude, accompagnée de phénomènes phasiques comme les fuseaux néocorticaux et les SW-R de l'HPC.

Chez le rat, qui est un animal nocturne et notre modèle expérimental pour cette thèse, le SL et le SP sont prédominants lors de la phase lumineuse, avec en général, 30% de la phase sombre et 60% de la phase lumineuse passée en SL et 5% de la phase nocturne et 10% de la phase claire passée en SP.

## ***1.2 Les structures cérébrales et neuromodulateurs contrôlant l'alternance des états de vigilance***

Les structures responsables de l'activation corticale et de l'éveil sont principalement localisées à la jonction entre le pont et le mésencéphale. L'ensemble de ces structures sont définies sous le terme de système réticulaire activateur ascendant (*ascending reticular activating system*). Nous savons désormais que quelques populations neuronales discrètes sont responsables de l'éveil et de la désynchronisation corticale qui l'accompagne. Parmi les noyaux les plus importants, nous pouvons citer les noyaux tegmentaux pédonculo-pontique (*pedunculo-pontine tegmental nucleus - PPT*) et latérodorsaux (*laterodorsal tegmental*

*nucleus* - LDT). Ces noyaux pontiques envoient des afférences excitatrices cholinergiques vers les noyaux thalamiques en empêchant ces derniers d'être hyperpolarisés, permettant ainsi la transmission de l'information vers le cortex. Le prosencéphale basal contient également des neurones cholinergiques et à GABA (acide  $\gamma$ -amino butyrique) essentiels à l'éveil et à la désynchronisation corticale, dans la mesure où la lésion de cette région provoque le coma et des signaux EEG caractérisés par des oscillations lentes ( $< 1$  Hz). Enfin, un ensemble de groupes cellulaires mono-aminergiques sont également responsables de l'éveil par l'intermédiaire de leurs projections sur le thalamus, l'hypothalamus latéral, le prosencéphale basal, et le cortex (Saper, 1984). Ce système mono-aminergique comprend le *locus coeruleus* (noradrenergique), la matière grise péri-aqueducule ventrale (*ventral periaqueductal gray matter* - dopaminergique), le raphé dorsal et médian (sérotoninergique), et le noyau tubéro-mamillaire (histaminergique). En général, ces neurones déchargent plus pendant l'éveil que pendant le SL et ne montrent pratiquement aucune activité pendant le SP. L'hypothalamus latéral, qui reçoit des afférences de ces noyaux, projette également sur le prosencéphale basal et le cortex ainsi que sur les structures mono-aminergiques décrites plus haut.

Deux populations de neurones distinctes ayant un rôle dans l'alternance des états de vigilance ont été décrites au sein de cette structure. Les neurones à orexine (ou hypocrétine) sont actifs durant l'éveil et augmentent la décharge des neurones des noyaux tubéro-mamillaires, du locus coeruleus et du raphé. Une altération de cette population de neurones entraîne des transitions fréquentes et brutales entre états de vigilance, caractéristiques de la cataplexie (Chemelli *et al.*, 1999; Mochizuki *et al.*, 2004). D'autre part, les neurones contenant l'hormone de mélanine-concentration (melanin-concentrating hormone – MCH) ont des projections similaires mais sont actifs principalement au cours du SP au cours duquel on considère qu'ils inhibent le système mono-aminergique ascendant. L'ensemble de ces structures (à l'exception des neurones MCH) agissent donc de manière coordonnée en favorisant l'éveil. Il reste alors à définir comment ce système est progressivement inactivé pour aboutir au sommeil. Plusieurs études ont montré que le noyau pré-optique ventro-latéral (VLPO) joue un rôle dans l'inhibition de ces structures d'éveil (Sherin *et al.*, 1996). Les neurones de cette structure sont particulièrement actifs durant le sommeil et leur perte entraîne une insomnie importante ainsi qu'une fragmentation du sommeil (Lu *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 2009). Le VLPO contient deux populations de neurones. Le « cœur » du VLPO contient des neurones projetant principalement vers le noyau tubéro-mamillaire alors qu'un autre groupe cellulaire, plus diffus, projette principalement vers le *locus coeruleus* et le raphé. Ces

neurones contiennent de la galanine et du GABA, deux neurotransmetteurs inhibiteurs. Des connexions mutuellement inhibitrices ont donc été décrites entre le VLPO et les centres mono-aminergiques promoteurs de l'éveil. Le VLPO est en effet innervé par les axones des neurones histaminergiques du noyau tubéro-mamillaire, par les neurones serotoninergiques du raphé, et les neurones noradrenergiques du *locus coeruleus*. Il a été montré, *in vitro* que les neurones du VLPO sont inhibés par la sérotonine et la noradrénaline (Gallopín *et al.*, 2000). Le mécanisme d'interaction entre ces deux groupes neuronaux a alors été comparé à un mécanisme de type «*flip-flop*». Ce type de circuit utilisé en électronique est destiné à produire des transitions rapides entre états, tout en évitant les états intermédiaires. De ce fait, quand un groupe de neurones commence à prendre l'avantage sur l'autre, le rétro-contrôle négatif exercé par l'autre groupe diminue et promeut ainsi l'activité du premier groupe. Comme nous l'avons évoqué plus haut, les neurones à orexine permettraient de stabiliser ce mécanisme, notamment en renforçant l'activité des structures responsables de l'éveil (Hara *et al.*, 2001; pour revue, voir Saper *et al.*, 2010). La régulation de ces mécanismes reste mal connue à plusieurs égards. Cependant il est admis que le sommeil serait régulé à la fois par des facteurs circadiens, mais aussi de façon homéostatique et allostatique, c'est à dire en permettant à l'organisme de s'adapter au mieux aux conditions présentes et passées. Les neurones du VLPO ne joueraient pas de rôle direct en accumulant la pression de sommeil. Après des périodes prolongées de privation de sommeil, les neurones du VLPO restent en effet inactifs, mais déchargent cependant jusqu'à deux fois plus une fois l'animal endormi (Lu *et al.*, 2002). Certains considèrent donc qu'une substance hypnogène s'accumulerait dans le cerveau à l'éveil en augmentant ainsi progressivement la pression du sommeil (Saper *et al.*, 2010). L'adénosine est considérée comme le facteur fondamental de cette régulation, même si d'autres molécules pourraient également avoir cette fonction. En effet, durant l'éveil, le glycogène cérébral diminue en entraînant une diminution parallèle des stocks d'adénosine triphosphate (ATP). En conséquence, la consommation de l'ATP provoquerait une augmentation de la concentration extra-cellulaire en produits de dégradation comme l'adénosine. Cette adénosine exercerait son action principalement au niveau du prosencéphale basal. L'injection d'adénosine ou d'un agoniste des récepteurs A1 à l'adénosine dans cette région provoque le sommeil chez le chat (Strecker *et al.*, 2000), et l'injection d'agonistes des récepteurs A2a à proximité du VLPO entraîne également le sommeil chez le rat, ainsi qu'une augmentation de l'expression de Fos (marqueur d'activité neuronale) dans le VLPO (Scammell *et al.*, 2001).

Cependant, d'autres structures pourraient être responsables de cet effet hypnogène de l'adénosine. Lazarus (2013) propose que les ganglions de la base, et plus particulièrement le noyau accumbens (NAc), joueraient un rôle important dans la régulation du sommeil, notamment grâce à la forte expression des récepteurs à l'adénosine dans cette région. En effet, l'injection d'un agoniste sélectif des récepteurs A2a à proximité du prosencéphale basal produit un marquage fos dans le NAc. L'injection du même agoniste dans le *shell* du NAc produit une augmentation du SL et du SP (Sato *et al.*, 1999). Paradoxalement, nous avons beaucoup appris sur le sommeil grâce au besoin de l'homme d'augmenter toujours plus sa productivité en favorisant l'éveil par tous les moyens. La substance psycho-active la plus consommée dans le monde est en effet la caféine, un antagoniste des récepteurs à l'adénosine, tirée habituellement du café. En effet, il a d'abord été montré que la caféine induit une augmentation de l'éveil chez des souris sauvages et transgéniques, dépourvues de récepteurs A1 mais pas chez des souris dépourvues de récepteurs A2a (Huang *et al.*, 2005). Lazarus et collaborateurs (2011) ont plus tard montré que la délétion spécifique des récepteurs A2a dans le shell du NAc abolissait les effets éveillant de la caféine. En procédant à des lésions par l'acide iboténique chez le rat, Qiu et collaborateurs (2010) ont également montré que différentes structures des ganglions de la base sont impliquées dans la régulation du cycle veille-sommeil et de l'activation corticale. En effet, les lésions du striatum dorsal provoquent une réduction de 15% du temps passé en éveil et une importante fragmentation de ces épisodes d'éveil. A l'inverse, les lésions du NAc provoquent une augmentation de 27% de la quantité d'éveil ainsi qu'une diminution du SL. Les lésions du globus pallidus entraînent également une augmentation importante (45%) du temps passé à l'éveil et une réduction de la durée des épisodes d'éveil. Il a donc été proposé qu'une boucle reliant le caudoputamen, au globus pallidus, puis au cortex pourrait contrôler l'activation corticale caractéristique de l'éveil (Qiu *et al.*, 2010).

Le NAc est une structure pouvant, de part ses afférences, intégrer un grand nombre d'informations motivationnelles (par ses entrées dopaminergiques), contextuelles (par intermédiaire de l'HPC), émotionnelles (par ses afférences amygdaliennes) ainsi que des informations cognitives et exécutives supérieures issues du cortex préfrontal. Cette structure pourrait ensuite agir en retour sur les états de vigilance grâce à ses efférences inhibitrices vers le pallidum ventral, l'hypothalamus latéral, le noyau supra-mamillaire et le noyau parabrachial et pourrait de ce fait contribuer à la régulation et au maintien des états de vigilance. Le NAc possède également des connexions indirectes vers le cortex préfrontal (*via*

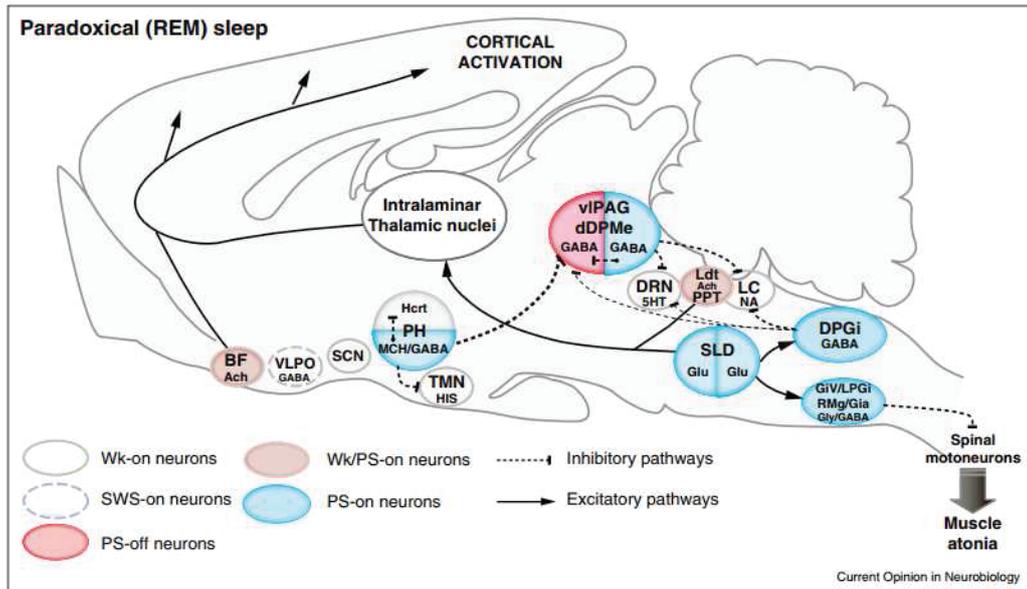
le pallidum ventral), qui pourraient ensuite agir au niveau du noyau tubéro-mamillaire, de l'hypothalamus latéral et du locus coeruleus et donc influencer le niveau d'activation corticale à l'éveil.

Les interactions uniques du NAc avec l'aire tegmentale ventrale, source du système dopaminergique méso-limbique, pourraient également participer au contrôle et à la stabilité des états de vigilance. Le niveau de dopamine extra-cellulaire est en effet largement diminué dans le NAc et dans le cortex préfrontal durant le SL par rapport à l'éveil et au SP (Léna *et al.*, 2005). Chez des souris transgéniques ne présentant pas de récepteurs D2 à la dopamine, on constate une diminution des quantités d'éveil et une augmentation du temps passé en SL et en SP, avec une profonde fragmentation des périodes d'éveil pendant la phase sombre. Cependant, le rebond de sommeil après des privations de 2h, 4h ou 6h n'est pas affecté chez ces souris transgéniques, amenant ainsi les auteurs à conclure que les récepteurs D2 auraient un rôle dans la maintenance de l'éveil, mais pas dans la régulation homéostatique du SL (Qiu *et al.*, 2010). Une autre étude, antérieure, s'est attachée à caractériser les états de vigilance par une analyse fine du potentiel de champ local (PCL) chez des souris hyperdopaminergiques ou, au contraire, complètement dépourvues de dopamine. Les auteurs ont alors constaté que les souris hyperdopaminergiques exposées à la nouveauté présentaient un nouvel état d'éveil dont les caractéristiques spectrales étaient très proches du SP, et que ce phénotype était réversible en présence d'un antagoniste des récepteurs D2 (Dzirasa *et al.*, 2006). En revanche, les souris déplétées en dopamine présentent une diminution très importante du SP, et un état d'éveil proche du SL, caractérisé par une augmentation de la puissance dans la bande delta et une forte diminution des oscillations gamma. Là encore, les récepteurs D2, mais pas les récepteurs D1, semblent impliqués dans ce phénotype particulier puisque seule l'activation sélective des récepteurs D2 permet de rétablir un phénotype physiologique (Dzirasa *et al.*, 2006).

La régulation circadienne du sommeil dépendrait, elle, principalement du noyau supra-chiasmatique, dont les neurones possèdent, grâce à un système de transcription-traduction (notamment des fameux gènes CLOCK et BMAL1), la propriété de moduler leurs fréquences de décharge sur un cycle de 24h. De façon surprenante, cette modulation persiste y compris quand les neurones ont été dissociés en culture cellulaire (Jin *et al.*, 1999). Cette structure, par l'intermédiaire du noyau dorso-médian de l'hypothalamus, régulerait de façon circadienne un grand nombre de fonctions comme la prise alimentaire, la libération d'hormones cortico-surréaliennes, la thermorégulation, ainsi que le cycle veille-sommeil, notamment par des projections sur le VLPO et l'hypothalamus latéral (Saper *et al.*, 2005).

Pour résumer, nous avons vu que l'apparition du SL est due à l'inactivation, principalement par le VLPO, de plusieurs structures mono-aminergiques responsables de l'éveil et de l'activation corticale. Les neurones à orexine de l'hypothalamus latéral, qui "consolident" l'éveil en empêchant les transitions aberrantes entre éveil et SP (observés en pathologie lors de crises de cataplexie) sont également inhibés par le VLPO pendant le SL. En parallèle, plusieurs autres structures, notamment les ganglions de la base, dont le NAc fait partie, serviraient à la fois à maintenir la stabilité de l'éveil et du sommeil (Qiu *et al.*, 2010), mais aussi à intégrer des signaux de nature très diverses comme la pression de sommeil (par l'intermédiaire de récepteurs A2a), la motivation ou l'état émotionnel de l'animal. La dopamine pourrait notamment jouer un rôle crucial dans ces modulations (Dzirasa *et al.*, 2006; Lazarus *et al.*, 2013; Qiu *et al.*, 2010). Le VLPO est enfin modulé indirectement de façon circadienne par le noyau supra-chiasmatique, mais peut également intégrer directement des informations métaboliques, comme le taux de glucose extra-cellulaire, capable d'accroître la décharge de certains neurones du VLPO (Varin *et al.*, 2015).

Le SP, dont nous avons décrit les principales caractéristiques précédemment, est un état de sommeil reposant sur un circuit cérébral tout à fait différent (**Figure 2**). Nous savons, notamment grâce aux expériences pionnières réalisées par M. Jouvet, que la génération du SP s'effectue par des neurones situés au niveau du tronc cérébral. En effet, après ablation du cervelet, du cortex cérébral, et même de toute autre structure rostrale au pont, le SP, caractérisé par l'atonie musculaire et la présence de mouvements oculaires rapides, peut encore être observé chez le chat dit « pontique » (Jouvet, 1965). Des approches lésionnelles plus précises ont alors permis d'identifier des groupes de neurones situés au niveau du *perilocus coeruleus*  $\alpha$ , de l'aire pontique inhibitrice, et du *nucleus subcoeruleus*, potentiellement responsables de la génération du SP. Une aire similaire, dénommée noyau sublatérodorsal (SLD), a ensuite été identifiée chez le rat. De nombreuses cellules du tegmentum latéro-dorsal et pédunculo-pontique (LDT/PPT) ainsi que du SLD déchargent de manière tonique pendant le SP. Des efférences excitatrices, glutamatergiques et cholinergiques, provenant de ces aires et projetant sur les noyaux thalamiques intra-laminaires seraient ainsi responsables de l'activation corticale caractéristique du SP (Boissard *et al.*, 2002; Fort *et al.*, 2009). Cependant, malgré la présence de nombreux neurones cholinergiques dans cette région, l'injection d'agonistes cholinergiques, comme le carbachol, dans le SLD, n'induit pas d'augmentation significative du SP chez le rat (Boissard *et al.*, 2002), alors qu'une seule injection de ce même agoniste dans le tronc cérébral du chat entraîne une augmentation



**Figure 2 : Réseau du SP durant l'initiation et le maintien de cet état.** Cette figure est extraite de la revue de Luppi et collaborateurs (2013). Ce schéma est essentiellement basé sur les résultats immunohistologiques de ce groupe après privation et rebond de SP. Comme nous le décrivons dans le corps de texte, certaines différences sont apportées par d'autres travaux, concernant notamment la délimitation des noyaux du tronc cérébral et de leurs caractéristiques électrophysiologiques (travaux de Sakai). D'autre part, le groupe de Dan a depuis apporté de fortes preuves montrant l'implication directe du bulbe rachidien dans l'induction et le maintien du SP (GiV et LPGi), et non dans la seule atonie musculaire comme décrit dans ce schéma. Abbreviations: 5HT, 5-hydroxytryptamine (sérotonine); Ach, acétylcholine; BF, ganglions de la base; DPGi, noyau réticulé dorsal paragigantocellulaire; dDPMe, noyau réticulé mesencéphalique profond; DRN, noyau du raphé dorsal; GABA, acide gamma-aminobutyrique; Gia, noyau réticulé alpha gigantocellulaire; GiV, noyau réticulé gigantocellulaire ventral; Gly, glycine; Hcrt, neurones à hypocrétine; His, histamine; LC, locus coeruleus; NA, noradrénaline; PH, hypothalamus postérieur; PS, Sommeil Paradoxal; SCN, noyau supra-chiasmatique; SLD, noyau sublatérodorsal; SWS, Sommeil Lent; TMN, noyau tuberomammillaire; vPAG, substance grise périaqueducule ventrolatérale; VLPO, noyau ventrolatéral préoptique; W, Eveil.

massive du SP (Vanni-Mercier *et al.*, 1989). En revanche, l'injection d'agonistes glutamatergiques dans le PPT ou le SLD induit de manière fiable à une augmentation du SP à la fois chez le rat et le chat (Datta et Siwek, 2002; Boissard *et al.*, 2002). Il a par ailleurs été montré que la majorité des neurones exprimant le marqueur d'activité Fos dans le SLD après un rebond de SP étaient glutamatergiques (Clément *et al.*, 2011). En combinant des techniques de privation de sommeil paradoxal, d'immuno-histochimie et de traçage rétrograde, il a plus tard été découvert que la partie ventro-latérale de la substance grise périaqueducule (vPAG) contenait des neurones GABAergiques inactivés pendant le SP, permettant ainsi la libération des neurones SP-on (déchargeant pendant le SP) du SLD d'un fort tonus inhibiteur (Lu *et al.*, 2006; Sapin *et al.*, 2009). En parallèle, le noyau paragigantocellulaire dorsal (DPGi), activé de manière tonique au cours du SP (Goutagny *et al.*, 2008), serait responsable de l'inhibition des neurones noradrenergiques du *locus coeruleus*

pendant cet état (Verret *et al.*, 2006). Enfin les neurones à MCH de l'hypothalamus latéral joueraient un rôle crucial dans l'initiation du SP. La MCH et le GABA, co-libérés par ces neurones, entraîneraient l'inhibition des neurones GABAergiques de la vIPAG qui exerceraient eux-même un tonus inhibiteur sur les neurones SP-on du SLD pendant l'éveil et le SL (Sapin *et al.*, 2010; Verret *et al.*, 2003; Hanriot *et al.*, 2007). Une fois activés, ces neurones SP-on du SLD provoqueraient également l'atonie musculaire caractéristique du SP, notamment par l'intermédiaire des noyaux gigantocellulaires ventraux (GiV) et paragonocellulaires latéraux (LPGi) dont les projections glycinergiques et GABAergiques entraîneraient l'hyperpolarisation des motoneurons de la moëlle épinière (Boissard *et al.*, 2002; Krenzer *et al.*, 2011). Il faut cependant signaler qu'une bonne partie de ces études ont été réalisées en utilisant un marquage immuno-histochimique (notamment c-fos) qui n'est pas visible dans toutes les structures, comme par exemple l'aire CA1 de l'HPC. Il faut donc relativiser certains de ces résultats en n'oubliant pas que certaines structures activées, pendant un rebond de SP par exemple, pourraient ne pas afficher ce marqueur et être ignorées (faux négatifs) par ces travaux. En effet si l'on regarde certains travaux électrophysiologiques, d'autres précisions peuvent être apportées sur les neurones impliqués dans l'induction et la maintenance du SP. Chez la souris, une structure proche, mais néanmoins différente du SLD décrit chez le rat, a par exemple été identifiée chez la souris sous le terme de noyau tegmental sub-latérodorsal (SubLDT). Cette structure, qui pourrait être plus proche du *peri-locus coeruleus alpha* décrite chez le chat, contient en effet des neurones à la fois cholinergiques, et non-cholinergiques. Les neurones cholinergiques de cette structure sont actifs seulement pendant l'éveil et le SP, ou préférentiellement actifs pendant ces deux états. Il est à noter que tous les neurones cholinergiques de cette région voient leur activité augmentée avant le début d'un épisode de SP (Sakai, 2012). Il a également été montré par le même auteur que certains neurones non-cholinergiques de cette structure étaient activés seulement pendant le SP (Sakai, 2015). Ces neurones ont la propriété d'anticiper par leur taux de décharge le début d'un épisode de SP et leur activité commence à décliner avant la fin de ces épisodes. De plus cette aire contient également des neurones non-cholinergiques SL/SP-on qui auraient également un rôle à jouer dans la maintenance et l'induction du SP (Sakai, 2015). Enfin, des études récentes semblent accorder une importance beaucoup plus grande aux neurones GABAergiques de la partie ventrale du bulbe rachidien (ou medulla) que la seule atonie musculaire. En effet, l'activation optogénétique de ces neurones pendant le SL suffirait à provoquer le SP (Weber *et al.*, 2015). Un groupe neuronal distinct de cette aire, induirait, par ses projections caudales, l'atonie musculaire (possiblement par le GiV et le LPGi), alors que

l'activation des projections GABAergiques rostrales suffirait à la fois à l'induction et à la maintenance du SP (Weber *et al.*, 2015; Weber et Dan, 2016). Les projections rostrales des neurones GABAergiques de la medulla ventrale inhiberaient les neurones de la vLPAG qui libérerait de son tonus inhibiteur les neurones promoteurs du SP dans le pont (Weber *et al.*, 2015; Weber et Dan, 2016).

## II. La Mémoire

### II.1 Les différents types de mémoire

Dans le but de mieux comprendre les études traitant des effets du sommeil sur la mémoire, nous devons d'abord définir cette dernière. Selon la définition générale du dictionnaire *Larousse*, la mémoire correspond à l'« *activité biologique et psychique qui permet d'emmagasiner, de conserver et de restituer des informations* ». Nous pouvons d'ores et déjà, grâce à cette définition, souligner que la mémoire n'est pas un phénomène uniforme, mais plutôt un ensemble de processus sériels. Nous pouvons donc, en premier lieu, distinguer la capacité d'emmagasiner des informations, généralement décrite dans la littérature comme phase d'acquisition, d'encodage ou d'apprentissage. La faculté de conserver l'information est quant à elle souvent décrite sous le nom de consolidation, ou de maintien en mémoire à long terme. Enfin, l'étape de restitution de l'information est appelée rappel dans la plupart des travaux traitant de la mémoire. Ces processus sont donc distincts et par conséquent susceptibles d'être affectés différemment par les états de vigilance.

Au-delà de ces différentes phases du processus de mémorisation – encodage, consolidation, rappel et/ou oubli, il est également classique de distinguer plusieurs types de mémoire selon un gradient temporel. En effet, la durée de rétention d'une information peut varier de quelques millisecondes à plusieurs dizaines d'années, voire toute une vie. Malgré les disparités sémantiques liées aux divers modèles d'étude, nous pouvons distinguer trois grandes catégories temporelles de mémoire. 1) La mémoire sensorielle (ms – 1sec) nous permet par exemple d'apprécier une scène visuelle dans son ensemble en unifiant les informations obtenues après diverses saccades oculaires. 2) La mémoire à court terme ou mémoire de travail (généralement considérée comme inférieure à la minute) peut nous servir par exemple à retenir les chiffres d'un numéro de téléphone avant de les taper sur un clavier. En effet, la mémoire de travail est souvent caractérisée par la nécessité de retenir une information avec

l'objectif de s'en servir pour un but particulier ultérieurement. On l'appelle également mémoire de travail car elle permet aussi d'effectuer un traitement sur les éléments retenus, comme dans le cadre d'opérations arithmétiques par exemple. Sa capacité, contrairement à la mémoire à long terme, est limitée (souvent établie à 3-4 éléments). Cependant, les théories actuelles considèrent que la mémoire de travail ne repose pas sur un réseau cérébral distinct de ceux impliqués en mémoire à long terme (pour revue voir Eriksson *et al.*, 2015). 3) Enfin, la mémoire à long terme ou mémoire de référence, est celle qui nous permet de stocker des informations durablement. Il peut ici être utile de préciser que les travaux traitant de mémoire à long terme peuvent couvrir des temporalités très diverses. En effet, chez l'homme, des tests effectués une heure après l'apprentissage sont considérés comme des tests de mémoire à long terme alors que cet intervalle d'une heure pourra être traité comme un délai de rétention à court terme chez le rongeur. Cette absence de standardisation dans le vocable se référant à des durées de mémoire particulières peut contribuer à expliquer certaines disparités entre les résultats obtenus chez l'homme et l'animal. Elle peut aussi être importante à prendre en compte dans la problématique qui nous intéresse. En effet, un délai de rétention de 24h implique nécessairement une phase d'inactivité (diurne ou nocturne selon que l'on considère les rongeurs ou les humains) comportant, ou non, du sommeil, ce qui n'est pas nécessairement le cas avec un délai de rétention d'une heure.

Enfin, la distinction la plus courante entre différents types de mémoire s'effectue selon la nature des informations stockées et/ou rappelées. Ces distinctions sont essentiellement applicables à différentes formes de mémoire à long terme. Le premier niveau sépare les mémoires non-déclaratives, qui ne peuvent pas être « déclarées », c'est à dire décrites par la parole chez l'humain, des mémoires déclaratives, qui elles, peuvent l'être. Cette dernière catégorie (subdivisée par Tulving en 1972) regroupe à la fois la mémoire sémantique (le fait de savoir que le musée du Louvre se trouve à Paris, sans pour autant l'avoir nécessairement visité), et la mémoire épisodique (le fait de se rappeler que j'ai visité le Louvre, lors d'un séjour à Paris, à une époque de ma vie donnée, et que j'y ai été frappé par la petite taille de la Joconde). En effet, la mémoire épisodique est donc une mémoire autobiographique, comprenant notamment des informations temporelles et spatiales associées au contenu du souvenir. Il est courant de considérer que les souvenirs sémantiques sont des mémoires épisodiques « décontextualisées » (Tulving, 2002). C'est-à-dire que j'ai vraisemblablement eu un souvenir épisodique, grâce à un professeur, dans une certaine salle de classe, m'expliquant que la révolution française avait eu lieu en 1789, alors que ne subsiste aujourd'hui dans mon

souvenir que l'association de l'évènement avec sa date. Ce processus de sémantisation des souvenirs épisodiques n'est pas trivial ici, puisque plusieurs travaux attribuent un rôle important au sommeil, et plus particulièrement au SP, dans cette « décontextualisation » des souvenirs autobiographiques (Goldstein et Walker, 2014). Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

A côté de la mémoire déclarative nous décrivons les mémoires de type non-déclaratives, ou implicites qui regroupent la mémoire procédurale (souvent illustrée par l'apprentissage de la bicyclette), les réflexes conditionnés, ainsi que les conditionnements émotionnels. Il est à noter que malgré ces distinctions pratiques, il est fort peu probable que ces systèmes mnésiques soient complètement cloisonnés et indépendants les uns des autres. Ils sont donc soumis à des interférences provenant d'apprentissages différents.

En appendice de ces schémas classiques de distinction des différents types de mémoire, nous souhaiterions mentionner l'existence de formes pathologiques de la mémoire. A l'inverse des dégénérescences provoquant la perte des capacités mnésiques dans de nombreuses pathologies neuro-dégénératives, des phénomènes de « sur-consolidation » de certains types de mémoire peuvent avoir des conséquences pathologiques dramatiques pour l'individu. C'est le cas par exemple du syndrome de stress post-traumatique, dans lequel un évènement, au cours duquel l'individu a eu peur pour sa vie, entraîne une consolidation pathologique de cette charge émotionnelle négative considérable. En résulte le fait que chaque petit indice contextuel, comme une odeur ou un bruit, présent lors de l'évènement traumatique, va suffire à faire revivre l'intégralité de la scène au sujet, avec le même tonus émotionnel, alors même qu'il n'encourt aucun danger.

A certains égards, l'addiction à des substances représente elle aussi une forme de mémoire pathologique. Malgré les conséquences néfastes évidentes de la prise répétée de ces substances, le sujet persiste à associer la prise de stupéfiants, et les éléments contextuels apparentés, au plaisir du « *high* ». Même en cas de sevrage prolongé, la réexposition à ces indices contextuels associés aux stupéfiants peut suffire pour provoquer une rechute. Cela démontre l'importance des processus mnésiques pathologiques à l'œuvre dans l'addiction.

Enfin, il serait incomplet de parler de la mémoire sans parler du phénomène d'oubli. Les études pionnières d'Ebbinghaus sur lui-même (publiées dans son ouvrage: *Sur la Mémoire*, 1885) mais aussi de Ribot (*Les Maladies de la mémoire*, 1906 - 1<sup>ère</sup> édition en 1881)

montraient déjà à quel point la mémoire est un processus dynamique, qui décroît au cours du temps. Pour caractériser ce phénomène, celui-ci s'est entraîné à apprendre une liste de pseudo-mots, puis à tester sa rétention de ces pseudo-mots à plusieurs temps après l'apprentissage. La courbe ainsi obtenue montre une décroissance rapide lors des premières heures qui se stabilise au cours du temps vers une asymptote correspondant à environ à 20% des pseudo-mots appris une semaine auparavant. L'oubli est donc un phénomène physiologique, pourtant relativement peu étudié par rapport à l'apprentissage. Nous allons donc dans la partie suivante, tenter d'aborder quels peuvent être les mécanismes aboutissant à l'oubli ainsi que les différentes théories traitant de ce phénomène particulier.

## *II.2 Mémoire, oubli et interférences.*

Comme nous l'avons évoqué, le phénomène d'oubli a été très tôt mis en évidence par les différentes expérimentations effectuées sur la mémoire. Pour expliquer ce phénomène, plusieurs théories ont été avancées, dont nous allons ici tenter d'exposer les grandes lignes.

### *La théorie du déclin (Decay theory)*

Thorndike (1914) inventa le terme de théorie du déclin à la suite des travaux d'Ebbinghaus. Selon cette théorie, les traces mnésiques s'affaibliraient spontanément par le simple écoulement du temps. Par conséquent, si l'information n'est pas rappelée et donc renforcée, celle-ci finira par être oubliée. Cette théorie présente l'avantage d'être relativement simple, bien qu'elle se soit avérée fautive par la suite. En effet, le simple écoulement du temps ne peut pas être la cause unique de cet affaiblissement des traces mnésiques. C'est nécessairement au niveau moléculaire et cellulaire que s'effectuent des modifications aboutissant aux pertes mnésiques, et le temps permet éventuellement l'accumulation de tels phénomènes. C'est donc plutôt la nature des événements se produisant dans un intervalle de temps donné plutôt que le seul temps lui-même qui pourrait aboutir à l'oubli. C'est ce qu'illustre par exemple les expériences de Jenkins et Dallenbach (1924) montrant que sur un même intervalle de temps, les sujets retiennent plus de pseudo-mots lorsqu'ils dorment que lorsqu'ils sont éveillés. Cette expérience montre en effet clairement que le temps n'est pas en lui-même responsable de l'affaiblissement des traces mnésiques. L'état de l'individu, et donc les mécanismes cérébraux intervenant durant un certain intervalle de temps sont donc déterminants dans le devenir des traces mnésiques.

### *Défaut de consolidation*

La consolidation désigne, comme nous l'avons mentionné précédemment, le processus permettant à des traces mnésiques récentes et labiles, de se stabiliser en mémoire à long-terme. John Wixted (2004) est un des grands défenseurs de la théorie proposant que l'oubli soit lié à un déficit de consolidation. Il s'appuie notamment sur la forme de la courbe d'oubli définie par Ebbinghaus et considère ainsi que le taux d'oubli est supérieur pour les souvenirs récents et donc supposément plus labiles, alors que les souvenirs les plus anciens, donc consolidés, déclinent à un rythme beaucoup plus faible. Wixted se base également sur les données issues de patients souffrant d'amnésie rétrograde en soulignant le fait que ceux-ci se rappellent fréquemment de leurs souvenirs très anciens alors que l'amnésie peut-être totale pour les souvenirs récents, ayant eu moins de temps pour se consolider. En revanche, cette théorie n'explique pas comment un souvenir, inaccessible un jour, peut être rappelé le lendemain. Ce genre de phénomène, relativement courant, montre qu'un trouble du rappel de l'information peut également être impliqué dans certaines formes d'oubli.

### *Répression*

Si l'information peut parfois ne pas être rappelée correctement, il a été proposé, notamment par Freud, que ce processus pourrait être un mécanisme de défense vis-à-vis de souvenirs nuisant à l'équilibre d'un individu. Freud évoquait avant tout la répression d'affects sexuels. Cependant, par extension, dans le cas d'un syndrome de stress post-traumatique, un souvenir extrêmement douloureux pourrait être sans cesse rappelé involontairement par l'individu avec de graves conséquences sur sa santé physique et mentale. Le mécanisme de répression serait donc un mécanisme de défense par lequel le sujet repousse ces souvenirs traumatiques dans son inconscient afin de protéger son esprit conscient (Anderson et Hanslmayr, 2014). Ce genre de souvenir serait donc temporairement oublié, par une répression de son rappel, tout en étant éventuellement accessible en certaines circonstances. Ce concept de répression a joué un rôle fondamental dans certains domaines de la psychologie et notamment dans certains courants psychanalytiques. Cependant, ces théories sont l'objet de nombreuses critiques et certains souvenirs réprimés ayant « refait surface » au cours de thérapies se sont avérés être de faux souvenirs et ont parfois abouti à de graves erreurs judiciaires (Lief et Fetkewicz, 1995). Pour notre travail toutefois, cette théorie s'avère peu intéressante dans la mesure où l'immense majorité des souvenirs que nous oublions ne sont en rien reliés à des événements traumatiques, ce qui rend donc l'hypothèse de la répression peu pertinente en tant que phénomène déterminant dans l'oubli.

### *L'oubli dépendant des indices (Cue-dependent forgetting)*

Nous encodons chaque information dans un contexte précis. L'oubli dépendant des indices se réfère à la notion qu'une information disponible en mémoire peut cependant ne pas être accessible si l'indice présent lors de l'encodage est absent lors du rappel. C'est par exemple le cas de la madeleine de Proust, où l'odeur de ces fameuses madeleines permet à Proust de se remémorer des souvenirs de son enfance qu'il pensait oubliés. Tulving (1974) effectue la distinction entre les indices internes, se référant par exemple à notre état physique (heureux, triste, fatigué...) et les indices externes (odeurs, maison d'enfance, école, musique...). Il suggère que des informations acquises en présence de certains indices ne peuvent être rappelées qu'en présence de ces indices. Dans une expérience ayant pour but de tester cette théorie, il a été demandé à des plongeurs d'apprendre une liste de mots, soit sur terre, soit sous l'eau. Lors de la phase de test, les plongeurs qui avaient appris la liste sous l'eau et essayaient de se la remémorer sous l'eau ont obtenu des meilleures performances de rappel que ceux qui avaient appris la liste sous l'eau mais dont le test avait eu lieu sur la terre ferme (Godden et Baddeley, 1975), prouvant l'importance des indices environnementaux dans le rappel de ces souvenirs. Cependant, nos capacités cognitives sont assez flexibles pour se remémorer dans un contexte « B » ce que l'on a appris dans un contexte « A ». Un enfant n'a en effet pas besoin de se trouver dans sa salle de classe pour raconter le soir à ses parents ce qu'il a appris pendant la journée. L'oubli doit donc dépendre d'autres facteurs que les seules différences de contexte entre l'acquisition et le rappel des souvenirs.

### *Interférences*

McGeoch (1932) fut le premier à proposer la théorie des interférences pour expliquer le phénomène d'oubli de manière alternative aux théories mentionnées ci-dessus. Le fait que la mémoire humaine soit fondamentalement associative joue un rôle déterminant dans ce cadre théorique. En effet, le rappel d'un souvenir est guidé par des indices ou des stimuli ayant été associés à ce même souvenir. Le rappel de ce souvenir peut donc rentrer en compétition avec d'autres souvenirs ayant été associés aux mêmes indices. De ce fait, le rappel de la réponse cible peut être inhibé par le rappel d'autres réponses associées. Ces autres réponses peuvent avoir été apprises avant, ou après la réponse cible. Il est donc possible de distinguer entre interférences pro-actives et rétro-actives. Par exemple, si l'on éprouve des difficultés à se rappeler du nom de jeune fille d'une amie car nous avons ensuite appris son nom d'épouse, alors nous souffrons d'interférences rétro-actives. Au contraire, si connaître le nom de jeune fille de cette amie nous empêche de nous rappeler de son nom d'épouse, nous souffrons

d'interférences pro-actives. Ces interférences ont été principalement étudiées chez l'humain. Le protocole classique consiste à examiner les interactions entre deux ensembles associatifs, A-B et A-C, où A constitue le stimulus et B et C différentes réponses associées. Ce protocole peut se référer à une grande diversité d'associations. A peut par exemple être un ensemble de visages, auquel le sujet doit associer un ensemble de prénoms, B. A-B peut également être l'association d'un objet avec sa désignation dans une langue, alors que A-C correspondra à l'association d'un objet avec le mot correspondant dans une autre langue. Il est donc possible d'étudier comment l'apprentissage de A-B va influencer sur l'apprentissage de A-C (interférences pro-actives), ou comment l'apprentissage de A-C affecte la mémoire de l'association A-B (interférences rétro-actives). Il est ensuite possible de faire varier un grand nombre de paramètres sur ces apprentissages. Par exemple, plus la similarité entre les listes B et C est forte, plus ces deux listes vont entrer en compétition lors de la présentation du stimulus A, et donc diminuer les performances lors du test (Loess, 1968). L'intervalle de temps entre l'apprentissage de ces deux associations est également un facteur important dans la mesure où il a été montré que plus l'intervalle entre l'apprentissage des deux listes est court, plus l'apprentissage de A-C sera affecté par l'association A-B (Loess et Waugh, 1967). L'effet des interférences pro-actives peut également dépendre de la quantité d'information accumulée avant l'apprentissage cible. Keppel et Underwood (1962) ont ainsi montré que lorsque le nombre de listes apprises avant l'association A-C augmente, les performances de rappel de l'association A-C diminuent.

Les études traitant de l'effet des interférences chez le rat sont cependant beaucoup plus rares. La plupart des travaux sur ce modèle animal sont réalisées au moyen d'études comportementales dans un labyrinthe radial à 8 bras. En accumulant les essais, Roberts et Dale (1981) ont constaté que le pourcentage de réponses correctes décroît en fonction du nombre d'essais réalisés au préalable, ce qui correspond aux effets observés chez l'humain (Keppel et Underwood, 1962). La similarité entre ces essais joue également un rôle important puisque des interférences pro-actives ont été observées lorsque le rat doit choisir de manière répétée entre les mêmes bras lors d'essais successifs (Roberts, 1992). D'autre part, il est possible d'atténuer cet effet de similarité en changeant les indices distaux entre différents essais (Cohen *et al.*, 1994). Enfin, l'intervalle de temps entre les essais joue également un rôle important. Dans la même étude, Cohen et collaborateurs (1994) ont constaté une disparition de l'effet des interférences pro-actives en augmentant le délai inter-essais de deux minutes à deux heures.

En revanche, l'effet des interférences rétro-actives s'est avéré beaucoup plus difficile à mettre en évidence chez le rat. Avec des rats entraînés à visiter 4 bras récompensés, toujours dans un labyrinthe radial, Olton et Samuelson (1976) ont soumis ces animaux à différentes stimulations, comme l'exposition à des sons, à des odeurs, et même à la visite de 4 bras dans un labyrinthe placé dans une pièce différente, avant de les retester dans le labyrinthe d'origine. Ils n'ont alors trouvé aucune différence entre les performances des rats expérimentaux, et celles des rats contrôles, non exposés aux stimuli interférents. D'autres auteurs ont également échoué à mettre en évidence ce phénomène d'interférences rétro-actives chez les rats (Beatty et Shavalia, 1980 ; Maki *et al.*, 1979). Lors d'expériences ultérieures, Roberts (1981) exposa des rats à 4 bras récompensés, puis, en guise de matériel interférant, força ces derniers à entrer dans les bras de un à trois labyrinthes identiques, placés dans des pièces différentes. Lors du test, il observa, en accord avec les travaux précédents, que la réalisation d'essais forcés dans un autre labyrinthe n'induit pas d'interférences rétro-actives, mais que l'exposition à trois labyrinthes différents altérait significativement les performances des rats (Roberts, 1981). Cependant, il se pourrait que le nombre de récompenses obtenues dans les labyrinthes interpolés entraîne une diminution de la motivation qui pourrait être responsable de l'effet observé. En conclusion, même si l'effet d'interférences pro-actives a été démontré chez l'homme comme chez l'animal, le phénomène d'interférences rétro-actives, largement documenté chez l'humain, reste, à notre connaissance, à mettre en évidence chez le rongeur.

Dans les années 1970 et 1980, quand les chercheurs commencèrent à construire des modèles théoriques mimant les capacités du cerveau à enregistrer des souvenirs, ils ont trouvé que les modèles neuronaux utilisés tendaient à montrer des interférences « catastrophiques » lorsque de nouvelles informations étaient ajoutées à celles préalablement stockées, provoquant l'oubli rapide de ces dernières (Marr, 1971; McCloskey et Cohen, 1989; French, 1999). Cela est dû entre autre au fait que différentes informations sont stockées dans ces réseaux de manière recouvrante, c'est-à-dire qu'une synapse peut participer au stockage de différentes informations, comme c'est le cas dans le cerveau. Alors que nous venons de montrer que de nouveaux apprentissages interfèrent sur le rappel d'anciennes informations, il est clair que le niveau de perturbation observé dans les expériences comportementales est bien plus faible que celui prédit par les modèles de réseaux neuronaux mentionnés auparavant (McCloskey et Cohen, 1989 ; French, 1999). Il est donc possible d'envisager les phénomènes d'oubli et d'interférences comme des mécanismes adaptatifs permettant au cerveau de ne retenir que les

informations essentielles afin d'éviter les interférences catastrophiques constatées sur les modèles informatiques.

### *Rôle adaptatif de l'oubli*

Dans un autre type d'approche, dite d'oubli dirigé (*directed forgetting*), Bjork et collaborateurs (1968) ont exposé des participants à des nombres, associés à deux pseudo-mots, et ont explicitement demandé aux sujets, avant leur présentation, que certains des premiers mots, ou parfois les deux mots, pouvaient être oubliés, alors que les autres devaient être retenus. Ils ont alors observé que lorsque les deux mots de l'association devaient être retenus, seulement 15% des seconds mots cibles étaient cités lors du rappel, alors que 39% des cibles l'étaient lorsque le premier élément devait être oublié. Ils ont alors conclu qu'autoriser les sujets à oublier le premier des deux mots réduisait les interférences pro-actives sur le deuxième, améliorant ainsi son rappel. Dans un sens, ce paradigme d'oubli dirigé permettait donc une libération vis-à-vis des interférences pro-actives et optimisait ainsi le rappel des informations les plus nécessaires.

Dans la vie de tous les jours, il est incontestable que de nombreuses informations que nous retenons pendant une courte période ne sont ensuite plus nécessaires, voire gênantes. C'est par exemple le cas de l'emplacement de sa voiture sur une place de parking. Si l'on se rend dans le même magasin tous les jours ou toutes les semaines et que l'on se souvenait de chaque place de parking utilisée lors des visites réalisées les cinq dernières années, nous aurions rapidement des difficultés à retrouver notre voiture à cause des interférences liées aux jours précédents. En effet, nous avons souvent tendance à considérer l'oubli comme une mise en échec de nos capacités mnésiques, alors que l'oubli, comme nous l'avons vu, peut permettre de mieux retenir les informations importantes. Certains cas cliniques comme celui de Jill Price, première patiente diagnostiquée du syndrome d'hyperthymésie, plaident en effet pour ce rôle favorable de l'oubli. Ce syndrome est caractérisé par une remémoration automatique, incontrôlable et permanente des événements passés par le patient (Parker *et al.*, 2006). Cette patiente est capable de décrire chaque événement, majeur ou mineur, ayant eu lieu à n'importe quelle date entre 1974 et aujourd'hui. Alors que nombreux sont ceux qui voient les capacités de cette femme comme un don prodigieux, celle-ci vit cette mémoire « pathologique » comme un fardeau qui l'empêche notamment d'oublier les moments déplaisants de son existence.

Il est également facilement possible de trouver des aspects adaptatifs à l'oubli chez les animaux. Après un conditionnement de peur au son, par association avec un choc électrique,

un rongeur montrera un comportement de peur lors des premières présentations de ce son seul lors du test. En revanche, si ce son est présenté de manière répétée sans l'occurrence d'un choc électrique, l'animal cessera alors de montrer ce comportement de peur. Ce phénomène est désigné sous le terme d'extinction. Bien que l'on considère la plupart du temps l'extinction comme un nouvel apprentissage, il existe tout de même en mémoire un conflit entre le souvenir de l'association son-choc, et le nouvel apprentissage dans lequel le son n'est plus qu'un stimulus neutre. L'animal doit donc résoudre le conflit entre deux souvenirs dans lesquels le son est associé à deux événements différents dans le but d'adapter son comportement. L'ancienne association son-choc devient alors non-pertinente et est donc à considérer comme une information interférente à oublier (Bouton, 1991, 1993).

### *II.3 Les structures impliquées dans la mémoire*

De nos jours, il paraît logique, voire évident, que les différents types de mémoire que nous avons évoqués précédemment ne font pas appel aux mêmes substrats anatomiques. Encore fallait-il le démontrer. Au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, la phrénologie, promue par Franz Joseph Gall, incarne une des premières tentatives d'attribuer une fonction à chaque partie du cerveau. Elle postule que chaque bosse du crâne reflète le développement d'une partie du cerveau, et plus particulièrement du cortex sous-jacent, permettant ainsi d'associer la taille de ces bosses à certains traits de personnalité comme la gaieté, la bienveillance ou la causalité. Cette doctrine souvent décrite comme à l'origine des théories du « criminel-né », ne résistera pas longtemps à la critique, provenant principalement du physiologiste Pierre Flourens, dont les travaux semblaient montrer, au contraire, que les fonctions psychiques ne pouvaient être localisées dans telles ou telles aires cérébrales. Flourens avait ainsi pratiqué des ablations cérébrales sur des oiseaux et avait montré que c'était la taille de ces lésions plus que leurs localisations qui était responsable des déficits observés après ses différentes chirurgies. Cependant, Gall, dont les travaux princeps portaient sur la structure du cerveau, mentionnait le cas d'un soldat ayant subi une lésion de son lobe frontal gauche et ayant développé à la suite de cette lésion une aphasie, un trouble de l'élocution. Ces travaux furent repris par Paul Broca, qui, grâce à l'étude des cerveaux de patients aphasiques sera le premier à associer convenablement une aire restreinte du cortex cérébral (qui d'ailleurs portera son nom) à une fonction, le langage.

Il faudra attendre le cas clinique du désormais célèbre Henry Gustav Molaison (ou patient H.M.) à partir du milieu du XX<sup>ème</sup> siècle, et de son étude, notamment par Brenda Milner, pour

comprendre pour la première fois que le lobe temporal, et en particulier l'HPC, joue un rôle clé dans les fonctions mnésiques. C'est pour traiter H.M. d'une épilepsie sévère dont il pensait que le foyer se trouvait dans l'HPC que William Scoville procéda à la résection bilatérale de celui-ci, ainsi que de certaines structures avoisinantes du lobe temporal médian, dont l'amygdale. Par la suite, H.M. éprouva de nombreux troubles mnésiques permanents, souffrant principalement d'amnésie antérograde, et était donc presque incapable de former de nouveaux souvenirs. Il est intéressant de noter qu'au cours des années qui ont suivi son opération, il avait tout de même réussi à se forger quelques nouveaux souvenirs, comme le fait que ses parents étaient morts ou que « quelqu'un du nom de Kennedy avait été assassiné ». Certains pensent que la charge émotionnelle forte de ces souvenirs serait responsable de leur encodage via d'autres parties du système limbique. Il est également important de noter que H.M. avait conservé certaines capacités d'apprentissage moteur, non explicites. Enfin, H.M. souffrait également d'une amnésie rétrograde, concernant des souvenirs antérieurs à son opération et remontant à environ 11 ans avant celle-ci (Squire, 2009).

H.M. est donc un des premiers cas ayant permis d'identifier une structure clé pour la mémoire. Plus important encore, l'étude de ses troubles mnésiques a permis de comprendre que la mémoire n'était pas uniformément stockée dans une partie du cerveau mais que certaines facultés mnésiques étaient visiblement dissociées anatomiquement, comme c'était le cas pour les apprentissages moteurs chez ce patient. Cette observation est à l'origine du concept de mémoire procédurale. Enfin, il est à noter que, de manière remarquable, les plus anciens souvenirs de H.M. étaient préservés, signifiant que la trace mnésique de ceux-ci avait été intégrée complètement par d'autres structures, inspirant vraisemblablement la théorie de consolidation systémique, sur laquelle nous reviendrons. Cette théorie propose que les souvenirs les plus anciens « migrent » de l'HPC vers d'autres structures, possiblement frontales.

En effet, au-delà des avancées majeures en psychologie cognitive sur la compréhension du fonctionnement de la mémoire, les études sur H.M. ont inspiré la génération suivante de neurobiologistes à étudier systématiquement les fonctions de différentes parties du cerveau. Tentant, sans succès, de répéter et standardiser ces expériences chez le singe par des lésions similaires, William Scoville, le chirurgien de H.M., se heurta rapidement au faible niveau de connaissances en matière d'évaluation de la mémoire et de ses substrats anatomiques chez l'animal. En effet, malgré une résection bilatérale de l'HPC, les singes étaient toujours capables d'effectuer la tâche de discrimination visuelle à laquelle ils étaient soumis.

Effectivement, la tâche de discrimination visuelle utilisée est acquise chez le singe sur plusieurs centaines d'essais. De ce fait cette tâche repose plus sur l'habitude que sur la mémoire de référence à proprement parler, et, dans cette version, implique les ganglions de la base plutôt que l'HPC. Cela explique donc l'absence d'effet comportemental chez les singes hippocampo-lésés. Suite au raffinement des techniques d'étude du comportement animal dans la deuxième moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, les neuroscientifiques ont alors pu, à la manière de Claude Bernard aux débuts de la *méthode expérimentale*, commencer à étudier systématiquement l'impact de lésions standardisées de différentes parties du cerveau sur les fonctions cognitives d'un groupe d'animaux. Cette approche lésionnelle systématique, possible uniquement chez l'animal non-humain, est à la base du développement phénoménal des connaissances relatives à la neurobiologie de la mémoire.

#### *II.4 Les réseaux, plus importants que les structures isolées*

Mortimer Mishkin eut donc, en 1978, l'ingéniosité de recourir à une tâche d'appariement d'objets avec délai. De manière surprenante pour l'époque, il montra que ni les lésions de l'HPC, ni les lésions de l'amygdale n'affectaient cette tâche chez le singe, mais que ceux-ci voyaient leurs capacités mnésiques considérablement réduites par une lésion combinée de ces deux structures. Dans cet article, Mishkin émet donc l'hypothèse que des réseaux mnésiques redondants et fonctionnellement chevauchants pourraient conduire à la préservation des performances de l'animal lorsque seul l'HPC ou l'amygdale serait lésés. L'auteur souligne déjà que l'HPC et l'amygdale sont deux structures partageant beaucoup plus de projections communes, afférentes comme efférentes, que celles que l'on connaissait peu de temps avant la publication de ses travaux. Il souligne en effet que ces deux structures reçoivent toutes deux des afférences de zones associatives frontales et temporales, directes pour l'amygdale, et par le biais du cortex entorhinal pour l'HPC. Il note également que ces structures projettent toutes les deux vers les mêmes structures du diencephale et du prosencéphale basal; par l'intermédiaire de la voie amygdalofugale et la *stria terminalis* pour l'amygdale, et *via* le fornix pour l'HPC. Il propose donc que des réseaux mnésiques jusqu'alors inconnus puissent sous-tendre le maintien des performances en cas de lésion de l'une ou l'autre des deux structures (Mishkin, 1978).

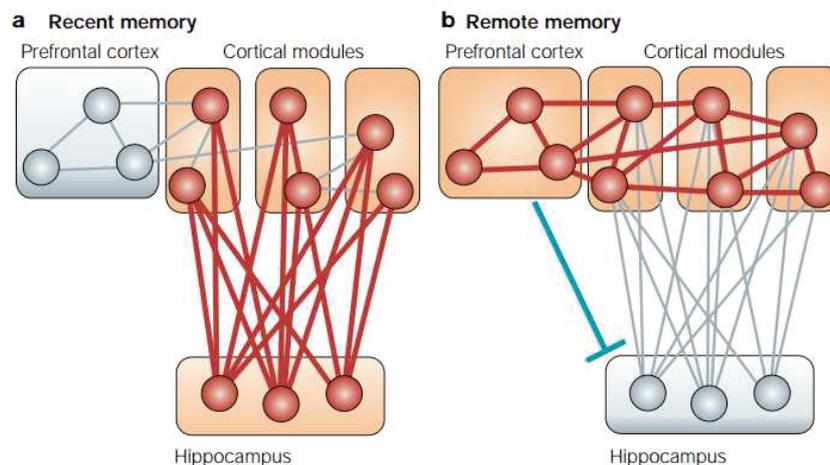
Pour autant, même si de nombreux types de souvenirs impliquent un large réseau, chaque structure possède par ailleurs sa propre représentation neurale de l'évènement, possiblement

en partie redondante par rapport au type d'information encodée dans d'autres parties du réseau. Les travaux de Joseph Ledoux ont ainsi grandement contribué à la compréhension du rôle de l'amygdale dans la mémoire émotionnelle, et ont fait de ce type de mémoire une des mieux connues à l'heure actuelle. Ses travaux, ainsi que d'autres, montrent que l'amygdale est indispensable au conditionnement associatif son-choc électrique (pour revue voir Ledoux, 1992). Ce type d'apprentissage pavlovien, relativement simple repose sur l'arrivée dans l'amygdale d'informations sensorielles en provenance du thalamus et du cortex. Là encore, il a été montré que la voie thalamo-cortico-amygdalienne et la voie thalamo-amygdalienne sont chacune, à la fois suffisantes et non-nécessaires, pour acquérir ce conditionnement simple. Ceci conforte l'idée d'une mémoire, au sens général du terme, basée sur de multiples réseaux, partiellement ou totalement indépendants bien que redondants.

Cependant, les souvenirs, au sens commun du mot, sont plus complexes qu'un simple apprentissage pavlovien. Ils sont notamment très souvent étroitement liés au contexte dans lequel ceux-ci se sont formés. Le conditionnement de peur au contexte est une des tâches permettant d'étudier ce phénomène. Elle consiste à faire subir à un rongeur un choc électrique, apparié ou non avec un son, dans un contexte déterminé, puis de tester séparément, sans le choc, l'effet de la réexposition, au contexte ou au son, sur le comportement de peur; la plupart du temps comptabilisé par le temps passé par l'animal en immobilité ou *freezing* (Blanchard et Blanchard, 1972; Bouton et Bolles, 1980). L'acquisition de l'association contexte-choc a été montrée comme impliquant nécessairement l'HPC, contrairement à l'association son-choc (Phillips et LeDoux, 1992). En revanche, la même année, J. Kim et M. Fanselow sont parvenus à démontrer que l'HPC n'était plus nécessaire pour l'expression de peur au contexte à partir de sept jours après le conditionnement, alors qu'il l'était un jour après apprentissage (Kim et Fanselow, 1992). Il existe donc, au sein du cerveau, une réorganisation des traces mnésiques, impliquant que certaines structures sont indispensables à un moment de l'apprentissage, mais qu'elles peuvent se désengager au profit d'autres aires cérébrales plus tard dans le temps. Ces observations, en donnant une possible explication de l'aspect partiel de l'amnésie antérograde de H.M., sont à la base des théories de consolidation systémique.

## II.5 La consolidation systémique et la réorganisation des traces mnésiques

Le phénomène de consolidation systémique (pour revue, voir Frankland et Bontempi, 2005) semble être caractérisé par un désengagement progressif de l'HPC au cours du temps. Dans une tâche de discrimination spatiale, Bruno Bontempi et ses collègues ont montré, par histo-autoradiographie, que la consommation de glucose dans l'HPC était plus importante après réactivation de souvenirs récents (5 jours) qu'après réactivation de souvenirs plus anciens (25 jours). En parallèle, ils ont observé une plus grande activation du cortex préfrontal, notamment du cortex cingulaire antérieur, pour des souvenirs anciens. Cette étude fut ainsi très influente dans la détermination d'une aire potentiellement impliquée dans le stockage des informations à long terme. Selon cette théorie de la consolidation, l'HPC servirait, au moment de l'acquisition d'un souvenir, à mettre en relation différents modules corticaux codants différents paramètres du souvenir. Puis, progressivement, l'émergence de nouvelles connexions cortico-corticales conduirait à lier ces différents modules du souvenir,



**Figure 3: Le cortex préfrontal et la mémoire à long terme.** Les résultats d'études d'imagerie et d'inactivation chez les modèles animaux indiquent que le cortex préfrontal pourrait avoir des rôles dissociés lors du rappel de la mémoire à long terme. Initialement, les souvenirs sont encodés dans les réseaux hippocampo-corticaux. A ce moment, l'HPC est crucial pour intégrer l'information issue de modules corticaux distribués, dont chacun représente les différentes composantes d'un souvenir (A). Cependant, lors de la stabilisation du souvenir, des connexions entre les différents modules corticaux sont renforcées, autorisant la trace mnésique à devenir progressivement indépendante de l'HPC. Ensuite, le rôle intégratif serait assuré par le cortex préfrontal (B), par des connexions réciproques avec les cortex sensoriel, moteur et limbique. En accord avec ce modèle, les lésions du cortex préfrontal perturbent le rappel de souvenirs anciens tout en préservant le rappel des souvenirs récents. Ce modèle propose aussi que le cortex préfrontal régule l'activité de l'HPC lors du rappel. Ce dernier est normalement actif lorsqu'il traite les informations provenant de l'environnement. Cependant, quand une information entrante correspond à une trace mnésique corticale préalablement stockée, le cortex préfrontal inhibe l'activité hippocampique pour éviter l'encodage d'information redondante. En l'absence de correspondance, il n'y a pas d'inhibition et l'HPC est impliqué normalement. Figure extraite de Frankland et Bontempi (2005).

possiblement sous l'influence du cortex préfrontal, pour les rendre finalement indépendants de l'HPC. D'ailleurs, Frankland et Bontempi proposent également dans leur revue que le cortex préfrontal inhiberait activement l'HPC lors du rappel de tâche connue, afin d'éviter un ré-encodage inutile voire nuisible de l'information déjà codée (**Figure 3**). Il faut toutefois noter que la relative indépendance du souvenir vis à vis de l'HPC est à mettre en regard de l'aspect contextuel et épisodique du souvenir. En effet, d'autres auteurs suggèrent que lorsque la tâche nécessite une composante contextuelle et temporelle forte, celle-ci semblerait être irrémédiablement dépendante de l'HPC. Ainsi, la théorie des traces multiples considère que l'HPC et le néocortex continuent toujours à interagir en mémoire épisodique (Nadel et Moscovitch, 1997). Il est alors fondamental de souligner que si réorganisation progressive il y a, celle-ci ne s'effectuerait pas par le simple écoulement du temps. Il a récemment été montré que la période au bout de laquelle une mémoire spatiale devenait indépendante de l'HPC variait en fonction de la force de l'apprentissage. En effet, en comparant l'effet d'inactivations locales avant le rappel d'une tâche spatiale acquise, soit en apprentissage massé simple, soit en apprentissage massé double, De Jaeger et collaborateurs (2014) ont mis en évidence, dans le deuxième cas, un désengagement de l'aire CA3 de l'HPC après seulement 24h de rétention. A l'inverse, ils montrent qu'une injection de lidocaïne dans le cortex cingulaire antérieur avant le rappel de la tâche acquise suivant un protocole d'apprentissage intensif altère significativement les performances des rats à 24h alors que ce n'est pas le cas pour la tâche acquise de manière plus légère. Ces données récentes semblent indiquer que la force de l'apprentissage et/ou le nombre de réactivations sont des critères déterminants pour la réorganisation de la trace mnésique. Dans leur revue, Frankland et Bontempi insistent sur cet aspect clé de la réorganisation. En effet, la réactivation des traces hippocampiques, donnerait lieu, dans de nombreuses structures, à la répétition de motifs d'excitations neuronales relatifs à l'expérience encodée. Ces réactivations peuvent se faire « en ligne », c'est à dire par le rappel de certains apprentissages, mais aussi et surtout « hors ligne », c'est à dire pendant l'éveil calme et le sommeil durant lesquels les animaux ne sont pourtant pas stimulés pour se rappeler telles ou telles informations. Nous reviendrons ultérieurement sur ces réactivations « hors ligne » dans la partie évoquant les liens entre sommeil et mémoire.

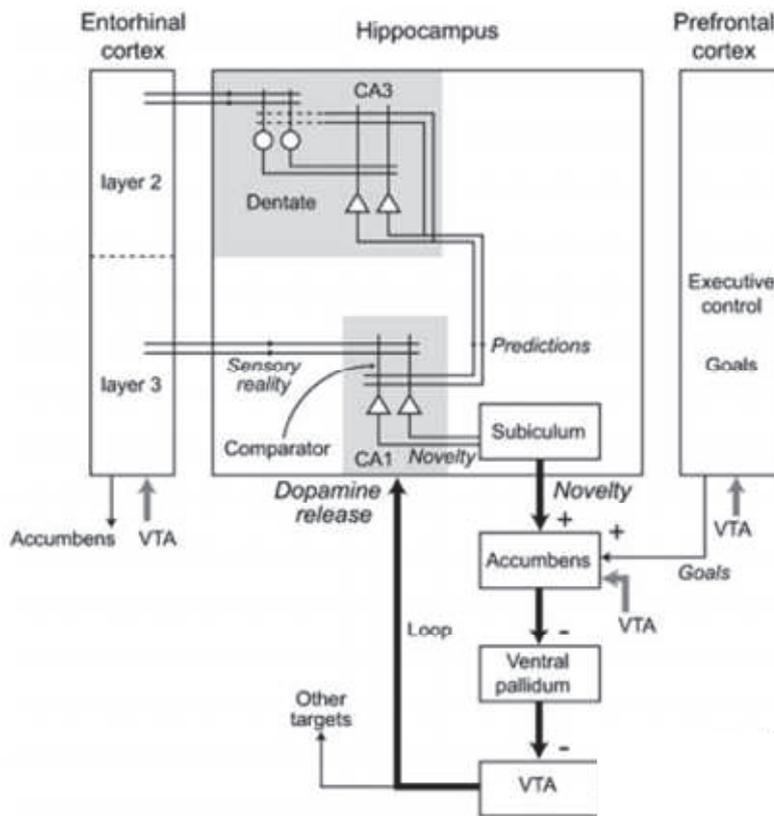
## II.6 Le Nucleus Accumbens au cœur des réseaux liant apprentissage et émotion.

L'apprentissage étant un mécanisme adaptatif, il peut servir soit à éviter des situations dangereuses pour l'animal, soit, au contraire, à mieux exploiter les ressources présentes dans l'environnement. Si nous avons rapidement évoqué plus haut le rôle de l'amygdale dans les comportements d'évitement, d'autres structures sont quant à elles impliquées dans les comportements orientés vers un but. C'est le cas par exemple lors d'un conditionnement opérant ou instrumental. Ce type d'apprentissage nécessite de manipuler des éléments de l'environnement afin que le sujet obtienne généralement une récompense, ou évite un stimulus aversif. Cela nécessite l'interaction de plusieurs structures afin d'organiser les séquences comportementales appropriées pour obtenir la récompense, ainsi que pour évaluer l'impact des actions effectuées. Ces processus requièrent, entre autre, l'interaction du cortex préfrontal médian (CPFm), de l'HPC et du NAc (Corbit et Balleine, 2000, 2003; DeCoteau *et al.*, 2007; Jurado-Parras *et al.*, 2013). Alors que l'on considère que le CPFm et l'HPC sont chargés de faire le lien entre l'action effectuée et l'impact de celle-ci, le NAc serait responsable de l'encodage de la valeur de la récompense. En effet, cette structure est considérée depuis de nombreuses années comme la clef de voûte du système de récompense, en interaction avec les neurones dopaminergiques, et plus spécifiquement ceux de l'aire tegmentale ventrale (VTA). Ces neurones sont à l'origine de la voie dopaminergique mésolimbique, dont le rôle dans le renforcement et l'apprentissage est étudié depuis de nombreuses années (pour revue, voir Schultz, 2007). Ces neurones projettent directement, et massivement, vers le NAc. En retour, celui-ci permettrait une activation de la VTA, via une inhibition du pallidum ventral, provoquant la levée de la contrainte inhibitrice sur la VTA. Le NAc fait donc également l'objet, logiquement et depuis des années, de très nombreuses études portant sur la récompense et l'addiction. Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, le NAc est une structure du striatum ventral situé dans une position clé du cerveau, car il reçoit des entrées synaptiques convergentes du CPFm, de l'amygdale, de l'HPC et de la VTA. Cela a mené à l'idée que le NAc contrôle les comportements orientés vers un but par intégration des informations contextuelles, dépendantes de l'HPC, et des informations émotionnelles, dépendantes de l'amygdale, avec les fonctions cognitives du CPFm afin de sélectionner les réponses comportementales appropriées. A ce stade de l'exposé, nous tenterons de résumer les principales connexions existantes entre les structures citées précédemment. En premier lieu, nous nous devons de préciser que l'HPC comporte au niveau du Subiculum ventral (Subv) -

sortie du circuit tri-synaptique - une projection *via* le même faisceau de fibres, appelé fornix/fimbria, à la fois sur le CPFm et sur le NAc, mais aussi sur l'amygdale. Le CPFm exerce lui, une forte influence monosynaptique sur le NAc et sur l'amygdale. Il projette aussi indirectement sur l'HPC (*via* un noyau thalamique, le *nucleus reuniens*). Enfin, le NAc relaye ces informations *via* le pallidum ventral sur la VTA, qui projette directement sur le NAc, mais aussi sur bien d'autres structures comme le CPFm et l'HPC (Pour revue, voir Sesack et Grace, 2010).

D'un point de vue fonctionnel, chez le rat anesthésié, les neurones du NAc alternent régulièrement entre un état dépolarisé (« *up-state* »), propice au déclenchement de potentiels d'action (PA), et un état hyperpolarisé (« *down-state* »), globalement silencieux (O'Donnell et Grace, 1995). Or, il a été montré que les afférences issues du Subv déclenchent ces « *up-states* » dans le NAc (O'Donnell et Grace, 1995). Par ailleurs, le Subv projette également sur le CPFm, qui exerce lui-même une forte influence mono-synaptique sur le NAc. Une inactivation du CPFm aboutit à une forte atténuation de l'influence du Subv sur le NAc (Belujon et Grace, 2008). Ces structures semblent pourtant exercer une compétition pour l'influence sur le NAc. L'ensemble de ces résultats reste à être confirmé chez l'animal vigile. L'induction d'une potentialisation à long terme de la voie HPC-NAc ou CPFm-NAc aboutit à une dépression à long terme de l'autre voie (Goto et Grace, 2005a). En retour, une libération massive de dopamine par la VTA conduit à une activation des récepteurs dopaminergiques de type D1 dans le NAc, et peut ainsi entraîner une augmentation de l'influence de l'HPC sur le NAc. L'infusion de SKF38393, un agoniste des récepteurs D1, dans le NAc, augmente en effet l'amplitude des potentiels évoqués dans cette structure par des stimulations électriques au niveau du Subv. Ainsi, en présence d'une forte quantité de dopamine, le NAc est plus influencé par l'HPC, alors qu'une faible quantité de dopamine est plus favorable à un contrôle par le CPFm (Goto et Grace, 2005b).

La connexion, allant de la VTA vers l'HPC est considérée, notamment par Lisman et Grace (2005), comme le dernier bras d'une boucle reliant ensemble HPC, NAc et VTA (**Figure 4**). Cette boucle est par ailleurs influencée par le CPFm. L'interdépendance considérable entre ces structures, ainsi que les rôles respectifs attribués à l'HPC dans la mémoire et la détection de la nouveauté (Lee *et al.*, 2005), et à la transmission dopaminergique dans le renforcement et la plasticité synaptique (Schultz, 2007; Frey *et al.*, 1990), rendent cette boucle fonctionnelle particulièrement intéressante. En effet, de nombreuses études montrent un rôle déterminant de l'HPC, et en particulier de la région CA1, dans la détection de la nouveauté (Lee *et al.*, 2005),



**Figure 4 : Connectivité au sein de l'hippocampe et de la boucle HPC-VTA.** Les afférences du gyrus denté arrivent à partir de la couche 2 du cortex entorhinal. Le gyrus denté et CA3 envoient vers CA1 des séquences stockées préalablement. CA1 compare ensuite ces prédictions avec les informations provenant directement de la couche 3 du cortex entorhinal. Après comparaison dans CA1, les signaux de nouveautés passent par le subiculum pour atteindre le NAc et de là, sont relayés jusqu'aux neurones dopaminergiques de la VTA. La boucle est complétée par les fibres dopaminergiques ascendantes innervant l'HPC. Figure extraite de Lisman et Grace (2005).

même si d'autres régions hippocampiques pourraient être impliquées. Le Subv, constituant la sortie hippocampique, reçoit à la fois des informations issues de CA1 et des informations émotionnelles par l'amygdale (Amaral *et al.*, 1991; French *et al.*, 2003). Cette nouveauté détectée par l'HPC aboutirait à la décharge des neurones dopaminergiques de la VTA 50-100ms après l'apparition d'un stimulus nouveau (Ljungberg *et al.*, 1992). Le Subv est donc idéalement placé pour contrôler la transmission d'informations saillantes vers ses structures efférentes. Par exemple, en réponse à un son rare, il est possible d'enregistrer un signal dans le Subv 50 à 80ms après le début du son rare (Steinfels *et al.*, 1983). D'autre part, il est possible d'observer une libération de dopamine dans le NAc dans les minutes qui suivent l'exposition d'un rat à un nouvel environnement (Legault *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'inactivation sélective du Subv ou de la VTA empêche cette libération de dopamine en

réponse à la nouveauté (Legault *et al.*, 2000). Enfin, l'activation du Subv suffirait également à provoquer la libération de dopamine dans le NAc (Blaha *et al.*, 1997) par activation des neurones dopaminergiques de la VTA (Taepavarapruk *et al.*, 2000 ; Floresco *et al.*, 2001). Bien que ces effets sur la mémoire soient mal compris, la dopamine ainsi libérée serait à même de favoriser les processus de consolidation mnésique. Par exemple, au niveau systémique, il a été montré que la prise de Levodopa (L-dopa, le précurseur des catécholamines et intermédiaire dans la synthèse de la dopamine et de la noradrénaline) par des volontaires sains, favoriserait les performances mnésiques (Knecht *et al.*, 2004). De même, la présence de l'allèle codant pour une dégradation plus lente de la dopamine par la catécholamine-O-méthyltransférase (COMT), aboutissant donc à des taux de dopamine plus élevés chez ces individus, améliore également l'apprentissage (de Frias *et al.*, 2004). Malgré les très nombreuses études sur le rôle de la dopamine dans l'addiction et la prise alimentaire, il apparaît donc très probable que le rôle du NAc et de la dopamine soit central dans de nombreux types d'apprentissages différents.

### *II.7 Importance de la connexion Hippocampe – Nucleus Accumbens dans la mémoire*

Bien que l'HPC soit la structure la plus étudiée dans le cadre de l'apprentissage, plusieurs travaux suggèrent un rôle du NAc dans la mémoire. La lésion de cette structure à l'acide iboténique a d'abord permis de mettre en évidence une altération des performances de discrimination spatiale dans un labyrinthe en T, ainsi que dans la piscine de Morris (Annett *et al.*, 1989). La même année, il a été suggéré que les afférences glutamatergiques du NAc, en provenance de l'HPC, auraient un rôle dans l'exécution d'une tâche appétitive en labyrinthe radial (Schacter *et al.*, 1989). Les auteurs de cette étude suggèrent que le NAc pourrait être impliqué dans le transfert de l'information spatiale hippocampique vers les structures motrices. La collaboration entre un groupe de chercheurs de l'université de Toulouse, et de "La Sapienza", à Rome, a montré plus tard que le NAc jouerait un rôle dans des apprentissages, spatiaux ou non, ne comportant pas de renforcement explicite. Ces auteurs ont d'abord comparé l'effet de deux antagonistes glutamatergiques dans une tâche examinant à la fois la réactivité aux changements spatiaux, mais aussi à l'introduction d'un nouvel objet. Cette tâche consiste à placer cinq objets dans un espace circulaire ouvert (*open field*), puis, après trois sessions d'apprentissage, à déplacer deux de ces objets. Enfin, lors de la dernière session, un des objets non déplacés est substitué par un nouvel objet, inconnu de la souris. Les

souris contrôles, dans cette tâche, ont tendance à explorer préférentiellement aussi bien les objets déplacés que les nouveaux objets. Ils ont alors comparé l'effet de l'injection du dl-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5), antagoniste des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA), directement dans le NAc, avec l'effet produit par des lésions (acide iboténique) au niveau des trois principales afférences limbiques de celui-ci, à savoir le fornix, le cortex prélimbique, et l'amygdale. Seules les lésions du fornix, dont les fibres proviennent de l'HPC ventral, altèrent spécifiquement la ré-exploration de l'objet déplacé, mimant ainsi les effets de l'antagoniste NMDA dans le NAc. Cependant, alors que les injections d'AP5 effectuées directement au sein du NAc provoquent une augmentation de l'activité locomotrice, cet effet n'est pas présent après la lésion à l'acide iboténique du fornix. Les lésions du CPFm provoquent une augmentation aspécifique de l'exploration vers tous les objets, alors que les lésions dans l'amygdale sont responsables d'une latence plus courte avant exploration des objets déplacés (Sargolini *et al.*, 1999). A ce stade de l'exposé, il nous paraît intéressant d'intégrer les informations mentionnées jusqu'ici dans un contexte plus global. Ainsi, les afférences hippocampiques du NAc sont cruciales pour l'apprentissage spatial, y compris en l'absence de renforcement explicite. Ce rôle spatial du NAc est très probablement directement lié aux afférences hippocampiques passant par le fornix. Cette structure est donc bien un nœud crucial intégrant les informations spatiales de l'HPC, surtout lorsqu'une bouffée de dopamine signale un événement saillant ou un renforcement. Le NAc peut, en retour, favoriser la consolidation d'une information en stimulant indirectement la VTA (*via* le pallidum ventral), favorisant ainsi la libération de dopamine, notamment dans l'HPC dorsal. Enfin, le NAc, intégrant toutes ces informations, peut également influencer une prise de décision, par son influence sur le CPFm, mais aussi déclencher une séquence motrice appropriée *via* ses afférences sur le striatum dorsal.

Alors que les évidences pointant vers un rôle du NAc dans les apprentissages spatiaux s'étoffaient au fil des années, peu de données étaient alors disponibles sur l'implication possible du NAc dans la reconnaissance d'objet, traitée par des réseaux différents. Forts de ce constat, les chercheurs de Rome et de Toulouse ont alors réalisé dans le NAc des injections locales d'AP5 et de 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione (DNQX), antagoniste des récepteurs  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Méthyl-4-isoxazolepropionic Acid (AMPA) avant et immédiatement après la tâche non-spatiale de reconnaissance d'objet. Durant la phase d'apprentissage de cette tâche, on présente à la souris deux objets identiques, dont l'un est remplacé par un objet nouveau lors du test. Contrairement aux souris contrôles qui ont tendance à explorer le nouvel

objet pendant le test, les souris ayant reçu une injection de DNQX ou d'AP5 avant l'apprentissage ne montrent aucune préférence vis à vis de l'objet remplacé. En revanche, si l'on injecte les souris après la phase d'apprentissage, seules celles qui ont reçu de l'AP5 ne montrent pas de préférence lors du test à 24h (Sargolini *et al.*, 2003). Le fonctionnement du NAc, et plus précisément de ses afférences glutamatergiques, est donc nécessaire à l'acquisition d'une tâche non-appétitive. D'autre part, le blocage des récepteurs NMDA après l'apprentissage n'entrave en rien les possibles fonctions du NAc lors de l'acquisition. Pourtant la perturbation des afférences au NAc, durant la phase de consolidation suivant l'exposition aux objets, semble altérer les performances mnésiques des rongeurs. Cette étude semble donc montrer que des phénomènes associés à la consolidation et dépendants des récepteurs NMDA dans le NAc pourraient être indispensables, non seulement pendant, mais aussi après la phase d'apprentissage. Cela tend donc à montrer que le rôle de l'afférence hippocampique du NAc n'est pas limité à un signalement bref de nouveauté lors de l'apprentissage, mais qu'elle est aussi impliquée dans la consolidation de la trace mnésique après l'encodage de celle-ci. Les auteurs de l'étude ont ensuite démontré que la transmission dopaminergique (aussi bien celle dépendante des récepteurs à la dopamine de type D1 que D2) était indispensable à la consolidation d'une information spatiale, les injections ayant été réalisées là encore, après apprentissage (Mele *et al.*, 2004). Une étude ultérieure du même groupe a également confirmé que des processus relatifs à la consolidation synaptique, tels que l'induction de CREB (*cAMP response element-binding protein*) ou la synthèse protéique, étaient nécessaires dans le NAc pour la consolidation d'une tâche spatiale en piscine de Morris (Ferretti *et al.*, 2010). Cette littérature est particulièrement intéressante dans la mesure où elle permet d'apprécier à sa juste valeur la contribution du NAc et de son innervation dopaminergique et glutamatergique, sur la mémoire, indépendamment des phénomènes de récompense, au sens classique du terme. En effet, même si l'échappement hors de l'eau, dans une piscine de Morris, pourrait être considéré par certains comme une forme de renforcement positif, il est *a priori* exclu que l'exploration spontanée d'un objet déplacé constitue, pour la souris, une récompense intrinsèque, autrement que par le seul caractère saillant de cette nouveauté.

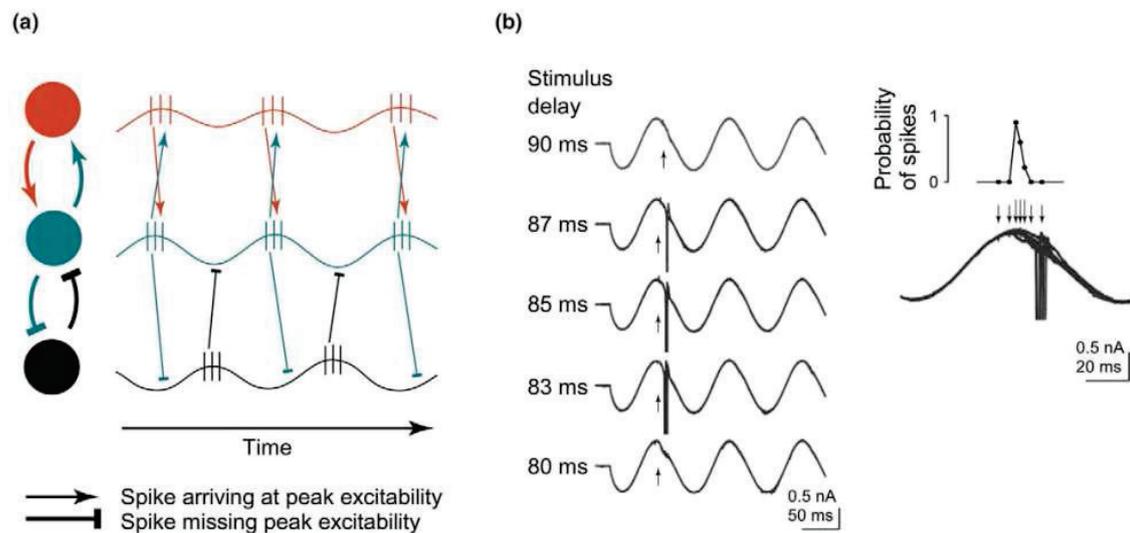
D'un point de vue électrophysiologique, Lavoie et Mizumori (1994) ont d'abord suggéré que, comme dans l'HPC, les neurones du striatum ventral pourraient décharger selon une sélectivité spatiale. Cependant, une étude récente attribue ces plus anciennes observations à des indices proximaux, et montre plutôt un rôle complémentaire du NAc et de l'HPC dans le codage d'informations relatives à la récompense et à la localisation spatiale (Lansink *et al.*,

2012). En effet, les champs récepteurs des cellules de lieux de l'HPC deviennent plus précis lorsqu'un indice signale la présence d'une récompense. Les neurones du striatum ventral, principalement actifs à l'approche des zones de récompense, voient, eux aussi, leurs taux de décharge augmenter lorsqu'un indice indique la présence de récompense. Les représentations encodées par les neurones de l'HPC et du striatum ventral sont ainsi capables de s'adapter ensemble lorsqu'une tâche spatiale est associée à un degré de motivation élevée. Cela pourrait ainsi permettre à l'animal d'orienter son comportement en fonction de son propre emplacement, et des zones susceptibles de lui apporter un bénéfice.

Il serait cependant réducteur de n'évoquer l'implication de cette voie de projection hippocampique qu'en terme de mémoire spatiale. Comme mentionné précédemment, le fornix porte les projections de l'HPC ventral non seulement vers le NAc, mais aussi vers le CPFm et l'amygdale. Un article récent du groupe de Thomas Klausberger tend pour la première fois à disséquer cette projection grâce à une élégante étude optogénétique et électrophysiologique des neurones de projection de l'HPC ventral (Ciocchi *et al.*, 2015). Leurs travaux mettent en évidence un routage spécifique des informations issues de l'HPC en fonction de la zone de projection du neurone. Les neurones de l'HPC projetant vers le CPFm semblent véhiculer les informations relatives à l'anxiété, alors que ceux projetant vers le NAc indiquent l'approche d'une zone de récompense, par l'inhibition ou l'augmentation de leur taux de décharge. Il est intéressant de noter que ce profil de décharge est régulièrement observé dans le NAc et la VTA. L'HPC serait donc susceptible d'influencer les profils de décharges des neurones du NAc et de la VTA constatés à l'approche d'une zone récompensée, ou en présence des indices signalant une telle récompense. Pour finir, les auteurs ont identifié une catégorie de neurones hippocampiques, projetant simultanément sur le CPFm, le NAc, et l'amygdale, dont l'activité globale sur les trois tâches testées est supérieure aux autres neurones. De manière remarquable, ces neurones semblent plus activés que les autres au cours des complexes SW-R de l'éveil (Ciocchi *et al.*, 2015). Ainsi, nous avons vu plus haut que le NAc constituait un nœud crucial à l'interface de plusieurs fonctions cognitives. Les projections issues de l'HPC ventral passant par le fornix constituent donc une « artère » d'information déterminante, composée de fibres spécialisées, à destination de plusieurs structures comme le NAc, le CPFm et l'amygdale. Ce faisceau de fibre issu de l'HPC paraît donc impliqué dans de nombreuses fonctions, comme la prise de décision, la consolidation, et l'intégration d'informations, notamment émotionnelles et spatiales.

## II.8 Connectivité fonctionnelle et apprentissage

Les approches lésionnelles puis électrophysiologiques mentionnées ci-dessus ont donc grandement contribué à la compréhension des réseaux impliqués dans l'apprentissage. Cependant, elles ont toutes deux leurs limites. Les approches lésionnelles ne permettent pas de déduire le fonctionnement du cerveau en condition normale mais permettent surtout de connaître l'implication d'une structure dans une tâche donnée. Par ailleurs, les approches électrophysiologiques préalablement mentionnées nécessitent souvent l'existence de connexions mono-synaptiques entre les structures, ce qui limite donc les aires susceptibles d'être étudiées. De plus, à de rares exceptions près, ces études sont impossibles chez l'humain car fortement invasives. Pour autant, afin de comprendre les relations et interactions entre les différentes parties du cerveau, il est souvent nécessaire d'avoir une vision plus générale de leur fonctionnement conjoint durant l'exécution de tâches comportementales. Pour cela, les approches dites de connectivité fonctionnelle permettent d'étudier les corrélations provenant de types de signaux variés entre aires cérébrales distinctes, sans pour autant avoir une mesure directe de la force synaptique entre ces régions. Nous précisons bien que ces mesures, si diverses soient-elles, ne reflètent pas nécessairement les connexions anatomiques entre structures mais bien les interactions entre groupes de neurones ou aires cérébrales participant à une fonction donnée. Les signaux ainsi corrélés peuvent être de nature variés et donc possiblement acquis par des méthodes non-invasives. C'est le cas par exemple des études en Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle (IRMf) ou en EEG. Dans les premières, on mesure indirectement l'activité métabolique de la totalité du cerveau par l'acquisition des signaux issus de la transformation de l'oxyhémoglobine en désoxyhémoglobine qui ont des propriétés magnétiques différentes. Cette mesure, appelée signal BOLD (pour *Blood Oxygen Level Dependent*), acquise à des périodes de l'ordre de la seconde, reflète donc la consommation en oxygène des différentes parties du cerveau, supposée refléter l'activité de celles-ci. Il est ensuite possible de mesurer la co-variation de ce signal BOLD entre différentes aires, et ainsi d'inférer la coopération de ces aires dans différents types de comportement. Dans les méthodes EEG, à l'instar des études en PCL, on mesure la somme des PPSE (Potentiel Post-Synaptique Excitateur) et des PPSI (Potentiel Post-Synaptique Inhibiteur) émise par les neurones à proximité de la zone d'enregistrement, mais cela à travers le crâne et le scalp. A partir des signaux électriques bruts, il est ensuite possible d'inférer les interactions entre structures en procédant à divers calculs. La cohérence d'activité entre deux



**Figure 5: La communication neuronale par la cohérence. (A)** Les PA qui arrivent aux pics d'excitabilité du groupe receveur sont indiqués par des flèches. Les PA arrivant en dehors de ces périodes d'excitabilités sont indiqués par des flèches tronquées. Les groupes neuronaux rouge et vert présentent des fluctuations d'excitabilité cohérentes et leur communication est donc effective. Le groupe neuronal noir, en revanche, présente des périodes d'excitabilité qui ne sont pas cohérentes avec le groupe vert. La communication entre les groupes vert et noir est donc minimale. **(B)** Potentiels de membrane lors de la combinaison d'une injection de courant sinusoïdal et de la stimulation électrique d'un axone afférent. L'instant où l'axone est stimulé est modifié de façon à ce que l'entrée synaptique arrive au neurone enregistré, soit précisément au pic d'excitabilité, soit peu de temps avant ou après ce pic. Figure extraite de Fries (2005)

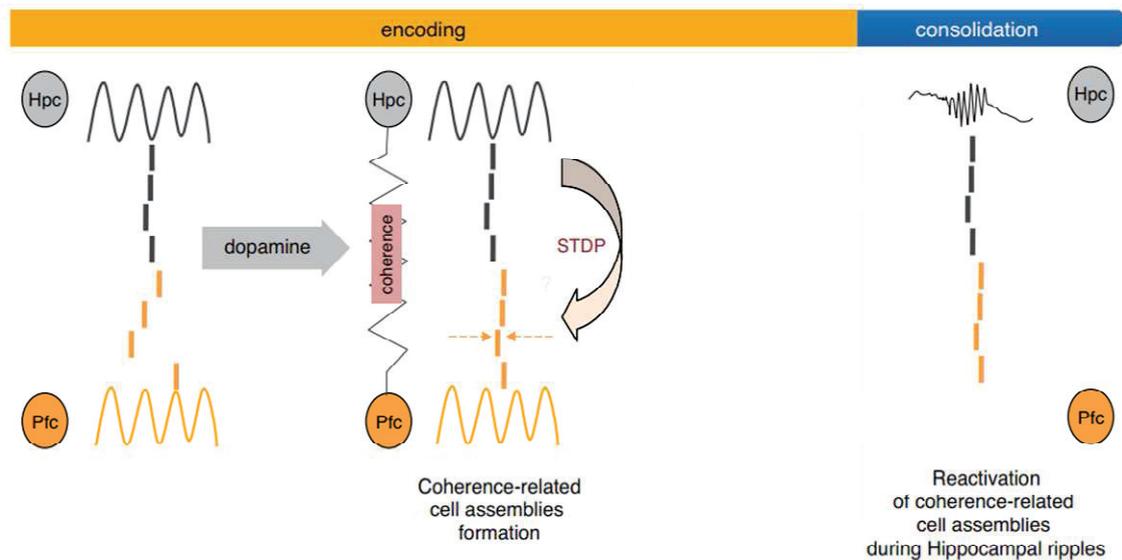
aires cérébrales, mesurant l'évolution en amplitude et en phase de deux signaux acquis simultanément, peut par exemple être estimée.

Les méthodes d'IRMf, même si elles présentent une résolution spatiale et temporelle modeste, présentent l'avantage de pouvoir évaluer l'activité du cerveau dans un grand nombre d'aires simultanément. Cela permet par exemple d'observer sans à priori les aires spécifiquement recrutées après un sommeil post-apprentissage. Gais et collaborateurs (2007) ont ainsi montré que durant le rappel d'une liste de mots, le sommeil post-apprentissage favorisait les réponses hippocampiques, mais surtout que la connectivité fonctionnelle entre l'HPC et le CPFm était favorisée par ce sommeil post-apprentissage. De plus, lors d'un rappel à six mois de la même liste de mots, les sujets ayant bénéficié d'un sommeil post-apprentissage montraient une plus grande activation du CPFm. Ces données, chez l'homme, tendent donc à prouver le rôle du sommeil dans la consolidation systémique de la mémoire déclarative. En outre, le même groupe a plus tard étudié le rôle du sommeil post-apprentissage sur le rappel de souvenirs émotionnels à très long terme (six mois), en utilisant une tâche de rappel d'images à valence émotionnelle neutre, positive ou négative. Leurs données montrent

que les individus autorisés à dormir dans la nuit suivant l'acquisition de la tâche présentent, durant le rappel à six mois, une connectivité fonctionnelle plus importante entre CPFm ventral et le précuneus, ainsi qu'entre le CPFm ventral, l'amygdale, et le cortex occipital (Sterpenich *et al.*, 2009). Là encore, ces données d'imagerie tendent à montrer le rôle du sommeil dans la consolidation systémique des souvenirs émotionnels en vue de leur rappel à long terme.

Nous l'avons donc vu, les études d'imagerie sont susceptibles de nous apporter des informations cruciales quant aux interactions entre plusieurs aires cérébrales liées à l'apprentissage. Cependant, comme nous l'avons mentionné plus haut, les données recueillies sont uniquement basées sur des variations conjointes de la consommation d'oxygène dans le cerveau, sans que l'on puisse réellement déterminer la nature des interactions entre les différentes régions considérées. En revanche, l'étude des PCL nous renseigne sur l'activité mésoscopique réelle de grands groupes de neurones, et ceci avec une très haute résolution temporelle. Cette activité, lorsqu'elle est enregistrée simultanément dans plusieurs régions, nous permet d'étudier la communication entre ces régions. En effet, Pascal Fries proposa en 2005 que la synchronisation des oscillations entre une aire émettrice et une aire réceptrice permettrait aux neurones de ces deux aires d'être simultanément dans des phases d'excitabilité similaires. Les oscillations d'un groupe neuronal ouvriraient et fermeraient rythmiquement des fenêtres de communication entre ces groupes (**Figure 5**).

De fait, ces propriétés de connectivité fonctionnelle ont d'abord été particulièrement étudiées au niveau des aires visuelles afin d'expliquer comment les décharges de différents neurones pouvaient être intégrées dans une représentation unifiée (Singer *et al.*, 1997). Depuis, de très nombreuses publications mettent en exergue le rôle de cette cohérence oscillatoire à travers une multitude d'aires, dans un nombre croissant de fonctions, au premier rang desquelles figure la mémoire. Par exemple, Jones et Wilson (2005) ont été les premiers à montrer que la cohérence dans la bande thêta entre l'HPC et le cortex préfrontal était accrue dans des conditions requérant une forte demande en mémoire de travail. De plus, cette augmentation était accompagnée d'un accroissement de la corrélation croisée des décharges neuronales des deux structures étudiées. Par la suite, Benchenane et collaborateurs (2010) ont montré que la cohérence thêta entre le CPFm et l'HPC augmente au fur et à mesure de l'apprentissage dans la phase de choix d'un labyrinthe en Y. Par ailleurs, durant les époques de haute cohérence thêta après apprentissage, les neurones du CPFm tendent à harmoniser la phase du thêta au cours de laquelle ils déchargent. Durant ces phases de haute cohérence, les auteurs de l'étude ont donc constaté que l'apprentissage entraîne la formation d'assemblées



**Figure 6: La formation d'assemblées neuronales et leur rôle dans la consolidation.** Pendant les périodes de faible cohérence (avant l'acquisition de la règle), les cellules pyramidales du CPFm déchargent indifféremment pendant tout le cycle thêta. Après l'acquisition de la règle, la prédiction de récompense promeut la libération de dopamine dans le CPFm qui augmente la cohérence HPC-CPFm. Les cellules pyramidales du CPFm sont alors beaucoup plus modulées par le thêta hippocampique et ont tendance à décharger dans les creux du thêta (possiblement par une augmentation de l'efficacité des interneurons inhibiteurs déchargeant aux pics du thêta). L'augmentation de la modulation par le thêta et la concentration des PA du CPFm dans une fenêtre restreinte de 30-40ms les rendraient sensibles aux règles de la STDP (*Spike-Timing Dependent Plasticity*). La LTP (voir partie III) au niveau des synapses liant les neurones de l'assemblée conduirait à leur réactivation au cours des SW-R du sommeil post-apprentissage et permettrait ainsi la consolidation de l'assemblée en mémoire à long terme. Figure extraite de Battaglia *et al.*, 2011.

neuronales dans le CPFm déchargeant simultanément. Les décharges de ces assemblées neuronales ont aussi tendance à être "rejouées" après apprentissage préférentiellement durant les SW-R, ce qui pourrait permettre la formation de ces assemblées (**Figure 6**). Il est très probable que la dopamine soit impliquée dans ces processus de formation d'assemblées neuronales dans la mesure où son infusion locale dans le CPFm de rats anesthésiés aboutit à des phénomènes très similaires. La dopamine participerait également à ce processus en améliorant la précision temporelle des décharges inter-neuronales dans le CPFm en réponse à des stimulations hippocampiques (Tierney *et al.*, 2008). Il est également possible que la VTA contribue à optimiser la communication entre l'HPC et le CPFm au fur et à mesure d'un apprentissage appétitif. En effet, un rythme à 4Hz synchroniserait les oscillations gamma du CPFm, de l'HPC et de la VTA spécifiquement lorsque l'animal se trouve dans la phase de choix d'un labyrinthe en T (Fujisawa et Buzsaki, 2011). Dans cet article, les auteurs ont aussi réussi à identifier des sous-ensembles de neurones dans le CPFm et l'HPC, prédictifs du choix de l'animal. Ces neurones tendent à être beaucoup plus synchronisés à l'oscillation à 4Hz et au thêta, par rapport aux autres neurones enregistrés. Cependant, la mémoire est loin d'être la

seule fonction affectant cette cohérence entre le CPFm et l'HPC. Il a également été montré que lors de l'entrée dans un environnement anxiogénique, la cohérence thêta entre l'HPC ventral et le CPFm s'accroît, dû notamment à une augmentation de la puissance du thêta dans cette dernière structure corrélée aux comportements d'anxiété. De plus, ces corrélations sont majorées chez des souris ne possédant pas le gène codant pour le récepteur de la sérotonine 1A (ces souris constituant un modèle génétique d'anxiété - Adhikari *et al.*, 2010a). Pour finir, cette cohérence d'activité entre l'HPC et le CPFm, qui a été l'une des plus étudiées jusqu'à présent, a également été impliquée dans un modèle expérimental de schizophrénie. La micro-délétion d'une partie du chromosome 22 (22q11.2) est connue pour être un des facteurs de risque majeur pour cette pathologie. En utilisant un modèle de souris portant une mutation homologue ( $Df(16)A^{+/-}$ ), le même groupe, après avoir redémontré une plus grande cohérence dans les phases de comportement faisant appel à la mémoire de travail, a également montré que cette cohérence HPC-CPFm, ainsi que le verrouillage de phase (*phase-locking*) des neurones du CPFm au rythme thêta, étaient d'autant plus affectés chez les souris mutées que celles-ci présentaient de faibles performances comportementales (Sigurdsson *et al.*, 2010).

Par ailleurs, l'importance de la connectivité fonctionnelle pour la communication entre les aires ne se limite pas à la bande thêta et aux interactions entre l'HPC et le cortex préfrontal. DeCoteau et collaborateurs (2007) ont ainsi montré que des rats entraînés dans un labyrinthe en T montrent une augmentation de la cohérence thêta entre l'HPC et le striatum durant la phase de choix, quand les animaux apprennent correctement la tâche. Il est également intéressant de noter qu'au cours de l'apprentissage, les rythmes thêta dans ces deux structures évoluent vers une relation d'antiphase. La connectivité fonctionnelle passe également par des interactions oscillatoires à des fréquences plus élevées que celles que nous avons décrites jusqu'à présent. Alors que la synchronisation corticale dans la bande gamma a été à l'origine particulièrement étudiée dans les processus attentionnels et visuels (pour revue, voir Fries, 2009), on entrevoit depuis peu son rôle dans l'apprentissage. Ainsi, celle-ci a par exemple été étudiée dans une tâche olfactive d'apprentissage associatif. Dans leur étude, Igarashi et collaborateurs (2014) ont ainsi montré une augmentation progressive de la synchronisation entre le cortex entorhinal latéral (LEC) et la partie distale de CA1 (dCA1) dans le bas-gamma (20-40Hz), au cours des sessions successives d'apprentissage. En accord avec l'hypothèse que ces oscillations ont un impact fonctionnel sur l'activité des neurones, les auteurs ont par ailleurs mis en évidence que la synchronisation des décharges des neurones de dCA1 ou du LEC avec la phase du gamma dans l'autre structure augmentaient également au cours de

l'apprentissage. Enfin, les oscillations de plus hautes fréquences contenues dans les complexes SW-R ont aussi un rôle dans la synchronisation et la communication entre aires distantes, notamment pendant le sommeil lent (Wierzynski *et al.*, 2009). Approximativement, 10% des paires de neurones entre l'HPC et le CPFm ont une activité corrélée pendant le sommeil lent, avec les neurones du CPFm tendant à décharger quelques dizaines de millisecondes après ceux de l'HPC. Or, cette corrélation d'activité est prédominante pendant les occurrences de SW-R dans l'HPC. Une analyse plus minutieuse leur a permis d'observer que seules les SW-R donnant lieu à des bouffées significatives de décharges dans CA1 donnaient lieu à une activité de décharge en bouffées dans le CPFm, environ à 30 ms, puis 100ms après les bouffées de CA1, montrant ainsi le rôle des oscillations hautes fréquences du SL de CA1 dans le déclenchement de décharges dans le CPFm. Enfin, les fuseaux détectés dans cette dernière structure étaient également d'amplitude plus importante après ces épisodes de SW-R. Au sein même de l'HPC, des différences de connectivité fonctionnelle dans les bandes gamma et thêta ont aussi été mises en évidence entre différents états oscillatoires à dominance thêta. Le groupe de G. Buzsaki a comparé les périodes thêta de l'animal actif, avec des périodes de SP toniques et des phénomènes de bouffées thêta (représentant 5% du SP) localisées principalement dans le gyrus denté. Ils ont constaté que ces différents états, à prédominance thêta, montraient des motifs de cohérence différents, à la fois dans la bande thêta et gamma, qui pourraient être responsables de processus distincts impliqués dans le traitement de l'information arrivant à l'HPC (Montgomery *et al.*, 2008).

Nous avons donc vu qu'une modulation de la connectivité fonctionnelle est observée entre aires cérébrales distantes impliquées dans l'apprentissage. Nous avons également évoqué plusieurs indices laissant présumer un rôle important du sommeil dans la communication entre les aires cérébrales, notamment après apprentissage. Cependant, pour comprendre les mécanismes aboutissant à la formation de traces mnésiques, il est nécessaire de s'intéresser aux mécanismes permettant de modifier le fonctionnement de ces réseaux, et donc des neurones qui les composent. En effet, Santiago Ramon y Cajal fut le premier à découvrir, à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, que les structures composant le système nerveux, étaient contiguës et non continues, ce qui fit de lui le meilleur défenseur de la théorie neuronale, en opposition avec la théorie réticulaire qui proposait que le système nerveux était constitué d'un réseau continu de fibres. Il remarqua également sur les dendrites les structures qu'il nomma « épines » du fait de leurs formes en microscopie optique. Très en avance sur son temps, il en vint même à proposer, d'après une théorie d'Eugenio Tanzi, que l'apprentissage devait être le

fruit d'une augmentation du nombre de connexions entre les neurones, par la création de nouvelles épines. Plus tard, Donald Hebb (1949) fut le premier à proposer un mécanisme par lequel ces connexions entre neurones pourraient être renforcées. Pour lui, les neurones partageant des connexions communes et déchargeant ensemble renforceraient leurs connexions mutuelles (Cette théorie est souvent résumée par la phrase de Carla Shatz : « *cells that fire together, wire together* »). Malgré son importance théorique, l'instabilité de ce modèle, où les connexions entre neurones ont sans cesse tendance à croître, a donné lieu à plusieurs modèles dérivés, dont la théorie BCM (Bienenstock, Cooper, Munroe, 1982 - voir plus bas), affinés au fur et à mesure de l'acquisition de nouvelles données expérimentales. Ces modèles ont été particulièrement utiles pour déterminer par quels processus plastiques les neurones sont capables de réarranger leurs connexions en réponse aux diverses expériences de l'individu.

### III. *Plasticité synaptique et afférences hippocampiques.*

La plasticité est une des plus fascinantes propriétés du cerveau. L'activité cérébrale générée par l'expérience peut en effet modifier les circuits neuronaux dans le but de conserver un souvenir, de modifier un comportement etc... La plasticité synaptique se réfère plus spécifiquement à des modifications de la force ou de l'efficacité des synapses, et ces modifications sont considérées depuis plus d'un siècle comme essentielles pour la transformation par le cerveau de nos expériences transitoires en souvenirs persistants. Etant donné le grand nombre de fonctions attribuées à la plasticité synaptique, il n'est pas surprenant de constater une grande diversité, aussi bien dans les diverses formes de ce phénomène que dans ses mécanismes. En effet, la transmission synaptique peut être soit augmentée, soit diminuée, et ces changements peuvent avoir lieu à des échelles de temps très différentes, allant de la milliseconde à plusieurs jours, et vraisemblablement au-delà. Pour tester cette transmission synaptique, il est donc possible d'exciter les afférences d'une synapse par stimulation électrique, et d'enregistrer les déflexions du potentiel de champ au niveau post-synaptique. Cette méthode a été particulièrement étudiée au niveau de l'HPC, dont le circuit tri-synaptique particulièrement structuré rend son étude plus aisée. De plus, cette structure est connue depuis longtemps pour son rôle dans la mémoire et c'est également dans cette structure qu'a été découverte pour la première fois la plasticité à long terme au niveau synaptique (Bliss et Lomo, 1973). Depuis ces découvertes, ces phénomènes de plasticité ont

fait l'objet d'un nombre considérable d'études, particulièrement au niveau des synapses reliant l'aire CA3 à l'aire CA1 de l'HPC, par les collatérales de Schaffer. Nous allons donc dans un premier temps décrire quelques généralités concernant les différents phénomènes de plasticité connus, avant de nous intéresser plus particulièrement aux synapses, beaucoup moins étudiées, reliant l'HPC au CPFm et au NAc.

### *III.1 La plasticité synaptique de courte durée*

De nombreuses formes de plasticité à court terme, de l'ordre de quelques millisecondes à plusieurs minutes ont été observées à toutes les synapses examinées dans des organismes allant des invertébrés aux mammifères (Zucker et Regehr, 2002). On considère que ces phénomènes jouent des rôles importants dans l'adaptation à court terme aux stimuli sensoriels, dans les changements transitoires d'états comportementaux ou encore dans certaines formes de mémoire à court terme. Ils pourraient également jouer un rôle dans le codage neuronal (le codage temporel de séquences de stimuli) et dans l'homéostasie synaptique. La plupart des phénomènes de plasticité à court terme sont déclenchés par des bouffées d'activité causant une accumulation transitoire de calcium au niveau des terminaisons pré-synaptiques. Ces augmentations de calcium pré-synaptiques provoquent en retour une modification de la probabilité d'exocytose des neurotransmetteurs en modifiant directement les processus biochimiques sous-tendant cette exocytose de neurotransmetteurs. Cette forme de plasticité est étudiée en délivrant des stimuli situés à différents intervalles dans le temps, ou en utilisant des trains de stimuli à différentes fréquences. Lors de la stimulation paillée, la réponse synaptique enregistrée après le deuxième stimulus peut alors être soit augmentée, on parle alors de *Paired-Pulse Facilitation* (ou PPF), soit diminuée, correspondant alors à une *Paired-Pulse Depression* (PPD). A des intervalles relativement courts, inférieurs à 20 ms, une PPD est observée à la majorité des synapses. Cette dépression serait vraisemblablement due à l'inactivation des canaux sodiques ou calciques voltage-dépendants ou à une diminution transitoire du stock de vésicules de neurotransmetteurs prêtes à être libérées dans la synapse. A des délais supérieurs (entre 20 et 500 ms) de nombreuses synapses montrent une PPF. L'explication classique pour cette PPF propose que le calcium résiduel persistant après l'invasion du premier potentiel d'action contribuerait à l'augmentation de la libération de neurotransmetteurs lors de la deuxième stimulation (Katz et

Miledi, 1968). Cependant, d'autres phénomènes sont impliqués au niveau pré et post-synaptique, sur lesquels nous reviendrons brièvement.

L'expression d'une PPF ou d'une PPD dépend de l'activation récente de la synapse. Ces formes de plasticité dépendent largement de changements de la probabilité de libération  $p$  des neurotransmetteurs. Un taux d'échec élevé à la synapse, se traduisant par une faible valeur de  $p$ , entraînera une augmentation de ce  $p$  lors du deuxième stimulus et donc une PPF. Au contraire, les synapses ayant un  $p$  élevé lors du premier pulse montre plutôt une dépression de la réponse lors de la deuxième stimulation (PPD – Dobrunz et Stevens, 1997).

Les fonctions de cette plasticité à court terme ont d'abord été montrées comme importante au niveau comportemental chez des organismes simples comme l'aplysie (Kandel et Tauc, 1965). Dans le cerveau des mammifères, cette plasticité à court-terme joue un rôle important dans le traitement des informations par les synapses en leur permettant d'agir comme des filtres aux propriétés multiples. Par exemple, des synapses ayant une faible probabilité initiale de libération agiraient comme des filtres passe-haut dans la mesure où elles auraient un effet facilitateur sur des bouffées d'activité à haute-fréquence alors qu'une activité de basse fréquence ne serait pas transmise avec la même efficacité. Inversement, des synapses ayant une probabilité initiale de libération élevée agiraient comme des filtres passe-bas en atténuant la transmission synaptique durant des bouffées d'activité à haute fréquence (Abbott et Regehr, 2004).

### *III.2 La plasticité synaptique de longue durée*

Il est largement accepté que nos expériences sont stockées dans notre cerveau sous forme de modifications fonctionnelles et/ou anatomiques des connexions entre les neurones. Comme évoqué en introduction de cette partie, cette idée avait déjà été proposée il y a plus d'une centaine d'années par Ramon y Cajal, puis reprise par Donal Hebb et Sejnowski. Cependant, il a fallu attendre l'expérience de Bliss et Lomo (1973) sur l'HPC de lapin pour avoir confirmation de l'existence d'un tel phénomène. Ces derniers montrèrent en effet que l'activation répétée d'une synapse excitatrice hippocampique provoquait une augmentation de la force synaptique pouvant durer des heures voire des jours. Au cours des quarante dernières années, les bases moléculaires et cellulaires de ce phénomène, appelé LTP (pour *Long-Term Potentiation* – ou Potentialisation à Long Terme) ont été intensivement étudiées. Cependant,

Stent (1973) proposa qu'une augmentation des poids synaptiques aux synapses les plus actives, telle que proposée par Hebb (1949), ne pouvait être soutenable que si un mécanisme inverse permettait aux connexions du cerveau les moins utilisées de réduire leur poids synaptique. Il fallut cependant attendre une vingtaine d'années pour que Dudek et Bear (1992) démontrent formellement l'existence de ce phénomène baptisé LTD (pour *Long-Term Depression*). Ainsi, il fut démontré expérimentalement que l'activité des neurones pouvait réguler la force synaptique de manière bidirectionnelle (Mulkey et Malenka, 1992). Ces phénomènes de LTP et LTD ont été intensivement étudiés dans la synapse des collatérales de Schaffer sur CA1. A cette synapse, ces phénomènes sont essentiellement post-synaptiques et dépendants des récepteurs NMDA. Bien que ces mécanismes furent mis en évidence à d'autres synapses, ils ne représentent qu'une forme particulière de plasticité. Nous allons donc, dans la partie suivante, tenter de fournir un aperçu rapide de ces différentes formes de plasticité à long terme.

#### *La LTP dépendante des récepteurs NMDA.*

La réponse post-synaptique aux synapses excitatrices est médiée par deux types principaux de récepteurs ionotropiques au glutamate : les récepteurs AMPA, et les récepteurs NMDA. Ces récepteurs sont souvent colocalisés au niveau d'épines dendritiques individuelles. Les récepteurs AMPA disposent d'un canal perméable aux cations monovalent ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ), et l'activation de ces récepteurs fournit la plupart du courant entrant responsable de la réponse synaptique excitatrice lorsque le neurone est proche de son potentiel de repos. Au contraire des récepteurs AMPA, les récepteurs NMDA sont fortement dépendants du voltage car le canal de ces récepteurs est bloqué par un ion magnésium lorsque le potentiel de membrane est négatif (Nowak *et al.*, 1984). Par conséquent, les récepteurs NMDA contribuent peu à la réponse post-synaptique lors de l'activité synaptique basale. Cependant, lorsque la cellule est dépolarisée, l'ion magnésium sort du pore du canal du récepteur NMDA en permettant ainsi aux ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  d'entrer dans le neurone. Au contraire des récepteurs AMPA, le canal des récepteurs NMDA permet au calcium ainsi qu'au sodium de rentrer dans l'épine dendritique post-synaptique. Il est maintenant établi que cette activation des récepteurs NMDA est requise pour l'induction de la LTP afin de permettre l'élévation de la concentration en calcium intra-cellulaire ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) jusqu'à un certain seuil. Ainsi, on se réfère souvent au récepteur NMDA en tant que détecteur de coïncidence car l'activation de différents récepteurs AMPA provoquant une dépolarisation membranaire suffisante est nécessaire pour que les récepteurs NMDA jouent leur rôle dans l'induction de la LTP. Par

ailleurs, il a été montré que les augmentations du  $[Ca^{2+}]_i$  provoquées par l'activation de ces récepteurs étaient restreintes à l'épine dendritique post-synaptique et n'influencent pas les épines distantes (Nicoll *et al.*, 1988).

De très nombreuses molécules ont un rôle dans la transduction du signal de la LTP et dans la modulation de celle-ci. Cependant, nous allons ici plutôt nous focaliser sur les molécules décrites comme fondamentales pour la LTP. Parmi ces dernières, la protéine kinase II dépendante de la calcium/calmoduline (CaMKII) apparaît comme un élément clé de la machinerie moléculaire nécessaire à la LTP. Celle-ci est engagée dans un processus d'autophosphorylation après l'induction de la LTP (Barria *et al.*, 1997). De plus, l'inhibition de l'activité de la CaMKII par un peptide au niveau post-synaptique bloque la LTP (Malenka *et al.*, 1989; Malinow *et al.*, 1989) alors que l'augmentation aigüe de la concentration post-synaptique en CaMKII augmente la force synaptique et entraîne une occlusion de la LTP (Lledo *et al.*, 1995). Plusieurs autres kinases, dont les rôles sont moins bien documentés que celui de la CaMKII, ont été impliquées dans les mécanismes permettant l'induction de la LTP. Par exemple, il a été suggéré que la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA) pourrait augmenter l'activité de la CaMKII en inhibant d'autres molécules ayant des effets antagonistes (Lisman, 1989) comme la protéine phosphatase 1 (PP1). D'autres voies cellulaires sont aussi impliquées, en particulier, la voie des *Mitogen-Activated Protein kinases* (MAPK). Ce sont un ensemble de protéines kinase impliquées à la fois dans la LTP et dans certaines formes de mémoires (Sweatt, 2004 ; Thomas et Huganir, 2004).

#### *La LTD dépendante des récepteurs NMDA.*

Le protocole typique utilisé pour déclencher une LTP consiste à appliquer à la synapse des stimulations à basse fréquence de façon répétée et prolongée (par exemple 900 stimuli à 1Hz, Dudek et Bear, 1992). Le facteur essentiel pour l'induction d'une LTD consiste, tout comme la LTP, en une élévation de  $[Ca^{2+}]_i$ . Cependant, la différence se ferait notamment au niveau des quantités de calcium entrant et de la temporalité des entrées. La LTD nécessiterait une élévation modeste de  $[Ca^{2+}]_i$  (Cummings *et al.*, 1996) alors que celle-ci doit s'élever au dessus d'un seuil critique pour déclencher une LTP (Malenka et Nicoll, 1993). Ces similitudes ont été avancées comme permettant l'utilisation en parallèle de la LTP et de la LTD pour l'encodage des expériences *in vivo*.

Alors que nous avons vu que la LTP reposait principalement sur l'activation de protéines kinase comme la CaMKII, la transduction du signal dans le cadre de la LTD reposerait plutôt

sur l'activation de protéine phosphatase (PP) dépendante du calcium comme la calcineurine (PP2B), PP2A ou PP1. En effet, l'inhibition de ces phosphatases empêche l'induction d'une LTD (Kirkwood et Bear, 1994; Morishita *et al.*, 2001; Nicholls *et al.*, 2008) alors que l'augmentation exogène de PP1 dans les cellules pyramidales de CA1 augmente la LTD (Morishita *et al.*, 2001). Il a également été montré que la LTD aurait un lien avec la déphosphorylation de la PKC et de la PKA (Hrabetova et Sacktor, 1996; Kameyama *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2000). En lien avec ce rôle de la PKA, il a été montré que la LTD entraînait une déphosphorylation du site Ser<sub>845</sub> de la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA, qui est un des sites d'action de la PKA (Lee *et al.*, 2000).

#### *Autres formes de plasticité à long terme.*

Bien que les formes de plasticité à long terme décrites ci-dessus soient les plus étudiées et qu'elles aient été retrouvées dans la plupart des synapses corticales excitatrices, il existe de nombreuses autres formes de plasticité à long terme ne dépendant pas des récepteurs NMDA. Nous allons tenter dans cette sous-partie de fournir un bref aperçu de la diversité de ces mécanismes.

Au contraire de la LTP à la synapse des collatérales de Schaffer sur CA1, il a été montré que la LTP pouvait impliquer des phénomènes pré-synaptiques comme cela a été découvert à la synapse des fibres moussues reliant le gyrus denté à l'aire CA3 de l'HPC. En effet, l'application d'un train de stimuli à haute-fréquence sur cette synapse entraîne une augmentation massive de  $[Ca^{2+}]_i$  dans les terminaisons pré-synaptiques (Nicoll et Malenka, 1995; Nicoll et Schmitz, 2005; Zalutsky et Nicoll, 1990). Cette augmentation entraînerait ensuite l'activation d'une calcium/calmoduline adenylyl cyclase, causant elle-même une activation de la PKA responsable de la phosphorylation de plusieurs substrats pré-synaptiques, aboutissant à une augmentation durable de la libération de glutamate (Nicoll et Malenka, 1995; Nicoll et Schmitz, 2005).

#### *La métaplasticité.*

Les formes de plasticité que nous avons décrites plus-haut sont également soumises à des variations dans leurs seuils d'activation. L'histoire de l'activité d'une synapse peut en effet, sans induire par elle-même de modification dans la force synaptique, modifier la direction et l'amplitude des changements de force synaptique liés à l'activité ultérieure des neurones. C'est que l'on appelle la métaplasticité, qui peut ainsi être considérée comme une forme de « plasticité de la plasticité » (Abraham et Bear, 1996). Les exemples les plus étudiés sont ceux

où l'activité précédente modifie les seuils d'induction de la LTP et de la LTD. L'activation répétée des récepteurs NMDA hippocampiques peut ainsi modifier ces seuils sans pour autant entraîner de changements directs de transmission synaptique (Huang *et al.*, 1992).

### *Le recalage synaptique (« synaptic scaling »)*

D'un point de vue théorique, il apparaît rapidement qu'accroître indéfiniment la force synaptique, par des mécanismes comme la LTP pourrait s'avérer néfaste pour le cerveau à plusieurs égards. L'activité supplémentaire ainsi générée aboutirait à une demande sans cesse croissante en énergie et en différents métabolites jusqu'à devenir insoutenable pour l'organisme. De plus, la taille des synapses augmentant, le volume extracellulaire, et donc à terme, le volume crânien, pourrait lui aussi devenir un facteur limitant. Du fait de ces limitations, une trop grande augmentation de la force synaptique globale du cerveau pourrait donc nuire à l'organisme en saturant les mécanismes de plasticité et ainsi entraîner une baisse des performances cognitives, ou encore une activité épileptogène. Pour contrer ces effets indésirables, le cerveau possède donc un mécanisme mis en évidence par Turrigiano et Nelson (1998) consistant en une forme de plasticité homéostatique affectant globalement toutes les synapses d'un même neurone. En ce sens, cette forme de plasticité apparaît donc comme radicalement différente des mécanismes que nous avons décrits jusqu'à présent. Expérimentalement, le blocage de la transmission synaptique ou de la décharge d'un neurone provoque une augmentation de la force synaptique de toutes les synapses excitatrices de ce neurone. Au contraire, augmenter l'activité d'un neurone (en bloquant les synapses inhibitrices par exemples) aboutit à la réduction de la force de toutes les synapses excitatrices (Turrigiano et Nelson, 1998, 2004). Il est important de souligner que les poids relatifs entre les synapses d'un même neurone apparaissent préservés malgré ces modifications globales. Nous savons encore peu de choses sur les mécanismes sous-tendant le recalage synaptique, même si ceux-ci pourraient impliquer des sécretions de différentes molécules par les cellules gliales comme le TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* ) ou le BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*). Nous considérons utile de mentionner ici qu'une théorie expliquant le rôle du sommeil sur la mémoire (La SHY, sur laquelle nous reviendrons dans la partie sommeil et mémoire) postule qu'un recalage synaptique global aurait lieu pendant le SL afin de contrecarrer une augmentation synaptique supposée globale durant l'éveil (Tononi et Cirelli, 2014).

### *Les liens entre LTP et apprentissage.*

Malgré l'intérêt considérable suscité par la découverte des phénomènes de plasticité synaptique à long terme pour expliquer la formation et la stabilisation des traces mnésiques, les liens entre LTP/LTD et mémoire ont longtemps fait l'objet d'une controverse, subsistant dans une moindre mesure aujourd'hui. En effet, la mise en évidence d'un lien de causalité entre les deux phénomènes s'est avérée particulièrement compliquée à démontrer. Les premiers travaux allant dans ce sens se sont donc appliqués à démontrer les liens entre les mécanismes ou molécules impliqués dans la LTP et dans la mémoire (pour revue, voir Martin *et al.*, 2000). Par exemple, les rongeurs subissant des injections d'antagonistes des récepteurs NMDA (Morris *et al.*, 1986), ou présentant une délétion sélective de la sous-unité NR1 de ces récepteurs dans le prosencéphale, présentent tous des altérations de la LTP et de certains types d'apprentissage spatiaux (Tsien *et al.*, 1996). Enfin, en suivant une autre approche, plusieurs travaux ont montré que la saturation de la LTP hippocampique par stimulations électriques aboutit à des altérations significatives des capacités d'apprentissage spatial (Barnes *et al.*, 1994 ; Moser *et al.*, 1998). Ces études ne montrent cependant pas un lien direct entre apprentissage et induction de la LTP. Il a fallu pour cela attendre le milieu des années 2000 pour voir émerger plusieurs travaux tentant d'établir ce lien direct. Whitlock et collaborateurs (2006) ont montré qu'une tâche d'évitement passif en un seul essai suffisait à provoquer l'induction d'une LTP sélectivement dans certaines zones de l'aire CA1 hippocampique et provoquait également la phosphorylation du site Ser<sub>831</sub> de la sous-unité GluA1, caractéristique de la LTP NMDA-dépendante. De plus, chez les rats ayant appris la tâche, la potentialisation synaptique obtenue après apprentissage entraînait une occlusion de la LTP induite par une stimulation à haute fréquence. Gruart et collaborateurs (2006) ont également montré la même année qu'un apprentissage associatif classique sur plusieurs jours entraînait une potentialisation progressive des réponses à la synapse des collatérales de Schaffer sur CA1. Ce même apprentissage était également aboli par la saturation de la LTP par stimulations électriques à haute fréquence. Plus récemment, un article particulièrement convaincant, intitulé « *Engineering a memory with LTD and LTP* » (Nabavi *et al.*, 2014), est venu appuyer ce rôle causal de la LTP dans la formation des souvenirs. Les auteurs parviennent, en stimulant de manière optogénétique les entrées auditives de l'amygdale de manière appariée à la présentation d'un choc électrique, à reproduire un conditionnement de peur au son. La stimulation de cette voie à basse fréquence entraînant une LTD permet ensuite d'abolir ce conditionnement au son artificiel, alors que l'induction subséquente d'une LTP à cette synapse permet le rétablissement de ce conditionnement de peur. Par ailleurs, l'induction seule

d'une LTP ne suffisait pas à induire ce comportement de peur chez les animaux si ils n'avaient pas été conditionnés auparavant (par optogénétique ou naturellement).

### *Les liens entre LTD et oubli.*

Bien que la dissociation LTP = apprentissage et LTD = oubli, soit tentante, celle-ci peut, à première vue, paraître excessivement simpliste. Cependant, nous allons ici discuter certains éléments permettant d'appuyer cette hypothèse. Nous venons en effet de voir que l'induction d'une LTD aux entrées auditives de l'amygdale suffisait à abolir la réponse de peur conditionnée à un son et que l'induction d'une LTP à cette synapse pouvait rétablir ce conditionnement (Nabavi *et al.*, 2014). Le groupe de Denise Manahan-Vaughan a publié plusieurs travaux faisant état d'une LTD facilitée chez le rat après exposition à un nouvel environnement ou à un environnement identique contenant des objets nouveaux ou déplacés (Kemp et Manahan-Vaughan, 2004; Manahan-Vaughan et Braunewell, 1999). Ce groupe propose donc que la LTD aurait un rôle décisif dans l'acquisition de nouvelles configurations d'objets. Même si un tel encodage pourrait s'appuyer sur une diminution spécifique de certains poids synaptiques, il est cependant possible d'avancer une autre hypothèse. Il se pourrait en effet que la LTD permette d'augmenter le ratio signal/bruit des nouveaux souvenirs en affaiblissant les traces mnésiques correspondant à d'anciennes configurations ou souvenirs n'étant alors plus pertinents, évitant ainsi que ces anciens souvenirs viennent interférer avec les nouveaux apprentissages. Une étude réalisée par le groupe d'Eric Kandel semble également aller dans ce sens. Nicholls et collaborateurs (2008) ont en effet procédé à la caractérisation comportementale d'une souche de souris transgénique présentant un déficit spécifique de LTD par inhibition de la protéine PP2A (Protéine Phosphatase 2A). Ils ont d'abord montré que ces souris ne présentaient pas de déficit dans l'acquisition de l'emplacement de la plateforme immergée dans une piscine de Morris. Une fois la tâche bien maîtrisée, ils ont ensuite procédé à un déplacement de la plateforme dans le quadrant opposé. Là encore, les souris transgéniques comme les souris sauvages étaient capables d'apprendre le nouvel emplacement de la plateforme. Cependant, ils ont constaté que les souris présentant un déficit de LTD passaient significativement plus de temps à l'ancien emplacement de la plateforme qui n'était alors plus pertinent pour cette tâche, ce qui pourrait suggérer un déficit d'oubli, ou tout du moins de flexibilité comportementale. Enfin, pour compléter ces observations, ils ont alors soumis ces souris à une tâche de mémoire de travail dans un labyrinthe en T. Dans cette tâche, les rongeurs doivent faire preuve de flexibilité comportementale afin d'adapter leur comportement en vue d'obtenir la récompense, dont

l'emplacement change sans cesse d'un essai à l'autre. En examinant les données jour par jour, Nicholls et collaborateurs (2008) ont observé que les souris transgéniques restaient au niveau chance par rapport aux souris contrôles qui parvenaient à apprendre cette tâche au cours des jours successifs. Cependant, en examinant les données du test essai par essai, ils se sont aperçus que lors du premier essai de la journée, lorsque le test précédent avait eu lieu 24h auparavant, les souris présentant un déficit de LTD avaient des performances comparables aux souris contrôles mais que ces performances tombaient au niveau chance lors des 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> essai, lorsque l'essai précédent avait eu lieu seulement 15 min auparavant. Il semble donc que le déficit de LTD diminue la capacité des souris à gérer les interférences liées à l'accumulation des essais précédents, ce qui pourrait donc être interprété comme un rôle favorable de la LTD dans l'oubli des informations non pertinentes. Dong et collaborateurs (2013) ont également observé qu'après l'acquisition de l'emplacement d'une plateforme en piscine de Morris, deux inhibiteurs différents de la LTD empêchent l'acquisition d'un nouvel emplacement après déplacement de la plateforme (*spatial reversal learning*). La LTD hippocampique pourrait donc effectivement permettre l'adaptation à une nouvelle configuration spatiale par l'effacement des traces mnésiques correspondant à d'anciennes configurations inutiles. Certains auteurs, et plus particulièrement le groupe de Giulio Tononi, ont suggéré que le sommeil favoriserait certains processus d'oubli adaptatif, qui, pour Tononi, s'effectuerait par un recalage synaptique global à la baisse au cours du SL, permettant ainsi de gérer les interférences liées aux souvenirs non pertinents (Tononi et Cirelli, 2014). Selon lui, un des principaux rôles cognitifs du sommeil serait donc de « nettoyer » la mémoire par des processus proches de la LTD. Nous reviendrons plus tard sur cette théorie dans la partie Sommeil et Mémoire.

Cependant, avant d'aborder cette partie, nous allons à présent procéder à une description anatomique et électrophysiologique des efférences hippocampiques que nous avons étudiées dans la deuxième partie de notre thèse.

### *III.3. Caractérisation des efférences hippocampiques vers le cortex préfrontal et le noyau accumbens*

Santiago Ramon y Cajal relevait, dès 1909, que le fornix constituait le faisceau majeur des projections longues de l'HPC. En effet, des lésions en différents points de la corne d'Ammon entraînaient toutes une dégénérescence importante de ces fibres (Ramon y Cajal, 1909). L'amélioration des techniques de traçage, rétrogrades et antérogrades, a ensuite permis une caractérisation plus fine de ces efférences hippocampiques longues. La technique d'autohistoradiographie consiste à injecter des acides aminés comportant des atomes de tritium ( $H^3$ ) dans la région d'intérêt, et, après une période migration, à révéler l'emplacement de cet isotope radioactif grâce à un film contenant des grains d'argent. Grâce à cette technique utilisée chez le rat, Swanson et Cowan (1977) ont notamment montré que les aires CA3 et CA1 de l'HPC projetaient toutes les deux sur le subiculum. Ils ont également montré que les aires CA3, CA1 et le subiculum présentaient des efférences sous-corticales vers le septum latéral. Dans cette étude, les auteurs ont aussi mis en évidence que seul le subiculum présentait des efférences sous-corticales vers un grand nombre de structures dont le complexe mamillaire, les noyaux thalamiques antérieurs et latéraux, le noyau olfactif antérieur, le noyau ventro-medial, et la partie médiale du NAc. Enfin, en dehors des nombreuses interactions de l'HPC avec le cortex entorhinal et périrhinal, qu'ils ont observées, Swanson et Cowan ont également mis en évidence une projection spécifique du subiculum ventral vers le cortex infralimbique.

#### *Voie hippocampo-préfrontale*

En complément de cette technique de traçage par les acides aminés tritiés dont le transport s'effectue dans l'axone de manière antérograde, la technique de la peroxydase de raifort (ou HRP en anglais) permet, elle, de visualiser les différentes afférences d'une structure particulière du fait de son mode de transport rétrograde dans l'axone. En complément des travaux de Swanson et Cowan parus la même année (1977), Rosene et Van Hoesen (1977) ont combiné ces deux techniques pour aboutir à la publication, dans la revue *Science*, d'une description détaillée des efférences hippocampiques chez le singe Rhésus. Ils ont alors mis en évidence, comme Swanson et Cowan, que les efférences hippocampiques provenaient principalement du subiculum, pour atteindre le cortex frontal médian, mais aussi de nombreuses structures sous-corticales comme l'amygdale, le septum et plusieurs structures

diencephaliques non détaillées. Cavada et collaborateurs (1983) ont également utilisé la technique de traçage rétrograde de la peroxydase de Raifort chez le chat afin d'identifier les afférences du cortex préfrontal. Chez ce modèle, les auteurs ont également mis en évidence des projections issues du subiculum dorsal, caudal et ventral vers le cortex préfrontal. Les auteurs ont par ailleurs observé dans cette étude que les injections de HRP ayant diffusé préférentiellement au niveau du cortex prélimbique donnaient lieu à un marquage particulièrement important au niveau du subiculum ventral. En ligne directe de ces travaux neuro-anatomiques, Jay et collaborateurs ont poursuivi la caractérisation des afférences hippocampiques du CPFm chez le rat en utilisant deux autres techniques de traçage, l'une rétrograde avec le fluoro-gold et l'autre antérograde avec la leucoagglutinine. Grâce à des injections localisées dans différentes parties du cortex préfrontal, ils ont d'abord montré que les projections issues du CPFm provenaient essentiellement des parties temporales de l'HPC et plus précisément des aires CA1 et du subiculum (Jay *et al.*, 1989). Dans une autre étude de traçage antérograde cette fois, ils ont confirmé que les afférences hippocampiques innervaient bien seulement la partie médiale du cortex préfrontal. Ils ont par ailleurs observé un marquage plus rostral, au niveau du cortex orbital médian. D'autre part, ils ont également observé un marquage clair au niveau du cortex infralimbique, montrant que les projections hippocampiques aboutissent aussi sur cette aire située immédiatement en position ventrale par rapport au cortex prélimbique. Ils ont également confirmés dans cet article que le gyrus denté et l'aire CA3 de l'HPC ne participaient pas à ces projections vers les aires frontales, qui étaient essentiellement issues du subiculum et des parties ventrales de l'aire CA1 (Jay et Witter, 1991).

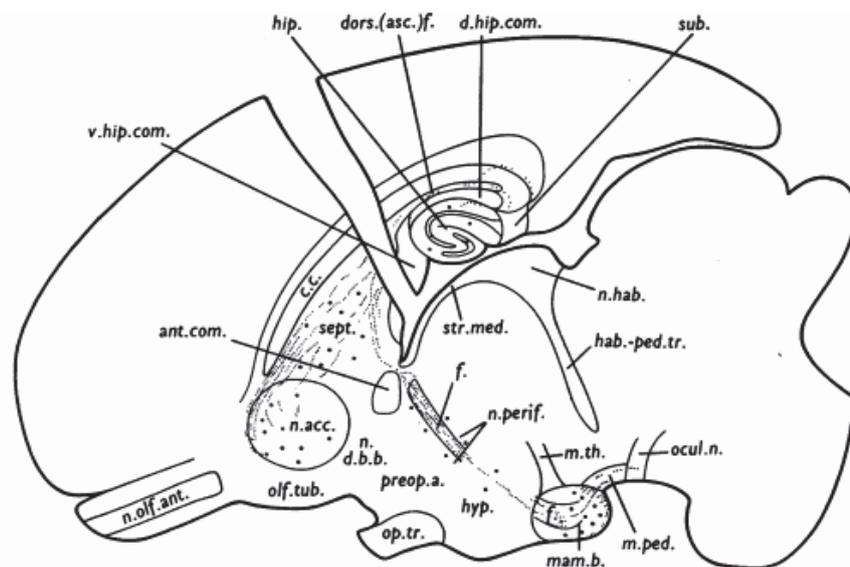
#### *Caractérisation électrophysiologique de la voie hippocampo-préfrontale*

A la suite de ces descriptions neuro-anatomiques, le même groupe a été pionnier dans la description électrophysiologique de la synapse reliant l'HPC au CPFm (Laroche *et al.*, 1990). Ils ont en effet procédé à des stimulations de la région temporale de l'HPC, au niveau de CA1 et du subiculum. A la suite de ces stimulations, ils ont d'abord enregistré des réponses de neurones unitaires sous forme de potentiels d'actions dans à peu près la moitié des neurones enregistrés au niveau du cortex prélimbique, ceci avec une latence comprise entre 10 et 24 ms après stimulation dans l'HPC (18,3 ms en moyenne). De plus, ils ont enregistré en potentiel de champs locaux les réponses synaptiques évoquées par ces stimulations hippocampiques. Ils ont alors observé une première composante positive de faible amplitude suivie d'une large déflexion négative initiée environ 8,7 ms après stimulation, et dont le pic se situait en

moyenne 19,4 ms après la stimulation hippocampique. Dans cet article, les auteurs stipulent, sans le montrer, que ces réponses pouvaient suivre des stimuli jusqu'à une fréquence de 100Hz, suggérant une connexion mono-synaptique. En enregistrant simultanément l'activité multi-unitaire du cortex préfrontal et les potentiels de champs, Laroche et collaborateurs (1990) ont montré que les potentiels d'actions au niveau du cortex préfrontal étaient concomittants du pic négatif de la réponse synaptique évoquée. Enfin, dans le même article, les auteurs ont caractérisé la plasticité à court et à long terme de cette synapse hippocampo-préfrontale. Ils ont d'abord montré que l'appariement de deux pulses, entre 40 et 200 ms d'intervalle, provoquait une facilitation de la deuxième réponse (PPF ou *Paired-Pulse Facilitation*), ainsi qu'une probabilité plus élevée d'induire un potentiel d'action dans le cortex préfrontal. Ensuite, ils ont examiné la plasticité à long terme induite par 10 trains de stimuli délivrés à haute fréquence (250 Hz - 200 ms). Ils ont alors constaté une augmentation de la réponse synaptique d'environ 50% après cette stimulation à haute fréquence. Bien qu'un certain léger déclin en amplitude ait été observés dans les quelques minutes suivant le tetanus, la LTP induite à cette synapse se prolongeait au moins une heure chez tous les rats et jusqu'à 4h après stimulation chez le rat ayant été observé le plus longtemps (Laroche *et al.*, 1990). Cette première démonstration d'une LTP à une synapse entre l'HPC et le néocortex ouvrait alors d'importantes implications potentielles pour cette voie hippocampo-préfrontale dans l'apprentissage et la mémoire. Pour finir, lors d'un article ultérieur, ces mêmes auteurs ont analysé, chez le rat anesthésié, la nature neurochimique de cette voie synaptique. Pour cela, ils ont procédé à des injections iontophorétiques d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs AMPA et NMDA au niveau du CPFm et ont examiné les réponses unitaires des neurones excités par la stimulation du subiculum. Pour ces neurones, ils ont montré que l'application d'agonistes AMPA et NMDA provoquait, d'une façon dose-dépendante, une augmentation du taux de décharge des neurones du CPFm. En revanche, l'application d'un antagoniste des récepteurs AMPA (CNQX), mais pas celle d'antagoniste NMDA (AP5), bloquait l'augmentation de décharge provoquée par la stimulation des récepteurs AMPA. Enfin, ils ont aussi constaté que la décharge des neurones du CPFm suite à stimulation électrique hippocampique était également inhibée sélectivement par l'éjection iontophorétique de CNQX, mais pas d'AP5. La voie reliant l'HPC au CPFm est donc principalement issue du subiculum, passe par le fornix, et vient exciter les neurones de la zone préfrontale médiane, principalement au niveau de l'aire prélimbique, par le biais des récepteurs AMPA.

### III.4. Voie hippocampo-accumbens

Alors que le fornix, comme nous l'avons évoqué plus haut, était déjà considéré par Ramon y Cajal (1909) comme un faisceau de fibres efférentes provenant de l'HPC, plusieurs expériences du milieu du XXème siècle ont montré que ces fibres projetaient au moins partiellement vers le NAc. En 1950, Sprague et Meyer ont réalisé des lésions du fornix à différents niveaux du cerveau de lapin. Ils ont alors constaté des lésions sur un faisceau de fibres descendantes vers les corps mamillaires, ainsi que des dégénérescences sur un axe issu de l'HPC, passant par le septum et aboutissant au NAc (**Figure 7**). Raisman, Cowan et Powell (1966) ont également procédé à différentes lésions de l'HPC de rat et ont également observé des dégénérescences au niveau du fornix et de la fimbria, du septum, et de la partie médiane du NAc. Swanson et Cowan (1977) ont plus tard retrouvé cette connexion par la technique d'autohistoradiographie chez le rat, en précisant que celle-ci était principalement originaire du subiculum. Groenewegen et collaborateurs (1982), en combinant différentes techniques de marquage antérograde et rétrograde, ont ensuite tenté de préciser les différentes afférences du NAc. Au niveau des afférences hippocampiques, ces derniers ont montré une relation topographique entre la partie du subiculum injectée et la zone de projection constatée dans le NAc. Le pôle ventral du subiculum projetterait ainsi, via le fornix, sur la partie médiane du NAc dans sa moitié la plus caudale, alors que des injections dans des parties plus dorsales du subiculum entraînent un marquage de parties plus ventro-latérales du NAc dans sa partie rostrale.



**Figure 7: Diagramme d'une coupe sagittale de cerveau de lapin après lésion du fornix.** Les traits gris en pointillés représentent les fibres nerveuses dégénérées et les points noirs représentent les terminaisons dégénérées. Noter ici les lésions de fibres et de terminaisons au niveau du septum (sept.) et du NAc (n.acc.). Tiré de Sprague et Meyer (1950)

### *Caractérisation électrophysiologique de la voie hippocampo-accumbens.*

L'une des premières caractérisations électrophysiologiques de la voie reliant l'HPC au NAc a été effectuée en 1975 par DeFrance et Yoshihara par l'intermédiaire de stimulations dans la fimbria. Au niveau du potentiel de champ, les auteurs ont obtenu, chez le lapin, une négativité dans le NAc possédant une latence au pic d'environ 8 ms, coïncidant avec l'observation d'un potentiel d'action unique au niveau unitaire. Cependant, ces auteurs ont également observé une composante positive dont la latence au pic était d'environ 10 ms dans la partie ventrale du NAc. Les délais de conduction, ainsi que le caractère relativement stable de la latence du potentiel d'action observé, y compris après des stimulations appariées, ont conduit les auteurs à conclure à une activation mono-synaptique de cette voie. Freeman et Patel (1968), avaient au préalable décrit un monopole positif dans le NAc suite à des stimulations dans le fornix. Plus tard, Lopes da Silva et collaborateurs (1984) ont également contribué de manière importante à la physiologie de cette voie synaptique. Ils ont par exemple enregistré les potentiels évoqués dans le NAc par des stimulations effectuées au niveau du subiculum, du cortex entorhinal, ou de la fimbria. A l'inverse des travaux réalisés par DeFrance et Yoshihara (1975), mais en accord avec Freeman et Patel (1968), ces auteurs ont observé que la composante principale du potentiel de champ évoqué était positive, quel que soit le site de stimulation. En revanche, la latence au pic de cette composante positive varie considérablement en fonction du site de stimulation. En effet, alors que la latence au pic de la composante positive est obtenue 24 ms après stimulation dans le subiculum, la stimulation dans la fimbria, par laquelle passe les fibres issues du subiculum (Groenewegen *et al.*, 1982), donne lieu à une latence d'une dizaine de ms seulement. Ils ont également montré que dans tous les enregistrements unitaires réalisés en parallèle des potentiels de champs évoqués, les neurones du NAc déchargent systématiquement pendant cette composante positive. Etant donné que la vaste majorité des neurones du NAc sont des neurones à épines moyens (*medium spiny neurons*), Matthews et collaborateurs (2004) ont enregistré, grâce à une préparation *in vitro* originale, le potentiel de membrane de ces neurones suite à la stimulation des afférences hippocampiques. Ils ont alors montré que les stimulations du fornix entraînent une dépolarisation rapide de ces neurones, abolie par la présence d'un antagoniste des récepteurs AMPA. La stimulation des afférences hippocampiques (issues essentiellement du subiculum) au NAc, empruntant le fornix, entraîne donc une réponse excitatrice monosynaptique rapide, dépendante des récepteurs AMPA, par l'intermédiaire d'une dépolarisation des neurones à épines moyens. Cette dépolarisation est susceptible d'entraîner un ou plusieurs potentiels d'action, synchronisés sur la composante positive enregistrée en potentiel de champ. Ce train

de potentiels d'action est corrélé avec la première composante positive de la réponse évoquée dans plusieurs articles (Boeijinga *et al.*, 1990, 1993; Mulder *et al.*, 1997). En stimulant les fibres du fornix, Boeijinga et collaborateurs (1993) ont donc décrit chez le rat un potentiel évoqué de forme complexe au niveau du NAc. Après une première composante négative (N5), une composante positive, enregistrée 10 ms après stimulation correspondait à l'excitation mono-synaptique décrite plus-haut (P10). Autour de 25 ms après stimulation, une autre composante positive (P25), correspond, elle, à une réponse excitatrice poly-synaptique. En effet, ces auteurs ont montré qu'une injection de lidocaïne en amont du site de stimulation abolit cette composante poly-synaptique, tout comme l'injection d'acide kynurénique (antagoniste AMPA et NMDA) dans l'HPC. Cette P25 serait donc liée à l'excitation des fibres afférentes du septum vers l'HPC, qui transmettrait ensuite cette excitation jusqu'au subiculum puis vers le NAc, donnant lieu à cette positivité 25 ms après stimulation (Boeijinga *et al.*, 1993). Par ailleurs, cette voie est également caractérisée par des phénomènes de plasticité à court et à long terme. La facilitation liée à la stimulation par des pulses appariés (*Paired-Pulse Facilitation* ou PPF) a régulièrement été observée pour cette première composante positive P10, avec une facilitation maximale pour un délai de 100 ms entre les deux stimulations (Boeijinga *et al.*, 1990, 1993; Mulder *et al.*, 1997). D'autre part, un tétanus de 2 secondes à 50 Hz dans le fornix entraîne un doublement transitoire de l'amplitude de la P10, se stabilisant à 25% au dessus du niveau basal pendant au moins 90 minutes. La P25 en revanche, montrait une augmentation transitoire 10 fois supérieure à la valeur pré-tétanus mais retournant aux valeurs de base environ 10 minutes après l'induction de la potentialisation. La voie reliant l'HPC au NAc, tout comme la voie reliant subiculum et CPFm, est donc susceptible de participer à la consolidation de diverses formes d'apprentissage par des mécanismes de plasticité à court et à long terme.

D'une manière intéressante, le groupe de Lopes da Silva a donc décidé d'étudier simultanément les connexions reliant l'HPC au NAc et au CPFm par le biais de stimulations au niveau du fornix. Ce groupe a montré que ces stimulations permettaient d'enregistrer des réponses unitaires à la fois au niveau du NAc et du CPFm, et que les réponses évoquées pouvaient être potentialisées simultanément dans les deux structures par un même tétanus délivré dans le fornix (50 Hz, 2 sec). En revanche, l'évolution de la LTP dans ces deux structures est différente. Alors que la LTP au niveau du CPFm se maintenait au-delà des 90 minutes d'enregistrement, celle observée au niveau du NAc semblait revenir à la valeur basale environ 60 minutes après ce type de tétanus. De même, lorsque l'on considère la plasticité à

court terme, la deuxième réponse au niveau du NAc est facilitée pour des délais inter-stimuli compris entre 50 et 700 ms alors qu'au niveau du CPFm, la facilitation de la deuxième réponse n'est observable que pour des délais compris entre 50 et 150 ms. Bien qu'elle partage la même voie afférente, ces deux synapses présentent donc des propriétés différentes. Il serait donc particulièrement intéressant de connaître l'évolution de la transmission synaptique à ces deux voies de projection de l'HPC au cours des états de vigilance.

### *III.5. Evolution de la transmission synaptique au cours des états de vigilance*

Winson et Abzug (1977) ont été parmi les premiers à examiner systématiquement l'influence des états de vigilance sur la transmission synaptique au sein du réseau hippocampique. Pour cela, ils ont implanté chez le rat une électrode de stimulation au sein du faisceau angulaire (*angular bundle*) afin d'enregistrer les réponses évoquées au niveau du gyrus denté, à la sortie du circuit tri-synaptique hippocampique, dans CA1, ainsi qu'à la synapse reliant l'aire CA3 au cortex entorhinal. Deux types de paramètres ont été examinés : la réponse synaptique évoquée d'une part (*evoked synaptic responses*), et les potentiels d'action évoqués (*evoked action potentials*) plus couramment désignés sous le terme de *population-spike*. Ils ont alors montré que la réponse synaptique de la voie perforante sur le gyrus denté était diminuée en SL et en SP par rapport à la condition d'éveil. Au contraire, le *population-spike* enregistré dans cette structure était plus important en SL et en SP qu'à l'éveil. En revanche, à la sortie du circuit tri-synaptique, les auteurs ont observé que le *population-spike* enregistré dans CA1 était maximal en SL et considérablement réduit en SP, avec l'éveil donnant lieu à un *population-spike* intermédiaire entre ces deux états de sommeil. Enfin, au niveau de la voie reliant CA3 au cortex entorhinal, les auteurs ont constaté que la transmission synaptique était maximale en SL et minimale à l'éveil, avec une transmission intermédiaire durant le SP (Winson et Abzug, 1977). Ils ont par la suite étudié le même système en ayant distingué les réponses obtenues en éveil calme par rapport à un comportement actif caractérisé par la présence d'un rythme thêta hippocampique. Dans leurs articles (Winson et Abzug, 1977, 1978), ces auteurs évoquent la notion de « portes neurales » (« *neural gates* ») existant à différents niveaux du circuit hippocampique. Par cette notion, ils suggèrent que le flux d'information transitant par l'HPC serait « aiguillé » différenciellement en fonction des états de vigilance, avec des variations de transmission synaptique agissant comme des portes logiques (ouvertes/fermées) en fonction du comportement de l'animal.

<i>Behavioral state</i>	<i>Location</i>			
	<i>Dentate gyrus</i>	<i>CA<sub>3</sub></i>	<i>CA<sub>1</sub></i>	<i>Entorhinal cortex</i>
SAL	Closed	Closed	Closed	Closed
AW $\theta$	Variable	Variable	Closed	Unknown**
SWS	Open	Open	Open	Open
REM	Variable (upper blade)* Open (lower blade)	Variable	Closed	Unknown**

**Figure 8: Etat logique des portes neurales dans quelques régions durant les différents états de vigilance.** Cette figure extraite de la seconde étude de Winson et Abzug (1978), portant sur les variations de transmission synaptique au cours des états de vigilance, résume l'idée des auteurs concernant le rôle de ces variations. Il s'agirait ainsi d'ouvrir et de fermer différents nœuds du circuit mnésique (une analogie avec les portes logiques électroniques est présente dans l'article) afin de traiter l'information différemment selon l'état de vigilance dans lequel se trouve l'animal. Selon nos connaissances, cette notion de circuits configurés différemment selon l'état de vigilance n'a été, par la suite, que très peu approfondie. Abréviations : SAL, état alerte immobile ; AW $\theta$ , mouvement volontaire avec présence du rythme thêta ; SWS, Sommeil Lent ; REM, Sommeil Paradoxal. \* Deux sous-populations de cellules granulaires avec différentes caractéristiques de réponses ont été retrouvées durant le SP. Une sous-population fut enregistrée dans la lame supérieure du gyrus denté et l'autre dans la lame inférieure. \*\* La négativité évoquée dans le cortex entorhinal durant les mouvements volontaires est aussi faible que durant l'état alerte immobile, alors que durant le SP, la réponse est plus importante que durant ces deux états précédents, mais pas aussi forte qu'en SL. Cependant, vu que la négativité évoquée dans ce cas est une combinaison de potentiel post-synaptique évoqué et de «*population-spike*» évoqué, il n'est pas possible avec ces seules données de déterminer l'état de ces portes.

Winson et Abzug (1978) ont consigné leurs conclusions quant à l'état de ces « portes neurales » sous forme d'un tableau (**Figure 8**). Cette notion est particulièrement intéressante dans la mesure où ils furent parmi les premiers à considérer que l'information transiterait différemment dans les circuits du cerveau, et plus particulièrement dans l'HPC, en fonction des états de vigilance, sous-tendant possiblement un traitement différent de l'information en fonction de l'état comportemental de l'animal.

Plusieurs autres auteurs ont ensuite complété cette description du fonctionnement du réseau hippocampique au cours des états de vigilance. Segal (1978) a ainsi enregistré simultanément l'activité hippocampique spontanée et les réponses évoquées dans le stratum radiatum par une stimulation des fibres commissurales de l'HPC contro-latéral. En présence de rythme thêta, observé dans trois conditions différentes (exploration, locomotion, lutte – «*exploring, walking, struggling*») les réponses synaptiques évoquées étaient diminuées d'environ 35% par rapport aux conditions dans lesquelles le rythme thêta n'était pas observé, à savoir en éveil calme et en SL. L'auteur n'a pas constaté de différence significative entre ces deux derniers états. Enfin, Leung (1980) est venu compléter ces données par une étude sur la synapse des collatérales de schaffer sur CA1. Cette étude suggère que la transmission

synaptique à cette voie suit un *continuum* en fonction des oscillations enregistrées chez le rat durant divers états comportementaux. L'amplitude des réponses évoquées serait maximale en SL et comparable avec celle obtenue durant un éveil immobile, alors que l'amplitude diminuerait lors de mouvements de la tête, et serait minimale en SP et lors de phases de locomotion. Pour supporter ces affirmations, l'article présente seulement des statistiques réalisées chez un seul rat, sur un nombre restreint de réponses évoquées moyennées (chaque échantillon représente la moyenne de 8 réponses évoquées). Les réponses évoquées à la synapse des collatérales de Schaffer sur CA1 seraient donc supérieures en SL par rapport au SP et à l'éveil. De plus, lors des phases actives présentant un rythme thêta important, les réponses sont plus faibles que celles enregistrées lors de phases d'éveil calme. Les différences entre les réponses évoquées en SP par rapport à l'éveil actif, ainsi qu'entre le SL et l'éveil calme sont cependant moins claires. Sans présenter de données confirmant ces propos, Leung suggère également que lors d'épisodes de SP phasiques, présentant une forte activité de "twitches", la transmission synaptique semble être encore diminuée par rapport au reste des épisodes de SP. En conclusion, la transmission synaptique au sein du réseau hippocampique apparaît fortement modulée par les états de vigilance et ce, de façon différente selon la voie synaptique examinée. De plus, ces modulations semblent particulièrement liées à l'état oscillatoire du cerveau de l'animal, avec une influence importante du rythme thêta sur la transmission synaptique.

### *III.6. Influence des oscillations sur la transmission synaptique.*

Le rythme thêta hippocampique influe sur un grand nombre de paramètres au sein de cette structure. Ce rythme est connu pour moduler le taux de décharge des neurones (Buzsaki *et al.*, 1983), l'impédance de la membrane, ainsi que le potentiel de membrane des cellules pyramidales de l'HPC (Leung et Yim, 1986; Fox, 1989). De plus, la capacité des neurones à émettre un potentiel d'action en réponse à une stimulation pré-synaptique donnée, définissant l'excitabilité de ce neurone, est aussi modifiée par le thêta hippocampique. Ainsi, Rudell et Fox (1980) ont mesuré, chez des rats engagés dans une activité locomotrice, le *population-spike* enregistré au niveau de CA1 par une stimulation de la commissure ventrale hippocampique, et au niveau du gyrus denté par une stimulation du cortex entorhinal. Ils ont ainsi observé une modulation de l'excitabilité dans ces deux aires en fonction de la phase du rythme thêta. Par la suite, Wyble et collaborateurs (2000) ont retrouvé une différence

d'environ 18% entre les états thêta et les états sans thêta sur la pente du potentiel post-synaptique évoqué à la synapse des collatérales de Schaffer sur CA1. Un effet de la phase du thêta a également été observé, avec des modulations comprises entre 6 et 16% de la pente des potentiels post-synaptiques. Dans cette expérience, la phase du thêta a été déterminée par rapport aux oscillations enregistrées au niveau du gyrus denté. La pente maximale dans CA1 a été observée 18° après le pic positif du thêta alors que les pentes minimales ont été constatées autour de 189° après ce pic positif. Schall et collaborateurs ont ensuite mesuré ces effets oscillatoires sur la transmission synaptique à d'autres synapses du réseau hippocampique, et se sont, de plus, intéressés aux oscillations lentes enregistrées dans cette région. En effet, ce groupe, accompagné d'autres travaux, avait au préalable caractérisé une oscillation lente (d'environ 1 Hz) observable au sein de l'HPC de rats durant le SL et sous anesthésie profonde (Wolansky *et al.*, 2006) relativement similaire à l'oscillation lente décrite au niveau du néocortex (Steriade *et al.*, 1993). Cette oscillation lente hippocampique a par ailleurs été décrite comme ayant un effet sur la décharge des interneurons hippocampiques et sur le potentiel de membrane des neurones du gyrus denté, de CA3 et de CA1 (Hahn *et al.*, 2006, 2007). Schall et collaborateurs (2008) ont décrit l'influence de cette oscillation lente et du rythme thêta sur les réponses synaptiques évoquées sur plusieurs voies différentes : 1°) La voie des collatérales de Schaffer sur CA1 (CA3-CA1), 2°) la voie Temporo-ammonique (TA) reliant la couche III du cortex entorhinal à CA1, 3°) la voie perforante médiane (MPP) reliant la couche II du cortex entorhinal au gyrus denté et 4°) au niveau de la voie perforante latérale (LPP) reliant la couche III du cortex entorhinal au gyrus denté. Entre les états thêta et non-thêta, ils ont observé que la modulation de transmission synaptique dépendait de la voie étudiée. Plus spécifiquement, alors que la transmission synaptique était majorée pendant les oscillations lentes par rapport aux périodes thêta au niveau de la voie LPP, TA et CA3-CA1, la voie MPP montrait une diminution de la transmission synaptique pendant les oscillations lentes par rapport aux périodes thêta. Ils ont ensuite montré que la phase du thêta, mais aussi de l'oscillation lente, modulait la transmission synaptique, tant au niveau du gyrus denté que de l'aire CA1 hippocampique. L'efficacité synaptique étant en effet augmentée lors de la phase descendante de ces deux oscillations. Les oscillations du potentiel de champ local permettent donc de moduler la circulation d'information dans le réseau hippocampique, de manière état-dépendante, mais aussi plus finement au niveau temporel, au sein de chaque cycle de ces oscillations. Cependant, ces travaux doivent être mis en regard de l'article de Green et collaborateurs (1990). Dans ce travail, les auteurs ont bien constaté une relation inverse entre la puissance du thêta et la réponse synaptique dans le gyrus denté évoquée par une stimulation

de la voie perforante. Ils ont alors procédé à une lésion du septum médian entraînant une diminution importante du rythme thêta hippocampique. Après cette lésion, ils ont néanmoins constaté que la réduction globale du thêta n'avait que très peu d'influence sur la diminution des réponses synaptiques observées lors de phases de locomotion intense. Il apparaît donc que les oscillations cérébrales ont un rôle important sur la transmission synaptique au sein du réseau hippocampique mais que ces modulations sont spécifiques de la voie considérée (Schall *et al.*, 2008). D'autre part, ces modulations sont logiquement différentes chez les rats en activité locomotrice par rapport à des rats sous anesthésie légère (Rudell et Fox, 1980, 1984). Enfin, il a également été montré que les réponses synaptiques du réseau hippocampique évoquées par des stimulations de la voie perforante, ou des voies commissurales, étaient considérablement augmentées (entre 193 et 460%) lorsque les stimulations afférentes étaient déclenchées lors de SW-R, par rapport à des stimulations déclenchées manuellement en dehors de ces événements (Buzsaki *et al.*, 1986). Nous pouvons donc nous demander dans quelle mesure ces modulations de la transmission synaptique en fonction de l'activité oscillatoire du réseau sont similaires au cours de l'éveil, du SL et du SP, non seulement au sein de l'HPC, mais également aux principales efférences hippocampiques. Les oscillations cérébrales ayant en effet été décrites comme importantes pour la consolidation et le transfert d'information entre l'HPC et ses structures efférentes (Wierzynski *et al.*, 2009; Benchenane *et al.*, 2010, Rasch et Born, 2013), il est possible que les oscillations du sommeil jouent un rôle en régulant la transmission synaptique entre l'HPC et ses structures de projections corticales et sous-corticales.

#### IV. *Les liens entre sommeil et mémoire*

Dès les travaux d'Ebbinghaus sur la mémoire, publiés en 1885, celui-ci avait déjà noté que les souvenirs déclinaient moins rapidement lors des périodes de sommeil. Jenkins et Dallenbach (1924) ont plus tard confirmé ces observations en comparant systématiquement le rappel d'une liste de pseudo-mots à plusieurs intervalles de rétention chez deux sujets autorisés à dormir ou non. Ils ont alors constaté une diminution beaucoup plus rapide des performances de rappel chez lorsque le sujet restait éveillé durant l'intervalle de rétention. Certains auteurs ont alors proposé que le sommeil jouerait un rôle passif de protection vis-à-vis des interférences pouvant perturber la mémoire à l'éveil (McGeoch, 1932; Wixted, 2004).

Depuis, de nombreux résultats, acquis à différents niveaux d'analyse, ont montré que le sommeil jouerait un rôle beaucoup plus complexe sur la mémoire. Nous allons donc tenter ici d'exposer certains de ces travaux nous ayant permis de commencer à entrevoir les mécanismes pro-mnésiques mis en jeu lors du sommeil.

#### *IV.1. Observations comportementales*

Chez l'humain, un très grand nombre d'études ont confirmé le rôle bénéfique du sommeil sur une grande variété de tâches comportementales. Il est fréquent que ces études dissocient les effets du sommeil sur les tâches de mémoire déclarative d'une part (pour revue, voir Marshall et Born, 2007) et de mémoire procédurale d'autre part (pour revue, voir Robertson *et al.*, 2004), toutes deux favorisées par le sommeil. Les études réalisées chez l'humain montrent que le SL favoriserait les tâches de mémoire déclarative (Yaroush *et al.*, 1971; Barrett et Ekstrand, 1972; Tucker *et al.*, 2006), y compris lors de très courtes siestes de six minutes (Lahl *et al.*, 2008). En revanche, il semblerait que le SP favorise plus les tâches de mémoire procédurales, implicites, ou émotionnelles. En comparant les effets du sommeil de début de nuit, riche en SL, et le sommeil de fin de nuit, riche en SP - suivant un protocole mis au point par le groupe de Bruce Ekstrand (Fowler *et al.*, 1973) - Plihal et Born (1997) ont été les premiers à montrer dans la même étude que la mémoire déclarative bénéficiait plus du sommeil de début de nuit, alors que la tâche de mémoire procédurale était plus favorisée par le sommeil de fin de nuit. Même si ces protocoles de moitié de nuit ne sont pas vraiment spécifiques du SL et du SP, cette dissociation entre le SL favorisant la mémoire déclarative et le SP bénéficiant plutôt à la mémoire implicite ont été appuyés par plusieurs autres travaux (Plihal et Born, 1999 ; Wagner *et al.*, 2003 ; Verleger *et al.*, 2008). Des augmentations de SP ont par exemple été constatées lors de l'acquisition de compétences motrices particulières, comme l'apprentissage du trampoline (Buchegger *et al.*, 1991), ou l'adaptation à une vision déformée par des lentilles spéciales (de Koninck *et al.*, 1996). D'autre part, dans une tâche motrice d'apprentissage d'une séquence à taper avec les doigts, la quantité de SP après apprentissage était prédictive de l'amélioration des performances (Fischer *et al.*, 2002). Chez l'humain, quelques travaux permettent de penser que le SP jouerait un rôle dans la mémoire émotionnelle. Des périodes riches en SP ont été associés à une amplification de la réactivité à des images émotionnelles aversives (Wagner *et al.*, 2002) alors qu'une privation spécifique de SP entraîne une réduction de la réactivité à des images aversives (Lara-Carrasco *et al.*, 2009).

Cependant, il semblerait que l'effet du SP sur l'apprentissage chez l'humain soit relativement difficile à mettre en évidence, plus particulièrement pour des tâches simples d'association de mots (voir par exemple Castaldo *et al.*, 1974; Chernik, 1972), et il se pourrait donc que l'implication du SP dans la mémoire soit également dépendante de la complexité de la tâche testée. Plusieurs indices, acquis notamment par des méthodes d'imagerie ou d'électrophysiologie sur lesquelles nous reviendrons ensuite, ont montré que le SL pouvait participer à la consolidation par réactivations des expériences acquises à l'éveil. Rasch et collaborateurs (2007) sont parvenus à étayer cette hypothèse par d'élégantes interventions comportementales chez l'humain. Les sujets devaient apprendre l'emplacement de différentes cartes sur un écran pendant qu'une odeur était associée à cet apprentissage. Les auteurs ont ensuite réexposé les sujets à cette même odeur durant l'intervalle de rétention soit pendant l'éveil, soit pendant le SL, soit pendant le SP. Ils ont alors montré que les sujets ayant bénéficié de l'exposition à l'odeur associée à l'apprentissage pendant le SL présentaient de meilleures performances lors du test le lendemain, alors que la réactivation par cette odeur durant l'éveil ou le SP n'avait aucun impact sur les performances. Le SL agirait donc sur la mémoire notamment par la réactivation de souvenirs acquis à l'éveil.

Les études comportementales réalisées chez l'animal sont largement à la base des théories supportant un rôle important du SP dans la consolidation mnésique. Ces études comportementales s'appuient à la fois sur les modifications des quantités de SP après apprentissage mais aussi très largement sur des protocoles de privation spécifique de SP. Plusieurs groupes ont notamment apporté de nombreux arguments en faveur de l'hypothèse d'une « fenêtre de SP » (*Paradoxical Sleep Window*) qui serait critique pour la consolidation d'une grande variété d'apprentissages. Cette fenêtre de SP correspond à des augmentations de la quantité de SP suivant l'apprentissage qui peuvent être enregistrées jusqu'à 6 jours après la tâche (Lucero, 1970; Fishbein *et al.*, 1974; Smith *et al.*, 1974; Destradre *et al.*, 1978; Smith et Lapp, 1986). La fenêtre temporelle de ces augmentations de SP semble varier en fonction du type d'apprentissage : dans la piscine de Morris, ces augmentations ont été retrouvées entre 2h et 22h après acquisition (Smith, 1995) alors que dans des tâches d'évitement, ces augmentations semblent plus tardives (9-12h après apprentissage) et peuvent réémerger entre 17-20h post-apprentissage (Smith, 1995). Enfin, en utilisant des tâches appétitives, le même groupe a fait état d'augmentations de SP entre 4h et 16h après apprentissage (Smith, 1995). Plusieurs indices suggèrent que des phénomènes liés à la consolidation seraient vraisemblablement mis en jeu lors de ces fenêtres. En effet, l'inhibition de la synthèse

protéique durant l'une de ces fenêtres ayant lieu 9h après l'acquisition d'une tâche d'évitement actif perturbe le rappel de cette tâche (Smith *et al.*, 1991). De plus, l'injection d'antagonistes des récepteurs NMDA aurait un effet plus délétère sur la mémoire lorsque ceux-ci sont injectés lors de l'une de ces fenêtres de SP (Smith, 1995). D'autre part, il a été montré que la privation spécifique de SP durant ces fenêtres perturbe l'apprentissage alors que la privation de SP, effectuée en dehors de ces fenêtres, n'affecterait pas les performances des animaux (Legault *et al.*, 2010; Smith et Kelly, 1988; Smith et Rose, 1996). Ces études de privation de SP ont très tôt permis de mettre en évidence un rôle du SP dans différents types d'apprentissage, notamment aversifs (Leconte et Bloch, 1970; Fishbein, 1971; McGrath et Cohen 1978). Cependant, la méthode du pot de fleur inversé, couramment utilisée pour ces privations spécifiques de SP, a été régulièrement critiquée. Cette méthode consiste à laisser dormir l'animal sur une ou plusieurs plateformes de petite taille lui permettant seulement de dormir en SL. L'atonie musculaire émergeant lors du SP entraîne alors la chute de l'animal de sa plateforme dans l'eau située en dessous et provoquant ainsi son réveil. Cette procédure a été montrée comme particulièrement stressante pour les animaux et comme diminuant également les quantités de SL (Horne et McGrath, 1984). D'autres méthodes moins stressantes, comme un réveil doux par l'expérimentateur, ou encore par des systèmes de détection automatique du SP entraînant une légère secousse de la cage de l'animal ont abouti à des résultats similaires. Notre équipe a en effet récemment montré qu'une privation douce de SP, durant seulement pendant les 4h post-apprentissage, aboutit à une altération des performances dans un test de conditionnement de peur au contexte chez le rat, ainsi qu'à un défaut de LTP. Au contraire, un rebond de SP après conditionnement aboutit à une augmentation du taux de *freezing* ainsi qu'à une LTP facilitée (Ravassard *et al.*, 2016). Enfin, une autre étude en cours dans notre laboratoire montre qu'une privation spécifique de SP chez la souris après apprentissage n'aurait pas d'effet sur le rappel à 24h d'une tâche de conditionnement de peur au contexte mais diminuerait les performances de rappel à un mois (Marius Rosier, communication personnelle). Il semble donc que le SP pourrait jouer un rôle dans la consolidation à très long terme de la mémoire, possiblement en favorisant certains processus de consolidation systémique.

## IV.2. Imagerie cérébrale fonctionnelle chez l'humain

Les études d'imageries comme l'IRMf ont l'avantage de pouvoir examiner un grand nombre d'aires cérébrales simultanément. Il est donc possible, grâce à ces techniques, de mettre en évidence certaines interactions spécifiques chez des sujets ayant été, ou non, autorisés à dormir après un apprentissage. En utilisant cette approche, Gais et collaborateurs (2007) ont ainsi mis en évidence une interaction entre l'HPC et le CPFm lors du rappel à 48h d'une tâche déclarative qui n'était pas observée chez les sujets n'ayant pas dormi lors des premières 24h après acquisition. D'autre part, ils ont également montré que le rappel à 6 mois de la même tâche entraînait une plus forte activation du CPFm si les sujets avaient dormi immédiatement après l'acquisition (Gais *et al.*, 2007). Cette étude semble donc confirmer l'importance du sommeil dans la réorganisation systémique des traces mnésiques. En revanche, il n'est malheureusement pas possible de connaître les contributions respectives du SL et du SP dans le phénomène observé dans cette étude. Les aires cérébrales activées à l'éveil lors de l'apprentissage d'une tâche sérielle de temps de réaction ont été montrées comme plus activées au cours du SP chez les sujets entraînés pour la tâche (Maquet *et al.*, 2000). Il a également été montré que la connectivité fonctionnelle au cours du SP était modifiée après l'apprentissage d'une tâche similaire (Laureys *et al.*, 2001). Il est également intéressant de noter qu'en dehors de phénomènes liés à l'apprentissage, plusieurs études d'imagerie ont montré une activation des aires limbiques au cours du SP, notamment de l'HPC, de l'amygdale, du striatum et du CPFm (Miyachi *et al.*, 2009; Dang-Vu *et al.*, 2010).

Des signes de réactivations, également observées par variations du flux sanguin cérébral, ont aussi été observés pendant le SL à la suite d'un apprentissage spatial en environnement virtuel (Peigneux *et al.*, 2004). Ce travail montre également que l'importance de ces réactivations permet de prédire les performances lors du test subséquent. Les auteurs n'ont en revanche pas observé de signes de réactivations pendant le SP pour cette tâche. Les études d'imageries ont également mis en évidence des signes de réactivations dans d'autres régions cérébrales, telles que l'aire visuelle primaire (aire V1), réactivée au cours du SL suivant un apprentissage de discrimination de texture, avec, là encore, une corrélation observée entre la magnitude de la réactivation et l'amélioration des performances lors d'un second test (Yotsumoto *et al.*, 2009).

### IV.3. Relations entre activité oscillatoire du sommeil et apprentissage.

#### *Activité à Ondes Lentes (AOL, pour Slow-Wave Activity)*

Nous avons, pour cette sous-partie, choisi de considérer le terme d'AOL, étant donné qu'une grande partie de la littérature du sommeil se référant à ces phénomènes traite indistinctement des ondes lentes (OL <1Hz), décrites d'abord au niveau du néocortex (Steriade *et al.*, 1993) puis de l'HPC (Wolanski *et al.*, 2006) et des ondes delta (1-4Hz). Il a donc été montré chez le rongeur qu'une stimulation sensorielle unilatérale entraîne une augmentation de l'AOL du SL, spécifiquement dans l'hémisphère sollicité à l'éveil (Vyazovskiy *et al.*, 2000). Il a également été montré qu'une tâche sollicitant le cortex moteur entraîne une augmentation de l'AOL durant le SL, spécifiquement dans l'hémisphère controlatéral au membre sollicité (Hanlon *et al.*, 2009). Chez l'homme, l'apprentissage intensif d'une tâche déclarative entraîne également des augmentations de la puissance de l'AOL, mais aussi de la pente des OL durant le SL suivant la tâche (Mölle *et al.*, 2004, 2009). Les tâches procédurales entraînent également une augmentation de l'amplitude des OL chez l'humain qui est positivement corrélée à l'amélioration des performances au cours de la nuit (Huber *et al.*, 2004). Au contraire, l'immobilisation d'un bras durant la journée entraîne une diminution de l'AOL dans le cortex moteur controlatéral (Huber *et al.*, 2004). Enfin, il restait en effet à prouver qu'une intervention directe des OL pouvait elle aussi favoriser ou perturber l'apprentissage. Le groupe de J. Born a grandement contribué à ce type d'approche. Durant la première partie de la nuit, riche en SL, qui suit l'apprentissage d'une liste de mots, ces auteurs ont appliqué, par stimulation transcrânienne à courant direct (tDCS), des oscillations lentes (0,75 Hz) à des sujets humains. Il en a résulté une augmentation de l'amplitude des OL et des fuseaux, et une amélioration des performances au rappel de la mémoire déclarative (Marshall *et al.*, 2006). A l'inverse, une stimulation transcrânienne à 5 Hz, approchant le rythme thêta enregistré chez l'humain, perturbe les OL du SL et aboutit à des dégradations de performances en mémoire déclarative (Marshall *et al.*, 2011). De façon moins invasive, ils ont plus récemment réussi à augmenter la puissance des OL et des fuseaux par des stimulations auditives en phase avec les OL endogènes. Les auteurs ont réussi à reproduire l'augmentation des performances mnésiques obtenues par stimulations transcrâniennes avec ces stimulations auditives (Ngo *et al.*, 2013), démontrant ainsi un fort potentiel clinique de ces approches pour rétablir certaines fonctions cognitives dépendantes du sommeil. Enfin, chez le rongeur, le même groupe a été capable de reproduire les résultats observés chez l'humain en potentialisant les OL chez le rat

(Binder *et al.*, 2014). Par ailleurs, un aspect intéressant de cette étude réside dans la mise en évidence d'un effet de leurs stimulations sur une composante de mémoire de travail. En effet, les rats stimulés effectuaient moins d'erreurs de réentrée dans les bras préalablement visités du labyrinthe radial. Ce résultat pourrait également suggérer un rôle des OL dans la gestion des interférences en mémoire de travail, possiblement par l'affaiblissement des souvenirs interférents liés aux essais précédents.

### *Fuseaux (Spindles)*

L'effet de l'apprentissage sur les fuseaux a été démontré chez l'homme et l'animal à de nombreuses reprises. Chez l'homme, l'apprentissage de paires de mots ou l'exposition à un environnement virtuel nouveau entraîne une augmentation du nombre de fuseaux, particulièrement en début de nuit (Gais *et al.*, 2002; Meier-Koll *et al.*, 1999; Cox *et al.*, 2012). Plusieurs travaux ont également montré que le nombre ou la densité de fuseaux dans la nuit post-apprentissage était corrélée positivement à la rétention de tâches déclaratives le lendemain (Schabus *et al.*, 2004; Clemens *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2006; Holz *et al.*, 2012). Chez le rat, une augmentation de la puissance dans la bande des fuseaux a été mise en évidence, aussi bien après des apprentissages appétitifs (Eschenko *et al.*, 2006) qu'avérsifs (Fogel *et al.*, 2009). Cependant, l'implication des fuseaux du SL dans la consolidation reste pour l'instant essentiellement corrélative.

### *Sharp-Wave Ripples*

Chez le rat, l'apprentissage d'une association odeur-récompense produit une augmentation durable de l'amplitude et du nombre de SW-R lors du SL subséquent (Eschenko *et al.*, 2008). Le même groupe a par ailleurs montré que l'augmentation de la densité de SW-R après un apprentissage était corrélée à la formation d'associations spatiales (Ramadan *et al.*, 2009). Nous savons également par des approches *in vitro* qu'une LTP hippocampique facilite la génération de SW-R dans CA3 (Behrens *et al.*, 2005) et il a été proposé que ces SW-R pourraient promouvoir des phénomènes de plasticité synaptique comme la LTP ou la STDP (*Spike-Timing Dependant Plasticity* ou Plasticité dépendante de la temporalité des potentiels d'actions). Tout récemment, leur rôle causal a même été démontré dans la formation de la mémoire spatiale. En effet, lorsqu'une stimulation électrique hédonique (au niveau du faisceau médial telencéphalique - *medial forebrain bundle* - contenant les fibres dopaminergiques originaires de la VTA) est appliquée à des souris de manière appariée à la réactivation d'une

cellule de lieu particulière au cours d'une SW-R, ces souris tendent à se diriger, lors de la session suivante, directement vers le champ spatial associé à la cellule de lieu renforcée, sans qu'aucun stimulus particulier n'ait pourtant été associé à cet emplacement spécifique durant la session d'exploration qui avait précédé le sommeil de l'animal (De Laviéon *et al.*, 2015). Auparavant, le groupe de M. Zugaro était parvenu à démontrer l'importance particulière de ces SW-R en les supprimant par des stimulations électriques couplées à une détection en ligne de ces phénomènes, et avait mis en évidence une diminution significative des performances mnésiques d'une tâche de mémoire de référence en labyrinthe radial (Girardeau *et al.*, 2009). Ces auteurs ont par ailleurs démontré que cette inhibition des SW-R entraînait un rebond en terme de nombre d'occurrences de ces SW-R après l'arrêt des stimulations perturbatrices, et que cette régulation était étroitement liée à des phénomènes de plasticités synaptiques. Ce rebond de SW-R, présent seulement chez les animaux engagés dans un apprentissage spatial, est aboli si l'injection d'un antagoniste des récepteurs NMDA est effectuée avant l'apprentissage (Girardeau *et al.*, 2014). Ce groupe a enfin suggéré que le rôle de ces SW-R pourrait être de renforcer, en synergie avec les OL, la communication entre l'HPC et le néocortex. Ils ont pour cela observé que des stimulations du cortex moteur, déclenchées lors de la détection de SW-R, forçaient l'appariement temporel entre les SW-R hippocampiques, les ondes delta, et les fuseaux néocorticaux. Ils ont alors constaté qu'en délivrant ces stimulations pendant les SW-R au cours de la nuit suivant un apprentissage, ils amélioraient significativement la mémoire spatiale des rats par rapport à des stimulations délivrées hors des SW-R (Maingret *et al.*, 2016)

### *Oscillations du SP et mémoire*

Le rythme thêta observées chez l'animal durant le SP n'est pas visible de manière aussi évidente chez l'humain même si des enregistrements profonds permettent d'observer cette oscillations, mais seulement de manière phasique ( $\approx 1$ sec) dans l'HPC et le néocortex (Cantero *et al.*, 2003). Même si le rythme thêta a été impliqué dans de nombreuses fonctions associées à la mémoire durant l'éveil, comme par exemple la synchronisation avec les oscillations gamma durant certaines phases de mémoire de travail ou la coordination entre neurones de l'HPC et du CPFm (Benchenane *et al.*, 2010; Colgin, 2011) ; le rôle mnésique du thêta du SP commence tout juste à émerger. Par exemple, les changements dans la cohérence thêta du SP après un conditionnement de peur au contexte entre l'HPC, le CPFm et l'amygdale sont nettement corrélés positivement au comportement des rats lors du test (Popa *et al.*, 2010).

Hellman et Abel (2007) avaient au préalable mis en évidence une diminution de la puissance du thêta après le conditionnement de peur lors du SP. Excepté ces deux études, peu d'indices plaident pour des modulations du thêta durant le SP par l'apprentissage. Cependant, en inhibant spécifiquement les neurones GABAergiques du septum médian pendant le SP, Boyce et collaborateurs (2016) sont parvenus à réduire de 60% la puissance du thêta, de manière réversible, et sans perturber l'épisode de SP en cours. Lorsque ces auteurs ont comparé ce groupe expérimental avec les groupes contrôle non transfectés ou stimulés en dehors des épisodes de SP, ils se sont aperçus que la réduction du thêta pendant le SP provoquait une altération significative des performances de conditionnement de peur et de reconnaissance d'un nouvel objet.

Le groupe de S. Datta propose, lui, un rôle important des ondes P (*P-Waves* chez le rat ou Ondes PGO chez le chat) dans l'apprentissage. Ces ondes, originaires du pont, sont associées aux mouvements oculaires rapides, et peuvent être observées en sommeil de transition et en SP. Bien que l'existence de ces oscillations chez l'humain ne soit pas formellement démontrée, certaines études ont montré une activation de plusieurs structures comme le cortex visuel, le thalamus et certaines régions limbiques et striatales, en association avec les mouvements oculaires rapides (Wehrle *et al.*, 2007; Miyauchi *et al.*, 2009). Les principaux arguments en faveur de l'implication de cette oscillation phasique dans l'apprentissage ont été obtenus chez le rat. Il a par exemple été montré qu'un apprentissage d'évitement serait suivi par une augmentation importante des ondes P dans les 3-4h suivant l'apprentissage, et que cette augmentation était proportionnelle à l'amélioration des performances le lendemain (Datta, 2000; Datta *et al.*, 2008). De plus, la densité de ces ondes P serait également corrélée à l'augmentation d'expression de gènes immédiats précoces (IEG) et de BDNF dans l'HPC. Ces augmentations ne se produiraient pas après l'élimination des cellules responsables de la génération des ondes P dans le pont alors qu'elles seraient accrues par une stimulation cholinergique de ces cellules (Datta *et al.*, 2008). Enfin, ces ondes pourraient également être impliquées dans l'extinction du conditionnement de peur. En effet une augmentation importante des quantités de sommeil de transition ainsi que de la densité des ondes P a été observé chez des animaux entraînés à cet apprentissage d'extinction, alors que ces augmentations n'étaient pas visibles chez des animaux ayant « raté » cette extinction (Datta et O'Malley, 2013). Ces auteurs ont enfin mis en évidence une corrélation négative très importante entre la densité de ces ondes P et le pourcentage de *freezing* lors du test de l'extinction.

### *Observations au niveau neuronal*

Au niveau unitaire, les principaux arguments appuyant le rôle du sommeil dans la mémoire ont été d'abord apportés par la mise en évidence de réactivations de motifs de décharges neuronales enregistrées à l'éveil. Pavlides et Winson (1989) avaient tout d'abord remarqué que quand les rats étaient confinés dans un endroit particulier, le taux de décharge des cellules de lieu de l'aire CA1 hippocampique correspondant à cet emplacement était plus élevé durant le SL suivant que les cellules correspondant à des emplacements non fréquentés à l'éveil. Ce phénomène a ensuite été formellement démontré par Wilson et McNaughton (1994). Ils ont pour cela procédé à l'enregistrement de plusieurs cellules de lieu ayant des champs récepteurs recouvrant et permettant ainsi d'obtenir des activités corrélées entre paires de cellules lors de la progression des rats le long d'une piste aboutissant à une récompense. Durant le SL suivant, ils ont alors observé que les paires ayant des activités corrélées sur la piste à l'éveil tendaient également à décharger simultanément, avec un effet diminuant graduellement au cours du sommeil suivant la tâche comportementale. Ce même phénomène plus tard été mis en évidence dans le gyrus denté (Shen *et al.*, 1998). Il a ensuite été montré que ces cellules n'étaient pas seulement co-activées mais que la séquence temporelle d'activation visible à l'éveil était reproduite à l'identique lors du SL suivant (Skaggs et McNaughton, 1996) et que ces séquences étaient reproduites beaucoup plus rapidement, de l'ordre de 20 fois, lors de brèves bouffées d'environ 100 ms, en synchronie avec les SW-R (Lee et Wilson, 2002). Cependant cette compression temporelle n'est pas spécifique aux SW-R. Le phénomène de précession de phase se définit comme le processus par lequel les neurones déchargent dans des phases différentes du rythme thêta, suivant la distance entre l'animal et le centre du champ récepteur d'une cellule de lieu. Différents neurones correspondant à des emplacements espacés sur la piste peuvent donc décharger au sein d'un même cycle thêta, également de l'ordre d'une centaine de millisecondes (Diba et Buzsaki, 2007). L'activation de ces différentes cellules de lieu au sein d'un seul cycle thêta se fait donc dans un temps très inférieur à celui pris par le rat pour parcourir les champs récepteurs correspondant. L'exploration de la piste entraîne ainsi également une compression temporelle de ces séquences d'activation neuronales. Au vu de ce phénomène de précession de phase bien connu pendant le rythme thêta à l'éveil, nous pouvons bien sûr nous interroger sur le rôle du SP dans ces phénomènes de réactivations neuronales. Louie et Wilson (2001) ont observé que des séquences de décharges observées à l'éveil pouvaient être également retrouvées au sein du SP avec un décalage temporel comparable. Toutefois, les conclusions souvent tirées de cet article sont ambiguës car il est difficile d'exclure que les séquences observées à l'éveil ne sont

pas le résultat d'activations préparées pendant le SP précédant l'apprentissage et rejouées plus tard lors du SP subséquent. Les méthodes d'analyse et de sélection des données dans cet article sont complexes et criticables notamment sur le plan statistique. La présence de telles réactivations au cours du SP est donc sujette à controverses dans la mesure où plusieurs travaux n'ont pas réussi à mettre en évidence ce phénomène. Il est vrai, toutefois, que la majorité des travaux portant sur la réactivation neuronale se concentrent la plupart du temps sur l'éveil calme et le SL, et non sur le SP, plus rare et plus difficile à enregistrer sur de longues périodes.

Il est également important de souligner que les réactivations neuronales au cours du SL ne sont pas seulement observées au niveau de l'HPC. En effet, en examinant simultanément des cellules de lieu de CA1 et des neurones du striatum ventral, dont fait partie le NAc, il a été montré qu'il existait une activité conjointe entre ces neurones, notamment à l'approche de zones récompensées. Or, durant le SL suivant la tâche, les paires de neurones HPC/striatum ventral qui avaient tendance à décharger ensemble à l'approche des récompenses, sont celles qui étaient le plus réactivées lors des périodes de repos post-apprentissage. La séquence de décharge des cellules observées pendant le comportement était aussi préservée lors des réactivations, mais là encore rejouée selon un rythme accéléré (Pennartz *et al.*, 2004 ; Lansink *et al.*, 2008, 2009, 2012). Enfin, les SW-R permettraient aussi de favoriser la communication entre les cellules de l'HPC et du CPFm (Wierzynski *et al.*, 2009) et donc être responsables des réorganisations à long terme entre différentes assemblées neuronales de ces deux structures observées au cours de l'apprentissage (Benchenane *et al.*, 2010). Nous avons évoqué plus haut l'expérience particulièrement intéressante de De Laviéon et collaborateurs (2015) dans laquelle une stimulation du faisceau prosencéphalique médian (*medial forebrain bundle*) appariée à la réactivation d'une cellule de lieu particulière au sein des SW-R entraîne un comportement de la souris particulièrement orienté vers le champ récepteur renforcé le lendemain. Il serait donc particulièrement intéressant de comprendre comment les interactions physiologiques entre différentes aires cérébrales au cours du sommeil pourraient favoriser le renforcement et l'orientation vers certains emplacements, ou, au contraire, l'évitement de ceux-ci.

#### IV.4. Principales théories

En résumé, l'étude des liens entre sommeil et mémoire semble indiquer que des mécanismes distincts et probablement complémentaires surviennent lors des différents états de vigilance. Les phénomènes oscillatoires du sommeil ont un rôle crucial dans ces fonctions mnésiques, ils influent sur différents types de mémoire, sont vraisemblablement déterminants pour les phénomènes de consolidation systémique et enfin, à l'échelle cellulaire, font appel à des mécanismes de plasticité synaptique. Il est possible que les caractéristiques propres de ces états de vigilance, tant par la nature des événements électrophysiologiques que les profils neuromodulateurs qui les définissent, permettent indirectement des phénomènes de consolidation mnésique. Il est néanmoins probable que l'apprentissage induise des mécanismes actifs de traitement différé durant le sommeil des informations acquises à l'éveil. Par ailleurs, il est vraisemblable que SL et SP soient des phases propices à la consolidation de différents aspects de la mémoire. Néanmoins, il est également possible que des mécanismes séquentiels et complémentaires s'accomplissent au cours de ces deux états. Ainsi, plusieurs théories expliquant le rôle du sommeil sur la mémoire ont été élaborées durant les dernières décennies. Nous allons donc tenter ici de résumer quelques-unes de ces différentes hypothèses :

- « **Apprentissage inverse** » **au cours du SP** : Il y a plus de trente ans, Crick et Mitchison (1983, 1995) ont proposé une théorie concernant le rôle du SP et des rêves associés. Pour eux, ceux-ci permettraient un « apprentissage inverse » d'associations non désirées. Ces associations indésirables sont aussi définies sous le terme de « mode parasite » d'activité. En effet, du fait de la nature distribuée et redondante du stockage de l'information au niveau du réseau cortical, certaines connexions, créées ou renforcées pendant l'éveil, pourraient aboutir à des réponses comportementales inappropriées. Selon eux, si le réseau est surchargé de nouvelles associations, ou que celles-ci sont trop chevauchantes, trois types de phénomènes néfastes peuvent se produire : 1) le réseau peut établir des associations très lointaines ou bizarres (« *fantasy* ») ; 2) le réseau pourrait tendre à produire le même résultat, quelle que soit l'entrée dans celui-ci (obsession) ; 3) certains types de réseaux, en particulier ceux disposant de connexions récurrentes, pourraient répondre à des entrées n'aboutissant normalement à aucune réponse (hallucinations). D'autre part, à la suite des travaux de Jouvét, certains auteurs ont postulé l'existence d'un « générateur d'état onirique »

dans le pont, responsable du déclenchement des ondes PGO. Pour Crick et Mitchison, ces ondes PGO se propageant dans le reste du cerveau provoqueraient une excitation aléatoire du réseau, à laquelle les associations non désirées seraient les plus susceptibles de répondre ; les assemblées « utiles » étant plus susceptibles d'être activées par des signaux spécifiques hautement structurés. Dans un second temps, un mécanisme « d'apprentissage inverse », non spécifié, permettrait d'éliminer ces associations « parasites ». Cela pourrait expliquer pourquoi les nouveaux-nés passent un temps considérable en SP. Le nombre considérable de connexions synaptiques « non-élaguées », et s'effectuant selon un mode semi-aléatoire, étant plus propice à des associations non spécifiques, ils auraient d'autant plus besoin de « désapprendre » ces assemblées parasitaires.

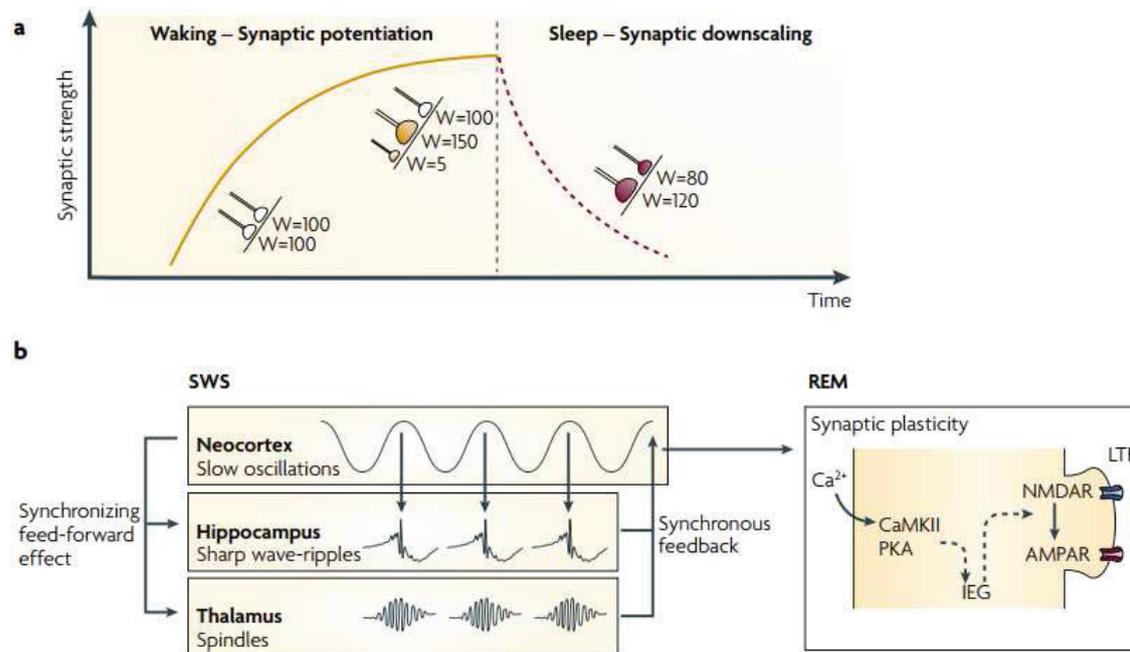
- **Une hypothèse apparentée, baptisée « *Sleep to Forget, Sleep to Remember* », a récemment été proposée par Walker (Goldstein et Walker, 2014). Cette théorie propose que le SP, après une expérience aversive, serait à la fois chargé de renforcer la trace mnésique, tout en la dissociant du tonus émotionnel associé. Selon lui, l'accroissement des quantités de SP chez les patients dépressifs favoriserait la consolidation d'éléments émotionnels négatifs, alors que la réduction du SP par la prise d'antidépresseurs conduirait à réduire ce biais. L'occurrence fréquente de cauchemars et les perturbations du SP chez les patients souffrant de syndrome de stress post-traumatique montreraient selon lui l'incapacité du SP à diminuer le tonus émotionnel associé au souvenir. De plus, chez le rongeur, le SP, ainsi que le sommeil de transition, ont régulièrement été impliqués dans l'extinction du conditionnement de peur (Deschaux *et al.*, 2010; Datta et O'Malley, 2013).**

- **L'hypothèse du « *dual-process* », évoquée plus haut, est essentiellement basée sur le paradigme de la « moitié de nuit ». En effet, le SP étant essentiellement concentré en fin de nuit, la première partie de la nuit est décrite comme « riche en SL » et la deuxième comme « riche en SP ». En laissant dormir les sujets (le plus souvent humains dans ce type d'expérience) seulement pendant l'une des deux parties de la nuit, les auteurs prétendent examiner les contributions respectives du SL et du SP. Ces études ont montré que la première partie de la nuit améliorerait, de façon assez reproductible, les performances en mémoire déclarative (Yaroush *et al.*, 1971, Fowler *et al.*, 1973). Suivant le même protocole, Plihal et Born (1997) ont répliqué ces résultats, tout en ajoutant que la période tardive riche en SP favorisait les performances en mémoire procédurale et implicite. Il a plus tard été montré que la mémoire déclarative émotionnelle bénéficiait plus de la seconde partie de nuit riche en SP (Wagner *et al.*, 2001). De manière générale, ces expériences tendent à montrer que le SP**

favoriserait plutôt les tâches dépendantes de noyaux sous-corticaux comme l'amygdale ou les ganglions de la base. En revanche, l'inconvénient majeur de ce protocole de moitié de nuit est qu'il n'est pas spécifique du fait de la présence de SL en deuxième partie de nuit et de SP pendant la première. De plus, d'autres paramètres, tels que la densité de fuseaux, la puissance des OL, les taux de cortisol et de catécholamines par exemple, sont des facteurs qui sont modulés pendant le sommeil et compliquent l'interprétation de ces études.

- **L'hypothèse séquentielle** souligne, elle, l'importance de la succession cyclique d'épisodes de SL et de SP. Cette théorie suggère que dans un premier temps, le SL contribuerait à affaiblir les souvenirs non-adaptatifs et à renforcer les souvenirs adaptatifs. Dans un second temps, le SP permettrait d'intégrer les traces adaptatives aux réseaux de connaissances préétablis et de les consolider (Giuditta, *et al.*, 1995; Stickgold, *et al.*, 2001). Les travaux appuyant cette hypothèse montrent par exemple que les performances dans une tâche d'évitement actif sont corrélées positivement au nombre d'épisodes de SL suivis de SP, alors qu'elles sont corrélées négativement au nombre d'épisodes de SL suivi d'éveil (Langella *et al.*, 1992). Cette hypothèse propose que les basses fréquences du SL provoqueraient une dépression synaptique globale (de par leurs similarité avec les stimulations utilisées pour induire une LTD, autour de 1Hz). En revanche le SP, avec ses hautes fréquences à l'EEG, l'activation d'IEG, et l'augmentation d'expression de BDNF, participerait au renforcement des connexions synaptiques (Ribeiro *et al.*, 2002; Ravassard *et al.*, 2015).

- L'hypothèse de consolidation systémique active (« *active system consolidation* ») est basée sur le postulat que la consolidation dépendante du sommeil est basée sur la réactivation répétée des traces mnésiques encodées pendant la journée. Cette hypothèse est basée notamment sur les très nombreux travaux mettant en exergue le rôle des réactivations mnésiques ayant lieu au cours du sommeil notamment pendant les SW-R (voir partie 4.2.4 et 4.2.5). Ces travaux proposent que l'interaction entre plusieurs types d'oscillations favoriserait ces réactivations et cette communication entre structures (**Figure 9B**). En effet, le couplage entre OL néocorticales, fuseaux corticaux-thalamiques, et SW-R hippocampiques a fait l'objet de nombreux travaux (Siapas et Wilson, 1998; Sirota *et al.*, 2003; Mölle *et al.*, 2009). Ces études précédentes ne démontraient généralement un couplage qu'entre deux de ces oscillations (OL-fuseaux, ou fuseaux-SW-R par exemple). Cependant, ce n'est que très récemment que le lien entre ces trois oscillations a été démontré, chez l'humain (Staresina *et*



**Figure 9: L'hypothèse d'homéostasie synaptique (SHY) et la théorie de consolidation systémique active. (A)** La SHY propose que l'encodage d'information à l'éveil entraîne la potentialisation de nombreuses synapses (terminaisons en jaune), entraînant une augmentation nette des poids synaptiques ( $W$ ). La petite terminaison jaune représente une nouvelle synapse et la blanche représente une terminaison non activée dont le poids n'a donc pas augmenté. Les oscillations lentes durant le SL suivant servent à diminuer globalement les poids synaptiques (terminaisons bordeaux). De ce fait, les connexions faibles sont éliminées, alors que les poids relatifs des connexions restantes sont préservés. Par conséquent, la mémoire est donc améliorée par l'augmentation du rapport signal sur bruit après *downscaling*. **(B)** La consolidation systémique active propose que durant l'éveil, l'information est à la fois encodée dans l'HPC et le néocortex. Durant le SL qui suit, les ondes lentes entraînent la réactivation répétée de ces représentations dans l'HPC, en synchronie avec les SW-R et les fuseaux thalamo-corticaux. En synchronisant ces événements, les ondes lentes assurent un transfert de l'information de l'HPC vers le néocortex pendant les *up-states*, ce qui prédisposent ces réseaux à des changements plastiques persistants durant le SP. Cette plasticité à long terme serait induite par exemple par l'activation de gènes immédiats précoces à travers le recrutement de la CamKII et de la PKA durant le SP. Figure extraite de Diekelmann et Born (2010)

al., 2015). Dans un deuxième temps, ces traces réactivées pendant le SL seraient ensuite consolidées pendant le SP par des processus de consolidation synaptique. Cependant, les mécanismes par lesquels le SP favoriserait cette consolidation synaptique restent énigmatiques. Parmi les hypothèses évoquées, nous pouvons citer l'activation de gènes immédiats précoces dans l'HPC et le néocortex durant le SP, spécifiquement chez les animaux ayant eu une expérience sensori-motrice enrichie pendant l'éveil précédent (Ribeiro *et al.*, 1999) et lors d'une augmentation des quantités de SP (Ravassard *et al.*, 2015; Renouard *et al.*, 2015). La forte libération d'acétylcholine durant cet état, notamment au niveau hippocampique, pourrait également favoriser les processus de plasticité (pour revue, voir Rasmusson, 2000). Enfin, le rythme thêta pourrait aussi être impliqué. En effet, les stimulations électriques sous forme de « *theta bursts* » sont connues pour être particulièrement efficace pour induire artificiellement la LTP dans l'HPC. En effet, cette périodicité (200ms) limite, par rapport aux *tetani* en train, l'activation de l'inhibition GABAergique qui contrôle l'induction de la LTP. D'autre part, la stimulation des afférences de CA1 est susceptible de provoquer une LTP ou une LTD suivant que la stimulation est délivrée dans le pic ou le creux de l'oscillation thêta (Hölscher *et al.*, 1997). Le couplage de ce rythme thêta avec des fréquences plus rapides comme le gamma a également été avancé en tant que processus favorable à la consolidation synaptique.

- **Une hypothèse dénommée SHY** (acronyme de *Synaptic Homeostasis hYpothesis* ou Hypothèse d'Homéostasie Synaptique; Tონoni et Cirelli, 2014), appuyée par un certain nombre de travaux, postule que l'éveil, avec les sollicitations sensori-motrices et mnésiques qui l'accompagnent, favoriserait globalement la création de nouvelles synapses, et donc l'apparition d'une potentialisation de la réponse synaptique (LTP) dans les réseaux de neurones stimulés durant cet état d'éveil. En conséquence, pour maintenir une homéostasie synaptique globale telle que celle proposée par le modèle BCM, la SHY propose que les synapses doivent donc être régulées à la baisse (« *synaptic down-scaling* », **voir partie III.2, « Le recalage synaptique »**). La SHY propose en outre que ce *synaptic down-scaling* aurait lieu durant la phase de sommeil qui suit cet éveil (**Figure 9A**). Néanmoins, la SHY prend en compte la nécessaire consolidation des traces mnésiques des informations stockées durant la phase d'éveil. Le processus de *synaptic down-scaling* permettrait ainsi de garder la trace d'une activité passée dans les synapses stimulées lors de l'éveil (apprentissage) même si l'activité globale de toutes les synapses (et donc même celles non recrutées lors d'un apprentissage) est effectivement « revue à la baisse ». Le *synaptic down-scaling* permettrait

donc d'effectuer un tri entre les informations pertinentes et non-pertinentes, en consolidant les premières tout en affaiblissant les autres. Cette « dépression » synaptique serait assurée par les OL, largement prédominantes durant le SL. Cette proposition découle du fait que la majorité des études électrophysiologiques ayant pour but d'induire expérimentalement une LTD implique généralement un protocole de stimulation à basse fréquence (1Hz) proche de la fréquence fondamentale des OL. Selon Tononi, la tendance nette à la potentialisation durant l'éveil contribuerait à une augmentation de la synchronisation neuronale entre différentes aires corticales. Les OL du SL constitueraient à la fois un marqueur et un effecteur des processus d'homéostasie synaptique postulée par la SHY (Tononi et Cirelli, 2014). En effet, l'augmentation de cette synchronie provoquée par une augmentation globale de la force des synapses durant l'éveil entraînerait durant les stades de SL qui suivent une plus grande puissance des OL. Cette augmentation de puissance des OL durant le SL provoquerait ensuite à son tour, par des processus de Plasticité Dépendante de la Temporalité des Potentiels d'Action (en anglais : *Spike-Timing Dependent Plasticity* [STDP]), une réduction globale de cette force synaptique (*synaptic down-scaling*). Or, cette assomption est essentiellement basée sur des travaux *in silico* (Olcese *et al.*, 2010), ce qui vaut à l'hypothèse SHY d'être vivement critiquée à plusieurs égards (voir entre autre Frank, 2013; Rasch et Born, 2013). D'une part, le rôle accordé au SP dans cette hypothèse reste flou voire inexistant. Cette lacune théorique apparaît d'autant plus surprenante que, plusieurs travaux, y compris ceux réalisés au sein de notre équipe, prouvent le rôle déterminant du SP aussi bien dans la régulation de la LTP hippocampique et de la mémoire émotionnelle (Ravassard *et al.*, 2015, 2016), que dans la consolidation à très long terme (30 jours) d'une tâche de conditionnement de peur au contexte (Marius Rosier, communication personnelle). D'autre part, la SHY n'accorde pas ou peu d'importance aux autres phénomènes oscillatoires du SL comme les fuseaux ou les SW-R, dont de nombreux articles démontrent l'importance dans les processus mnésiques (Girardeau *et al.*, 2009; Mölle *et al.*, 2009).

De récents travaux mettent à mal la théorie SHY et le fait que les épisodes de SL induiraient une dépression synaptique globale. Chauvette et collaborateurs (2012) ont en effet montré non pas une diminution, mais une augmentation des potentiels sensori-moteurs évoqués au niveau du système lemniscal médian après les premiers épisodes de SL. Ces auteurs montrent, de manière ingénieuse, que cette augmentation requiert des périodes transitoires d'hyperpolarisations (sous forme d'onde lentes appliquées selon un pattern enregistré *in vivo*) et suggèrent par ailleurs que cette facilitation des potentiels évoqués serait d'origine post-

synaptique, calcium-dépendante, et qu'elle nécessiterait une co-activation des récepteurs AMPA et NMDA. Il est intéressant de noter que le phénomène de LTP hippocampique présente également toutes ces caractéristiques. Malheureusement, des études de ce type, examinant la plasticité synaptique sur des synapses impliquées dans la mémoire, restent pour l'instant assez exceptionnelles. Enfin, une étude du groupe de Gan montre que dans le cortex frontal (le même que celui étudié par le groupe de Tononi) de la souris adulte, il existe une augmentation du nombre d'épines dendritiques, et donc probablement de synapses, pendant le SL après un apprentissage moteur qui implique ce cortex (Yang *et al.*, 2014). Les résultats de cette dernière étude sont peu compatibles avec le *synaptic down-scaling* pendant le SL, des réseaux corticaux activés à l'éveil.

Dans l'ensemble, ces théories diverses présentent plusieurs similarités. La plupart sont centrées sur le fait que le SL est impliqué dans la consolidation, notamment de la mémoire déclarative. Ce rôle essentiel du SL dans la fonction mnésique du sommeil est partagé par l'hypothèse du *dual-process*, celle de l'*active system consolidation*, ainsi que, dans une certaine mesure, par l'hypothèse séquentielle ainsi que la SHY. En revanche les mécanismes avancés pour expliquer ce phénomène varient substantiellement d'une théorie à l'autre. Pour une majorité d'auteurs, le rôle des réactivations associées ou non aux activités oscillatoires du SL serait essentiel au passage des traces mnésiques récentes d'un stock à court terme (hippocampique) à un stock à long terme (néocortical). En revanche, la SHY propose que ce rôle dans la consolidation mnésique soit lié à une augmentation du rapport signal/bruit provoqué par un *synaptic down-scaling* global induit par les OL du SL. De façon surprenante, les rôles attribués au SP sont dans l'ensemble nettement plus spéculatifs. Certains considèrent que le SP consolide les traces réactivées pendant le SL, alors que d'autres attribuent au SP un rôle dans l'élimination ou la réduction de certaines connexions. A l'échelle comportementale, le rôle du SP est difficile à envisager de manière globale car le SP n'a été impliqué que dans des tâches de mémoire spécifique émotionnelle, procédurale ou de discrimination sensorielle. Cependant, à l'échelle cellulaire, son rôle dans les phénomènes de plasticité de longue durée semble important et étendu à plusieurs réseaux essentiels aux phénomènes mnésiques comme ceux de l'HPC (Ribeiro *et al.*, 2002; Ravassard *et al.*, 2015, 2016). Il nous paraît, de ce fait, intéressant de souligner que les deux types de tâches, où le SP jouerait un rôle important, seraient plus dépendantes des structures sous-corticales en général (amygdale et ganglions de la base). En somme, le SP aurait un rôle majeur pour des formes de mémoire impliquant de manière prépondérante certains réseaux sous-corticaux assez proches de ceux constituant le

circuit de Papez. Devant l'ensemble de ces théories globales du rôle du sommeil qui reposent souvent, initialement, sur des faits expérimentaux limités à un réseau, il nous paraît important d'être sceptique par rapport aux modèles généraux. Il nous faut ainsi reconsidérer les rôles respectifs du SL et du SP, en s'attachant à décrire la modulation à court et à long terme de réseaux corticaux, mais aussi sous-corticaux, pendant le cycle veille-sommeil.

## V. Objectifs et hypothèses

### V.1. Origines des études

Avant son recrutement à Lyon, le Dr. Malleret a travaillé sur un modèle de souris transgénique présentant un déficit de la LTD NMDA-R dépendante. Celui-ci a montré, par des tests comportementaux appropriés, que ces souris présentaient des déficits de flexibilité comportementale. Plus précisément, ces souris présentaient un déficit d'oubli dans un apprentissage spatial en piscine de Morris, dont l'emplacement de la plateforme était changé au bout de quelques jours. Il a aussi montré que les souris transgéniques accumulaient les erreurs au fur et à mesure des essais réalisés dans les derniers jours d'une tâche de « *Delayed non-match to sample* » réalisée dans un labyrinthe en T. Les auteurs ont interprété ces résultats comme une inaptitude à gérer les interférences liées aux essais précédents pour les souris transgéniques présentant un défaut de LTD. Lors de son arrivée au sein de l'équipe du Dr. Luppi centrée sur le sommeil, il a été particulièrement influencé par ce travail, mais aussi par les théories de Wixted (2004), résumées en « dormir pour oublier, dormir pour se rappeler », ainsi que la SHY de Tononi et Cirelli (2003). De ce fait, il a alors mis au point, dans un premier temps, des tests comportementaux permettant de comparer, au sein du même dispositif, des tâches impliquant la MR, ou la mémoire de travail avec différents niveaux d'interférences (Joseph *et al.*, 2015). Ces travaux ont notamment permis de mettre en évidence, au sein d'un labyrinthe radial, l'effet délétère de l'accumulation des interférences sur les performances en mémoire de travail. En se basant sur la SHY et ses travaux antérieurs, le Dr. Malleret et son équipe ont donc émis l'hypothèse que le SL aurait un rôle important en affaiblissant les traces mnésiques non pertinentes par le « *downscaling* » synaptique postulé par Tononi. Ce faisant, les OL du SL aboutiraient à une diminution des interférences liés aux essais précédents et favoriseraient donc l'oubli adaptatif. Cette étude est ici présentée dans la première partie des résultats.

## V.2. Lien entre la première et la deuxième étude

Grâce à nos travaux réalisés en première année de thèse, nous avons démontré, par cette approche comportementale et électrophysiologique originale, que **différents processus cognitifs sont susceptibles d'influer différemment sur l'activité oscillatoire du cerveau pendant le sommeil**. De par cette étude et la théorie SHY de Tononi et Cirelli (2003), l'idée d'attribuer aux OL un rôle dans l'oubli ou la gestion des interférences *via* un « *synaptic down-scaling* » facilité est particulièrement tentante. Cependant, dans ces travaux, ainsi que dans une majeure partie de la littérature existante, **ces hypothèses ne peuvent être confirmées du fait de l'absence de mesure directe de la réponse synaptique des connexions** entre neurones des aires corticales impliquées dans ces comportements pendant le cycle veille-sommeil.

## V.3. Questions en suspens

**Afin de tester ces différentes prédictions quant à l'impact des oscillations électriques des différents états de vigilance sur la plasticité synaptique**, nous avons donc décidé de mettre en œuvre une technique nous permettant de tester l'évolution des connexions synaptiques, en parallèle avec les PCL spontanés, et ce, tout au long du cycle veille-sommeil de rats libres de leurs mouvements. L'idée originale était de comparer ces modifications synaptiques du sommeil basal avec celles induites par un apprentissage simple, puis par l'induction artificielle d'une LTP hippocampique, en utilisant chaque rat comme son propre contrôle. Ceci dans le but d'établir comment le SL et le SP agissent sur la transmission synaptique dans les réseaux de la mémoire afin de mieux comprendre comment ces deux états de vigilance régulent la formation/consolidation ou effacement des traces mnésiques. De plus, il aurait été particulièrement intéressant d'examiner les relations entre les modifications synaptiques induites par une LTP (et possiblement par l'apprentissage) et les éventuelles modifications des oscillations cérébrales spontanées. Même si nous disposions de quelques données préliminaires, par manque de temps, et du fait de certaines difficultés techniques sur lesquelles nous reviendrons dans la discussion, nous nous sommes néanmoins limités à décrire les modifications synaptiques du réseau étudié seulement pendant le cycle veille-sommeil **basal** de l'animal. Nous avons choisi de réaliser ces enregistrements spontanés et

évoqués simultanément sur trois types de connexions synaptiques afin de tenter de répondre à trois grandes questions : 1°) Comment évoluent les connexions entre différentes aires impliquées dans l'apprentissage au cours du SL et du SP ? 2°) Existe-t-il un mécanisme global et uniforme pendant le sommeil, tendant à faire évoluer toutes les réponses synaptiques à la baisse (SHY), ou, plus vraisemblablement, l'évolution des réponses synaptiques au cours du sommeil dépend-elle plutôt du type de synapse considéré ? Et 3°) Quelle est la nature réelle des interactions entre oscillations du sommeil et réponses synaptiques ?

#### *V.4. Hypothèses et expériences réalisées*

**L'exposé de la deuxième étude qui vous est présentée ici** propose donc de répondre à ces questions par des mesures électrophysiologiques simultanées des réponses synaptiques et des oscillations cérébrales pendant le cycle veille-sommeil réalisées chez le rat libre de ses mouvements. Nous avons donc mesuré, en plus des PCL spontanés, les Potentiels Post-Synaptiques Excitateurs de champs (PPSEc) évoqués par une stimulation électrique. Afin d'examiner l'impact des différents états de vigilance sur les réseaux de la mémoire, nous avons réalisé ces mesures au niveau de synapses situées dans des connexions neuronales essentielles pour l'apprentissage. Ces mesures furent donc effectuées sur les synapses reliant les cellules pyramidales des aires CA3 et CA1 de l'HPC, dont les caractéristiques électrophysiologiques à l'état basal sont particulièrement bien décrites. Dans le même temps, nous avons enregistré l'évolution des PPSEc aux synapses reliant le subiculum ventral (*via* le fornix) au CPFm ainsi qu'au NAc. Cette voie est en effet décrite comme une sortie de l'HPC vers ces deux dernières structures (Mulder *et al.*, 1997). Nous avons émis l'hypothèse que ce choix de connexions pourrait permettre de révéler des dynamiques spécifiques dans les réponses synaptiques au cours des états de vigilance. Conjointement, ces deux mesures combinées à des enregistrements polysomnographiques des états de sommeil nous ont permis d'examiner si l'amplitude des PPSEc était significativement modulée au cours des épisodes de SP ou de SL, cela grâce à une comparaison systématique des mesures réalisées en début et en fin d'un épisode de sommeil donné. Cela nous a permis d'observer d'éventuelles modifications de la transmission synaptique spécifiquement pendant un épisode de SP ou de SL sur des synapses clés appartenant à des réseaux limbiques impliqués dans plusieurs formes d'apprentissage, mais aussi d'observer l'évolution parallèle de la transmission synaptique entre HPC, néocortex et striatum ventral, ce qui n'avait encore jamais été réalisé. Grâce à

différentes méthodes d'analyse spectrale des PCL spontanés qui étaient associées à ces analyses, nous avons pu déterminer si il existait des corrélations entre la puissance des OL (ou du thêta caractéristique du SP) et le changement de réponse synaptique. Nous avons donc voulu observer, en accord avec la SHY, s'il existait une forte corrélation positive entre puissance des OL et force synaptique. L'approche expérimentale présentée dans ce manuscrit associe donc pour la première fois chez l'animal vigile des méthodes permettant d'analyser simultanément les réponses synaptiques et les oscillations cérébrales du sommeil.

**Cette étude a donc pour but de contribuer à la compréhension du rôle du sommeil dans les processus mnésiques par l'analyse de la dynamique de la transmission synaptique au sein du réseau limbique au cours des états de vigilance.**

# Résultats

# Première étude

# Levels of Interference in Long and Short-Term Memory Differentially Modulate Non-REM and REM Sleep

Nicolas Fraize, PhD<sup>1,\*</sup>; Julien Carponcy, PhD<sup>1,\*</sup>; Mickaël Antoine Joseph, PhD<sup>1</sup>; Jean-Christophe Comte, PhD<sup>2</sup>; Pierre-Hervé Luppi, PhD<sup>3</sup>; Paul-Antoine Libourel, MSc<sup>1,3</sup>; Paul-Antoine Salin, PhD<sup>1,2</sup>; Gaël Malleret, PhD<sup>1,\*</sup>; Régis Parmentier, PhD<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Forgetting and Cortical Dynamics, Lyon Neuroscience Research Center, University Lyon 1, Lyon, France; <sup>2</sup>Biphoton Internal Facility, Lyon Neuroscience Research Center, University Lyon 1, Lyon, France; <sup>3</sup>Pathophysiology of the Neural Networks of the Sleep/Wake Cycle, Lyon Neuroscience Research Center, University Lyon 1, Lyon, France; \*contributed equally

**Study Objectives:** It is commonly accepted that sleep is beneficial to memory processes, but it is still unclear if this benefit originates from improved memory consolidation or enhanced information processing. It has thus been proposed that sleep may also promote forgetting of undesirable and non-essential memories, a process required for optimization of cognitive resources. We tested the hypothesis that non-rapid eye movement sleep (NREMS) promotes forgetting of irrelevant information, more specifically when processing information in working memory (WM), while REM sleep (REMS) facilitates the consolidation of important information.

**Methods:** We recorded sleep patterns of rats trained in a radial maze in three different tasks engaging either the long-term or short-term storage of information, as well as a gradual level of interference.

**Results:** We observed a transient increase in REMS amount on the day the animal learned the rule of a long-term/reference memory task (RM), and, in contrast, a positive correlation between the performance of rats trained in a WM task involving an important processing of interference and the amount of NREMS or slow wave activity. Various oscillatory events were also differentially modulated by the type of training involved. Notably, NREMS spindles and REMS rapid theta increase with RM training, while sharp-wave ripples increase with all types of training.

**Conclusions:** These results suggest that REMS, but also rapid oscillations occurring during NREMS would be specifically implicated in the long-term memory in RM, whereas NREMS and slow oscillations could be involved in the forgetting of irrelevant information required for WM.

**Keywords:** reference memory, working memory, forgetting, interference, sleep, REM sleep, slow-wave sleep, oscillations

**Citation:** Fraize N, Carponcy J, Joseph MA, Comte JC, Luppi PH, Libourel PA, Salin PA, Malleret G, Parmentier R. Levels of interference in long and short-term memory differentially modulate non-REM and REM sleep. *SLEEP* 2016;39(12):XXX-XXX.

## Significance

Some information that we store are more essential than others. Adaptive forgetting allows the clearance of non-essential information that was stored in a more or less distant past. Animal models could help us understand the link between sleep and forgetting processing, but it is impossible to explicitly ask an animal to forget as it can be done in humans. In consequence, we adopted a comparative approach by training groups of rats in three different radial maze paradigms gradually involving a high level of interference that needs to be forgotten. We showed that rapid oscillations would be specifically involved in the long-term storage of information, whereas slow oscillations could be involved in the forgetting of irrelevant information required in short-term memory.

## INTRODUCTION

Of all the possible functions of sleep, its role on learning and memory is certainly the most studied. Many studies have shown that brain structures engaged in mnemonic tasks can be reactivated during post-training sleep reactivation.<sup>1-5</sup> Others have shown that memory deficits can be observed after sleep deprivation.<sup>6-10</sup> Some interpreted these results as the positive evidence of a selective function of sleep in memory consolidation.<sup>11-13</sup> Sleep has also been hypothesized to promote forgetting, and in particular adaptive forgetting of undesirable memories, by decreasing synaptic strength created during wakefulness.<sup>14-17</sup> Forgetting of irrelevant information could thus occur during sleep to promote a more efficient and selective recall of more important information.

Important and relevant information are for instance those pertaining to Reference Memory (RM) that corresponds to the long-term storage of invariable information gradually acquired over many training sessions.<sup>18</sup> In contrast, working memory (WM) depends on the short-term storage of trial-unique information,<sup>18-21</sup> required only temporarily, and that needs to be cleared away in order not to saturate our cognitive resources. Some authors have suggested that WM would be more a form of forgetting than a form of memory,<sup>22</sup> and that WM and RM

could simply be two antagonistic processes, one requiring forgetting and the other impaired by it.<sup>23</sup> Whereas numerous studies suggest that the long-term storage of information in RM requires long-term synaptic potentiation (LTP), notably in the hippocampal formation,<sup>24,25</sup> we and others have shown that hippocampal long-term depression (LTD) may function to weaken previous memory traces thereby preventing those traces from interfering with newly encoded information, in particular in tasks requiring WM.<sup>23,26</sup> Using a transgenic mouse model, we showed that forebrain expression of an inhibitor of the protein phosphatase 2A (PP2A) constrains hippocampal LTD and forgetting.<sup>26</sup> Inhibiting PP2A thus blocked the expression of LTD and the abilities of the mice to forget old information (concerning a platform position learned in the water maze task) that was no longer relevant. This deficit of forgetting also impaired WM abilities in a T-maze task by increasing the level of interference between trials. On the contrary, we showed that hippocampal expression of an inhibitor of the cAMP-dependent protein kinase (PKA) limits hippocampal LTP and RM, but also increases LTD, forgetting and WM abilities by decreasing the level of interference between highly identical trials of a radial maze task.<sup>23</sup> These results thus suggest that the long-term storage of information into RM

could benefit from LTP, while forgetting and the processing of interference would depend on LTD. LTP and LTD being dependent on different neuronal firing pattern (high frequency stimulation preferentially facilitating LTP, and low frequency LTD), we hypothesized that memory is differentially modulated by the different sleep stages and their specific oscillations.

Like memory, sleep is not unitary. It has been extensively shown by our team and others that in particular rapid eye movement sleep (REMS, or paradoxical sleep) deprivation inhibits the induction or maintenance of hippocampal LTP *in vivo* and *in vitro*,<sup>27–29</sup> whereas LTP and neuronal expression of LTP-related genes in the hippocampus could be more easily induced during REMS.<sup>30–33</sup> In contrast, non-REM sleep (NREMS) could favor synaptic depression. NREMS is characterized by low frequency oscillations, and several studies have shown that low frequency stimulation can induce LTD in various neuronal networks within the hippocampal pathways.<sup>34</sup> Cirelli and colleagues have also shown that sleep, and in particular NREMS, is associated with the upregulation of molecules implicated in LTD.<sup>35</sup> In the frontal cortex, it has also been found that EPSP (excitatory postsynaptic potential) amplitude was correlated with the power of NREMS-dependent slow wave activity (SWA), and that the downscaling of EPSPs during sleep followed the decrease in SWA power.<sup>36</sup> Based on these observations, the synaptic homeostasis hypothesis<sup>15,37</sup> thus predicts that plastic processes occurring during wakefulness would be reduced (depressed or downscaled) during NREMS in order to decrease synaptic efficacy to a baseline level that is energetically sustainable and beneficial for learning and memory processes. This is how non-adaptive, “useless” or “non-usable” memory traces would be eliminated.<sup>38,39</sup> Based on this hypothesis and our previous work,<sup>23,26</sup> we propose that the consolidation of information into long-term RM would preferentially engage REMS that facilitates hippocampal LTP,<sup>30</sup> and that in an opposite manner forgetting of irrelevant information such as the one temporarily stored in WM would selectively involve NREMS potentially promoting synaptic downscaling.<sup>15</sup> Such hypothesis has never been tested before.

To test this hypothesis, we adopted a comparative approach by training groups of rats in three different radial maze paradigms involving or not proactive interference (Figure 1), and recorded their sleep patterns each day after training. One group of rats was thus trained in a long-term reference memory (RM) task while two other groups were trained in a WM task involving a simple delayed-non-match-to-place procedure often used to test WM abilities in primates or rodents. One of these two WM groups was trained in a WM task requiring not only the short-term storage of information relevant to an ongoing trial, but also a high level of proactive interference materialized by the repetitive presentation of similar information throughout the entire ten days of training. We previously showed that this high interference WM (HIWM) protocol required the reduction (forgetting) of this interfering information.<sup>23</sup> The second WM group was trained in a low interfering WM (LIWM) protocol, so that such forgetting was less required. These three paradigms (RM, HIWM, LIWM tasks) thus tested three conditions gradually involving the adaptive forgetting of previously stored information, with HIWM

training being the condition where forgetting of previous trials is the most needed in contrast to the RM task during which such forgetting is deleterious to the consolidation of information into long-term memory. However, to control for motor, motivational and emotional aspects that might be confounding factors to such a comparative approach of different cognitive abilities, we designed these three paradigms so that each day, rats in all conditions visited the same number of arms with the same time interval between each visit. This allows a clear comparison between processes requiring the long-term (RM) or short-term (WM) storage of information and those requiring the adaptive forgetting of previously stored information in WM. Our results indicate that the long-term storage of information in RM induces specific changes in the amount of REMS, but also NREMS-dependent rapid oscillations, whereas the proper treatment of memory interference and the forgetting of irrelevant information required for WM is correlated to an increase in NREMS and SWA.

## METHODS

### Subjects

A total of 51 Dark Agouti rats (200–250 g) were purchased from Janvier, France. They were kept in a 12/12h (07:00–19:00) light/dark cycle with *ad libitum* access to food and water. Rats were housed in individual cages and were food deprived and maintained at 85% of their free-feeding weight throughout the whole radial maze experiment. Three groups learned a radial maze task (high interference working memory HIWM [ $n = 13$ ], low interference working memory LIWM [ $n = 12$ ] or reference memory RM [ $n = 12$ ] task), and a fourth group served as their respective controls (Yoked HIWM, LIWM or RM, total  $n = 14$ ). All behavioral experiments were conducted from 10:00 until 12:00 each day. The animal care and treatment procedures were in accordance with the regulations of the local (Lyon 1 University CE2A-UCBL 55) and European (2010/63/EU) ethics committee for the use of experimental animals. Every effort was made to minimize the number of animals used or any pain and discomfort occurred during surgical or behavioral procedures.

### Surgery and Polygraphic Recordings

Prior behavioral testing, the rats were submitted to surgical implantation of brain electrodes for sleep EEG and local field potential (LFP) recordings. They were anesthetized with Isofluran (5% induction, 1.5–2.5% for maintenance). Rimadyl (carprofen 5 mg/kg) and Xylocaine were injected subcutaneously before incision for analgesia. The skull was exposed, cleaned, and burr holes were drilled for the insertion of screws (0.6 mm diameter 1 mm long) for subdural EEG recordings. These screws were located over the right prefrontal cortex (AP +1; ML +1.2) and the cerebellum (reference electrode; AP, –9.0; L, ~1.0). For LFP recording, a 100- $\mu$ m diameter electrode (stainless steel, BioMedical Instruments, Germany) was inserted into the hippocampal CA1 region (AP, –3.3; L, 2.8; D, –2.4). Electromyogram (EMG) activity was assessed from the neck muscles by 2 wires embedded with a ~1-mm diameter gold plated tin sphere. Electrodes were linked to a sub-miniature

plastic-one connector cemented to the skull. Skin was then sutured around the cement and local antiseptic was applied to avoid post-surgery infection. Then 2 mL of a 5 g/L glucose solution was injected subcutaneously. During a post-surgery recovery period of 10 days, animals were placed in a sound-attenuated, ventilated and electrically isolated chamber (60 cm side cube) and connected by a tether to a rotating connector (Plastics One Inc., CT). After recovery, animals were habituated to the radial maze apparatus for 5 days (see below). Each day after habituation or training, animals were placed in their recording chambers at 12:00, and EEG/EMG activity was amplified (1000×), filtered (0.3–500 Hz for EEG and 3–500 Hz for EMG, A-M systems) and recorded continuously using a National instrument data acquisition card (NI USB6353) and Matlab software. The signals were sampled at 2 kHz. Data were stored on a computer for off-line analysis.

### **Behavioral Apparatus**

An 8-arm radial maze was used throughout the entire experiment for all tasks. The radial maze allows testing in both RM and WM in one single spatial environment and thus permits to determine a clear distinction between processes required for these different forms of memory. The apparatus consisted of an elevated radial maze.<sup>40</sup> Eight arms (65 cm long × 12 cm wide) ended by rectangular platforms (17 cm × 25 cm) were arranged around an octagonal central platform (33 cm diameter). Each arm could be automatically moved in an upward (open) or a downward position (close) by the experimenter monitoring rat movements using a video camera above the maze while located in a room directly adjacent to the testing room. Lowering (closing) an arm prevented access to the platform located at its end. Food rewards (Dustless Precision Pellets; Bioserve, Frenchtown, NJ) could be placed in squared food wells of 2 × 2 cm and 0.5 cm deep located on each rectangular platform. The maze was located in a room with a number of extramaze cues (e.g., door, furniture) allowing the rats to use spatial (hippocampal-dependent) memory to remember locations of food rewards. All rats' movements in the maze were recorded for off-line examination.

### **Behavioral Protocol**

Food deprived rats had to retrieve food pellets at the end of the maze's arms using spatial navigation and distal visual cues surrounding the maze. Food deprivation was the same for all groups. Rats underwent a 5-days habituation period during which they became accustomed to the radial maze environment and learned to find rewards in the platform wells. During this habituation period, all arms were baited but rats were not authorized to return to an arm they already visited, preventing the rat to learn important aspects pertaining to the non-match rule (later used in the two WM tasks but not in the RM task). After eating a pellet in a given arm, this arm was thus closed and another arm was open in a sequential order. The route of the animal was therefore pre-randomly determined by the experimenter. At the end of this habituation procedure, rats were randomly assigned to one of the six groups (RM, YRM, LIWM, YLIWM, HIWM, and YHIWM) described below.

### **Reference Memory (RM) Group**

Rats trained in the RM task had to retrieve 2 food pellets placed each day invariably in the same 2 of 8 arms for the entire 10 days of training (see Figure 1c, e.g., arms #1 and #4). A rat was thus initially placed in a pseudo-randomly chosen starting platform (on which the food well had been removed), all arms of the maze being in the upward (open) position. Once the rat has left this platform to reach a new ending platform (consisting in a "visit" or "run"), the arm leading to this new platform was lowered in order to block the rat on the platform. After consuming the food reward in the case of a correct choice, or not (in the case of an incorrect choice), the rat was placed in a transfer cage adjacent to the maze for a short inter-trial delay of 15 s, then placed back into the maze for the next trial. The arms leading to the previously chosen platform(s) remained lowered (close) in order to prevent working memory use and errors. After both food pellets were retrieved, the 2 previously baited arms were re-baited and all arms were replaced in the upward (open) position. Rats underwent 8 trials (runs) per day, and the maximum score per day was thus fixed at 8 pellets eaten. The latency to choose an arm as well as the number of correct choices were scored. A third of these experimental RM rats were paired with yoked controls (YRM;  $n = 4$ ) that performed the same amount of motor activity and ate the same number of pellets. These yoked controls were forced to enter into pseudo-randomly chosen arms and were either reinforced or not depending on the performance of their experimental (RM) matched rat. The starting and destination platforms varied between trials in such a way that yoked controls could not use motor memory to predict the arm location they were forced into or anticipate a reward. Using yoked controls allows the experimenter to conclude that all differences in sleep patterns observed between groups are inherent to cognitive aspects of the task and not due to emotional, motivational or locomotor effects.<sup>41</sup>

### **Low Interference Working Memory (LIWM) Group**

Rats trained in the LIWM task (Figure 1d) were submitted to 4 trials per day, each consisting of a sample and a choice phase (4 trials × 2 phases = 8 runs matching the 8 runs performed by RM rats). In the sample phase, a rat was first allowed, from a pseudo-randomly chosen starting arm, to enter one pseudo-randomly chosen baited arm/platform with all other arms being lowered (closed). This rat was then returned to a transfer cage adjacent to the maze for a short delay of 15 s (same cage and delay than in the RM task). During the subsequent choice phase, and still from a pseudo-randomly chosen starting arm, the rat was allowed to visit one of 2 adjacent arms, the familiar arm that had just been visited and empty of food, or an adjacent arm (right or left chosen pseudo-randomly) containing a new food reward. The rat had to choose the novel arm in order to be positively reinforced (classical delayed non-match to place task, DNMTTP). Different pairs of arms were used for each trial. LIWM rats could also be matched to a yoked control group (YLIWM;  $n = 5$ ). Whereas LIWM rats had to learn a DNMTTP rule in order to successfully complete the task, YLIWM control rats were exposed to an equal number of non-match and match trials in a pseudorandom order to make sure

that these rats could not predict the trial outcome. They were also forced to visit only one arm during each phase of the task and were not exposed to any cognitive choice as compared to LIWM rats.

### **High Interference Working Memory (HIWM) Group**

The HIWM task procedure (Figure 1e) was the same as the one described above for the LIWM task, except that the same pair of arms was used for every trial during the entire 10 days of training. This promoted a high level of interference and repetition in order to make forgetting of previous trials necessary to complete an ongoing trial.<sup>23</sup> HIWM rats were paired with yoked (YHIWM;  $n = 5$ ) controls that performed the same amount of motor activity and ate the same number of pellets (see above the YLIWM group).

### **Sleep and Spectral Analysis**

The vigilance states were scored by 5-s epochs. Double-blind off-line analysis was independently carried out using the classical following criteria: for wakefulness (Wk), low voltage/fast cortical EEG and high amplitude EMG; for NREMS, high voltage ( $> 200 \mu\text{V}$ ) slow wave EEG (1–5 Hz) and low amplitude EMG; and for REMS, low voltage and predominant theta frequency (5–10 Hz) with an absence of muscle tone.<sup>42</sup> For sleep-wake cycle parameters, duration of each vigilance state was assessed for each hour and during the first 12 h post-training each day. These durations were expressed in minutes. For spectral analysis, EEG power spectra were computed for every 5-s epoch within the frequency range of 0–500 Hz (total spectrum) using a multitaper Fourier transform analysis with the help of the chronux toolbox<sup>43</sup> (Chronux data analysis platform from <http://chronux.org>) and custom-written Matlab script (MatWorks, Inc.). The data were collapsed in 0.25 Hz bins. To prevent misinterpretation on epochs corresponding to transition phases between 2 vigilance states, the first and last epochs of REMS and the first and last 2 epochs of NREMS were omitted for the spectral analysis. Power densities obtained for each state were summed over the total band of 0–500 Hz (total power). To standardize the data, all power spectral densities at the different frequency ranges, i.e., delta  $\delta$ , 0.5–5 Hz; theta  $\theta$ , 5–10 Hz; sigma  $\sigma$  (spindles) 10–14 Hz; beta  $\beta$ , 14–30 Hz; and gamma  $\gamma$ , 30–60 Hz, were expressed as a percentage relative to the total power of the same epoch (relative spectral power). All power spectral analyses were conducted for the first hour of concatenated NREMS episodes (mean from 720 epochs) and the first 20 minutes of concatenated REMS episodes after training (mean from 240 epochs). This hour of NREMS extend to  $6.58 \pm 0.11$  h for the control group,  $6.74 \pm 0.22$  for the RM task,  $6.84 \pm 0.13$  for the HIWM task, and  $6.93 \pm 0.11$  for the LIWM task. And the 20 min of REMS extend to  $4.27 \pm 0.06$  h for the control group,  $4.26 \pm 0.10$  h for the RM group,  $4.24 \pm 0.09$  h for the HIWM group and  $4.18 \pm 0.10$  h for the LIWM group. Transient spindles (10–14 Hz), sharp wave ripples (SW-R; 100–300 Hz) and rapid theta (9–14 Hz) were detected using a mean  $\pm 2$  SD threshold of the integrated spectral power from the corresponding band calculated from EEG (spindles) and CA1 signal (SW-R, rapid theta). This analysis was also conducted for the first hour of

concatenated NREMS episodes (spindles and SW-R) and the first 20 min of concatenated REMS (rapid theta) after training but without omission of transition epochs. Recording site irregularities (broken electric contact, poor quality LFP signals or an extra-CA1 localization of a LFP electrode after electro-coagulation verification) were *a priori* identified and removed from local (CA1) analysis; trace without total continuity (10 days of recordings) was also excluded from oscillations analysis. For this sleep and spectral analysis, the final number of animals per group was thus  $n = 12$  for RM and LIWM, 13 for HIWM and 14 for the control group (for oscillations and CA1 signal  $n = 9$  for RM and LIWM, 10 for HIWM, and 13 for the control group)

### **Statistical Analyses**

All data are expressed as means  $\pm$  SEM, and statistical difference was assessed with probability under 0.05 after checking for normality and homogeneity of variance.

### **Behavioral Performance**

Behavioral performances were analyzed using two-way ANOVAs (analysis of variance) allowing repeated measures analyses with Block (of 2 days) and Group (RM, LIWM, HIWM, and controls) as main factors (Sigmaplot). Post hoc (Scheffe) tests were further performed for particular within-group comparisons. In the RM task, the first day of rule learning was assessed by fitting performances of each rat to a classical sigmoidal curve (dose response EC50 analysis). The EC50 95% confidence interval was calculated (Sigmaplot) indicating for all rats the average period of highest increase in performance, i.e., the point in time when animals learn the rule of the RM task. This confidence interval (in days) also represents statistically the start and the end of learning. We also designed a simple Matlab routine that uses conditional operators (“if,” “then,” “else”) to virtually replicate the behavioral RM test using the same two rules as our real experiment: (1) not visiting the same arms twice unless both baited arms were visited, and (2) not going back in the starting arm. The starting arm and the visited arm were chosen randomly. The scores at the end of each session of 8 trials were recorded. This routine allowed us to calculate the chance level for the RM experiment by creating a virtual group of animals composed of the same number of individuals ( $n = 12$ ) that performed completely randomly. We then compared this virtual group with our experimental RM group and performed a Man-Whitney statistical test to determine the first day of learning for RM rats, i.e., when our experimental RM group deviated from chance (virtual group performance) level. In contrast, for HIWM and LIWM (two classical delay non-match tasks), chance level was simply fixed at 50%.

### **Sleep**

For sleep quantities, we used one-way ANOVAs with Group as main factor. To assess the significance of the differences between groups and how many changes are expected by chance, we calculated the significant differences from the means by bootstrap randomization tests with a confidence interval (CI)  $> 95\%$ . Two-way ANOVAs on repeated measures on the

cumulative time spent in REMS on day 5 was assessed in the 4 groups of animals over the 12 h of post-training sleep using Group and Hours as main factors. Two-way ANOVAs on repeated measures on the cumulative number of events and duration of spindles and SW-Rs activity were assessed in the four groups of animals over 10 days of training using Group and Day as main factors. Post hoc (Scheffe) tests were further performed for particular within-group comparisons. Data from YLIWM, YHIWM, and YRM were pooled (as a global control group) as no significant statistical differences were found between these 3 groups for all considered sleep parameters, and this group represent the comparative group.

### Correlation Analysis

Linear regression analyses were performed to assess potential correlations existing between the vigilance state parameters (duration, number of episodes, average duration of episodes) recorded during 12 h post training (day  $n$ ) and the performance of the rats on the following day ( $n + 1$ ). Pearson correlation coefficient ( $r$ ) was used to detect significant regressions. To assess the significance of the differences between groups and exclude a chance factor, we calculated the confidence interval (CI)  $> 95\%$  by bootstrap randomization of the data and calculation of the Pearson correlation coefficients. To compare the different regressions, Fisher Z transform was calculated on the correlation coefficient to obtain a normal distribution. ANOVAs were then performed (Sigmaplot) to compare the transformed  $r$  values for the different groups.

For all oscillatory parameters (for each frequency band and transient event), the difference between the relative spectral power on one day (day  $n$ ) and the relative spectral power on the next day (day  $n + 1$ ) was calculated (increase or decrease in relative spectral power). Increase in performance was calculated as the difference between the performance of a given day (day  $n$ ) and the performance of the same rat the day after (day  $n + 1$ ). A linear regression analysis was then performed to assess correlation between behavioral performance increase (or decrease) and oscillatory parameters (increase or decrease of relative spectral power). Pearson correlation coefficient ( $r$ ) was used to detect significant regressions. To assess the significance of the differences between groups and exclude a chance factor, we calculated the confidence interval (CI)  $> 95\%$  or  $> 99\%$  with the Bonferroni correction (1 to 0.05/5) based on comparing 5 variables (oscillations  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\sigma$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) by bootstrap randomization of the data and calculation of the Pearson correlation coefficients. To compare the different regressions, Fisher Z transform was calculated on the correlation coefficient to obtain a normal distribution. ANOVAs were then performed (Sigmaplot) to compare the transformed  $r$  values for the different frequency bands.

## RESULTS

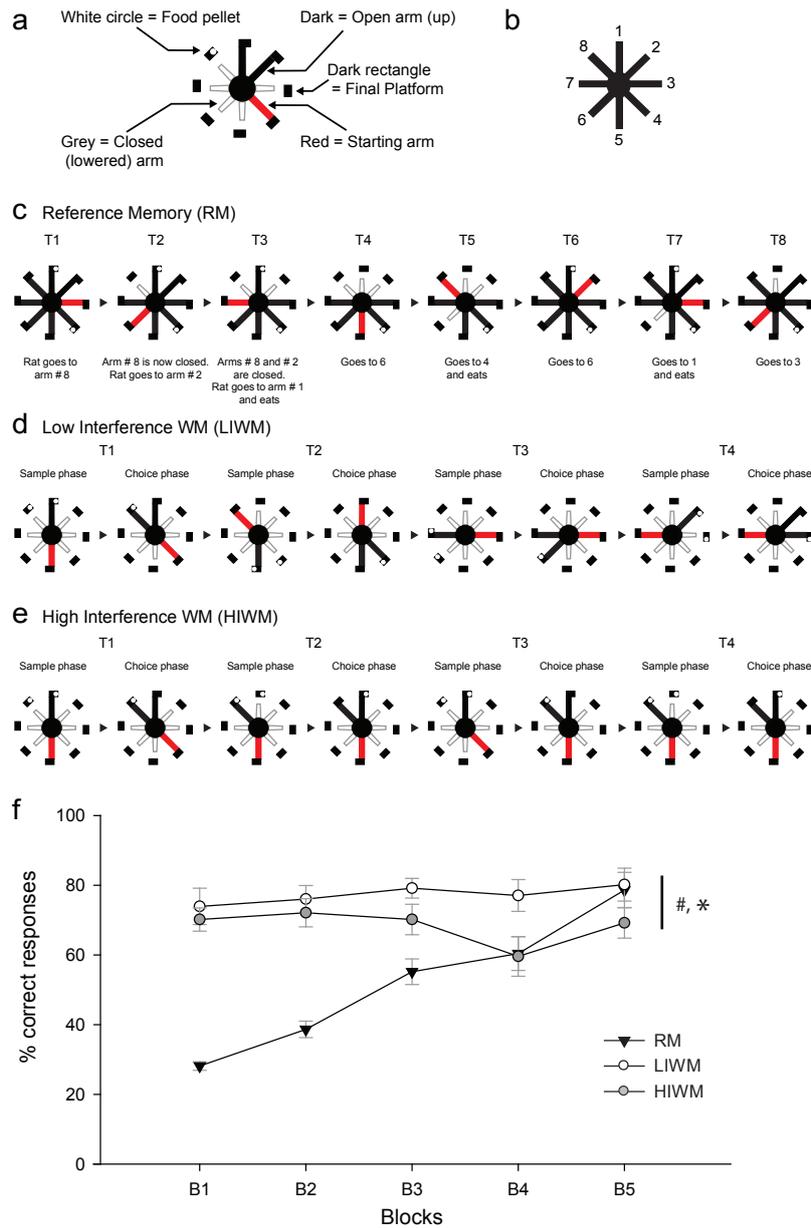
### Proactive Interference Alters Working Memory Performance

Figure 1f represents the performance of our 3 experimental groups of rats. A significant difference in performance was found between the HIWM and the LIWM groups ( $F_{1,23} = 14.17$ ;  $P = 0.001$ ). The increasing amount of interference building

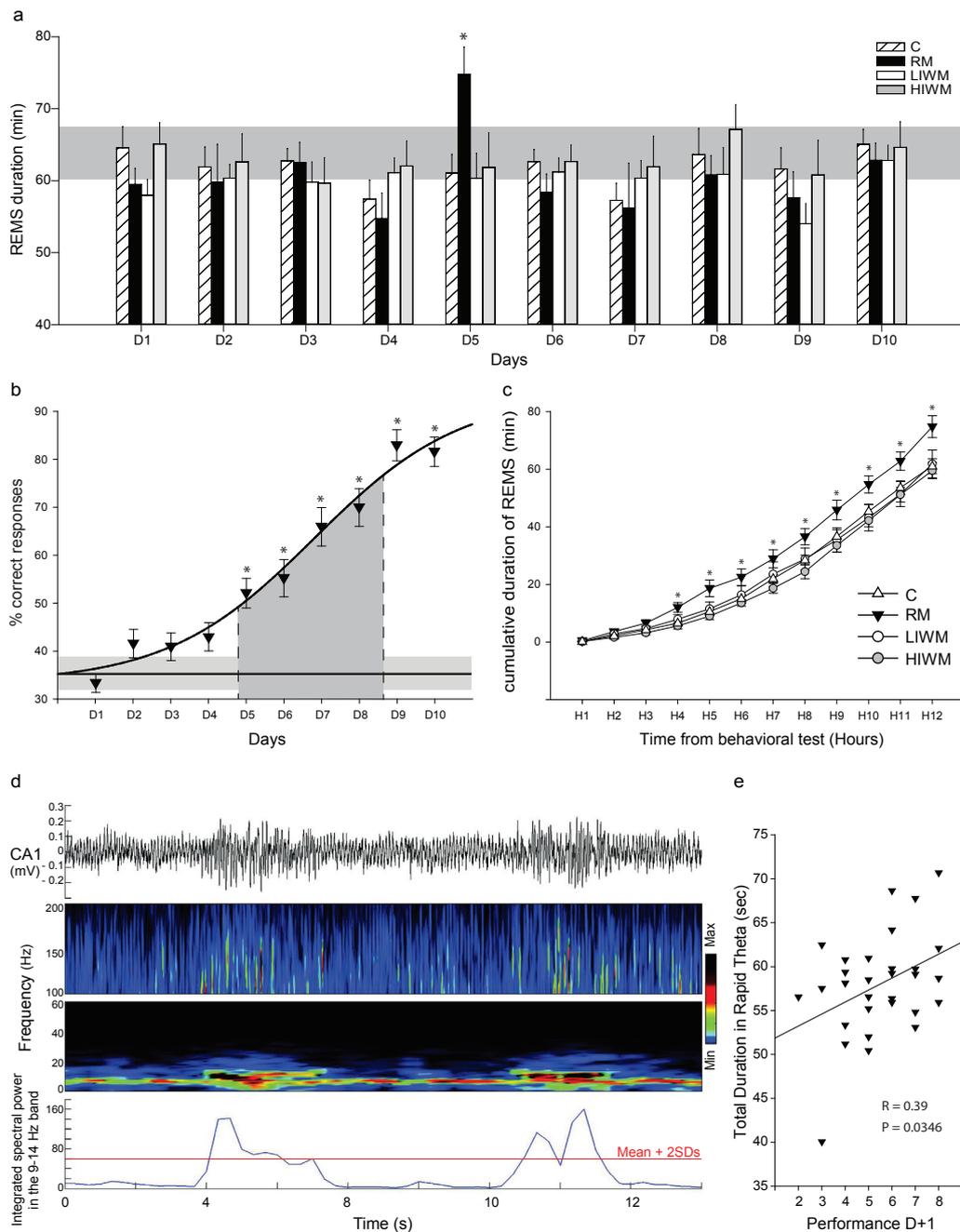
up after numerous trials and days in the HIWM group provoked a significant decrease in performance observed during the last days of training for rats trained in this task as compared to rats trained in the LIWM task that improved their performance over time ( $59.6 \pm 5.7$  vs  $77.1 \pm 4.6$  on Block 4 and  $69.2 \pm 4.4$  vs  $80.2 \pm 4.7$  on Block 5;  $P < 0.05$  for both blocks; see Figure 1f). This first result highlights an often overlooked issue concerning WM; more precisely, that an information supposedly stored temporarily in WM can have an impact on the long term when it becomes an interference for subsequent WM information as seen here with the decrease in performance over days (not seconds or minutes) in the HIWM group. We previously showed that forgetting such interference in this task is essential to process information in WM more efficiently.<sup>23</sup> In contrast to both WM groups, RM rats gradually increased their performances across successive days to reach a level of 79% of correct choices on the last day of training (Block effect  $F_{4,44} = 38.62$ ;  $P < 0.0001$ ; see Figure 1f).

### Learning the Reference Memory Task Transiently Increases the Amount of Paradoxical Sleep

Statistically, the 95% confidence interval (4.8 to 8.8 day) calculated from the sigmoid model (EC50 analysis) shows that the 5th (4.8 exactly) day is critical for learning the RM task as the majority of RM recorded rats start to reach a score greater than half of the maximum score ( $> 4/8$  correct trials) on that day (Figure 2b). In addition, using a simple algorithm mimicking our behavioral test (see Methods), we created a group of virtual rats that make random choices and performing at chance level—the estimated chance level was 34.2%. Compared to such a group, we found that the RM group started to have significantly higher performances ( $P < 0.05$ ) on day 5. Altogether, these data show that day 5 is critical for learning the RM task. Each day after training, the rats were placed in recording chambers to assess changes in the amount of NREMS and REMS that the different types of training initiated in the rats (their sleep recordings were systematically compared to those of yoked control animals—see Methods). Interestingly, an increase in REMS was seen in the RM group on day 5 of training ( $P = 0.0054$ ; Figure 2a) as compared to the day before or the day after D5. No such increase could be explained by chance alone (bootstrap verification, Figure 2a) nor was seen with NREMS (not shown). We can thus assume that the increase in REMS is observed when the rats started to integrate and memorize the RM task rule. In addition, the analysis of the cumulative curve of REMS quantity on day 5 shows that this increase in REMS began shortly after training as significant difference is observed between RM rats and controls (and the other groups) only 4 h after the end of training ( $P = 0.0039$ ; see Figure 2c). Moreover, after this critical day, performance of rats trained in the RM task is correlated to the duration of REMS rapid theta activity (9–14 Hz). A significant correlation (Pearson coefficient tested;  $r = 0.39$ ,  $P = 0.0346$ ; Figure 2e) between the duration of rapid theta oscillations recorded during REMS post training (day  $n$ ) and performance of the rats in behavioral testing on day  $n + 1$ .



**Figure 1**—Behavioral paradigms and performance. **a–e** A schematic representation of one day of training for each of the three different experimental groups. **c**, One daily session of RM training for a given rat. The same two arms (here 1 and 4, see **b**) were baited every day for each trial. Each daily session consisted of 8 trials (T1 to T8). During a given trial, the rat is able to visit one arm only. Dark represents open arms. White represents closed arms. Red represents starting arm. Circles represent food pellets (**a**). **d**, One daily session of LIWM training. Each day consisted of 4 trials (T1 to T4). Each trial (T) consisted of 2 phases. This task is a “delayed non-match to place” task during which the animal must memorize a position in space (acquired during the sample phase) and retain this information for a short time (15 seconds). To obtain the food reward during the choice phase, the animal must remember the information stored and visit a different place (arm) in space. In this task, different pairs of arms are used for each trial, so that forgetting of previous trials is not necessary in order to have good performance on an ongoing trial. **e**, One daily session of HIWM training. This task is also a “delayed non-match to place” task except that the same pair of arms is used every day for each trial. Consequently, the trials are very similar to each other and it is therefore necessary to forget/ignore previous trials (e.g., T1 and T2) in order to complete an ongoing trial (e.g., T3). **f**, Proactive interference induces a decrease in performance in WM. Percentage of correct choices  $\pm$  SEM per Block of 2 days in the RM (dark triangles,  $n = 12$ ), LIWM (white circles,  $n = 12$ ) and HIWM (gray circles,  $n = 13$ ) tasks. ANOVAs revealed a significant Group effect ( $F_{2,34} = 33.25$ ;  $P < 0.0001$ ), a significant Block effect ( $F_{4,136} = 9.12$ ;  $P < 0.0001$ ), as well as a significant Group  $\times$  Block interaction ( $F_{8,136} = 7.07$ ;  $P < 0.0001$ ). Post hoc analyses revealed that RM rats significantly improved their performance over time ( $F_{4,44} = 38.62$ ;  $P < 0.0001$ ) and reached 79% correct choices on the last block of training. In WM groups, we investigated how proactive interference affected learning. At the beginning of training, both LIWM and HIWM groups started at almost 70% of correct choices. Overall, rats kept high scores throughout the entire experiment, but HIWM rats showed a decrease in performance over days. On the other hand, scores of LIWM rats slightly increased with time and reached 80% on block 5. Post hoc analysis reveals difference ( $P < 0.05$ ) between groups (Pairwise comparison HIWM vs LIWM #, vs RM\*). More importantly, a significant difference in performance was observed at the end of training between LIWM and HIWM rats ( $P = 0.020$  on B4 and  $P = 0.048$  on B5).



**Figure 2**—Modeling of performances and transient increase in REMS shortly after training in the reference memory task. **a**, Quantitative variations of sleep states in RM ( $n = 12$ , dark bars), LIWM ( $n = 12$ , white bars), HIWM ( $n = 13$ , light gray bars) and control ( $n = 14$ , hatched bars) rats. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM (min) over the 10 days of training. A transient increase of REMS was seen in the RM group on day 5 of training ( $P = 0.0054$  vs Control group). To assess the significance of the differences between groups, we used a bootstrap procedure to construct a 99% confidence interval for the 5<sup>th</sup> day (gray area). The increase in REMS seen in RM on day 5 is not comprised in this interval and may not be explained by chance alone. **b**, The first day of rule learning was assessed by fitting performances of each rat to a classical sigmoidal curve (dose response EC50 analysis). The 95% confidence interval was calculated (gray area, from 4.78 to 8.62) indicating the highest increasing period for performances, i.e., the period when animals learn more. Note that the start of this area corresponds to a score significantly different ( $*P < 0.05$ ) from the calculated chance (black line average of a virtual group of 12 animals  $\pm$  SEM in gray). The first day of learning was thus determined as the 5<sup>th</sup> (4.78 exactly [see above]) day of training. **c**, Mean cumulative duration ( $\pm$  SEM) of REMS during the 12 hours following day 5 of training. ANOVAs revealed a significant Group effect ( $F_{3,47} = 3.15$ ;  $P = 0.036$ ) as well as a significant Group  $\times$  Hour interaction ( $F_{33,517} = 1.994$ ;  $P = 0.0012$ ). Post hoc analyses indicate that the significant increase of REMS quantity appeared on the 4<sup>th</sup> hour of recording ( $*P < 0.05$ , RM vs Control or LIWM or HIWM). **d**, Sample of CA1 recording showing detected rapid theta activity using a threshold of mean + 2 SDs (red line) from the filtered (lower; 9–14 Hz) CA1 (upper) trace. **e**, Performance of rats trained in the RM task is correlated to the duration of REMS rapid theta activity. A significant correlation (Pearson coefficient tested;  $r = 0.39$ ,  $P = 0.0346$ ) between the duration of rapid theta oscillations recorded during post training (day  $n$ ) REMS (20 minutes concatenated) and performance of the rats (RM task) on day  $n + 1$  was seen after the 5<sup>th</sup> day of training.

**Table 1**—Correlation between performance of rats and sleeps amount showed by the regression coefficient and the Pearson probability of significance (in parentheses).

		1 <sup>st</sup> 4 Days	Last 4 Days
NREMS	RM	0.180 (0.24)	-0.028 (0.87)
	LIWM	-0.198 (0.20)	-0.072 (0.63)
	HIWM	0.657 (< 0.01)	0.218 (0.14)
REMS	RM	-0.145 (0.34)	0.061 (0.72)
	LIWM	0.086 (0.58)	0.003 (0.98)
	HIWM	0.211 (0.15)	-0.155 (0.19)

Correlation between NREMS or REMS amounts recorded during 12 hours post training (day *n*) and performance of rats in behavioral testing on day *n* + 1. A significant correlation between NREMS duration and performance was seen at the beginning of training (first 4 days see Figure 3) when performance was maximum and equivalent to performance of rats trained in the LIWM task (see Figure 1). No such correlation was found at the end of training, with REMS duration or in the other groups.

### The Processing of Interference in WM Is Associated with an Increase in NREMS Quantity and Slow Wave Activity

No noticeable change in sleep patterns was specifically observed in the 2 WM groups (see Figure S1 in the supplemental material). However, we asked whether there was any correlation between the time spent in NREMS on a given day (day *n*) and the performance in HIWM the day after (day *n* + 1). As hypothesized, NREMS amount during the 12 h post training (day *n*) were positively correlated to the level of performance of rats trained in the HIWM task (see Figure 3a). Moreover, this NREMS amount is highly positively correlated to the level of performance during the first four days of training in the HIWM task (day 1–4;  $r = 0.66$ ,  $P < 0.0001$  see Figure 3c), a time window during which the performance of the animals was equivalent to the performance of rats trained in the LIWM task and not yet altered by the presence of interference (see Figure 1f). Such correlation was neither found between performance and REMS amount (Figure 3b, 3d, 3f) in this group nor between performance and NREMS or REMS amount in the RM and LIWM groups (see Table 1), suggesting that NREMS may specifically promote an efficient reduction of proactive interference. Moreover, we confirmed with a Fisher test for equality of slopes that the correlations between performance and NREMS are statistically different between HIWM and LIWM groups ( $F_{1,92} = 17.48$ ;  $P < 0.0001$ ). To verify the significance of our observed correlations, we compared them to those obtained when the data were randomized multiple times (100 times). Once randomized, we found that the 95% CI corresponds to  $r$  values between  $-0.20$  and  $0.21$  representing 98 of the 100  $r$  values randomly calculated. Two  $r$  values ( $-0.22$  and  $0.27$ ) were thus found out of this 95% CI. Our  $r$  value ( $0.33$ , Figure 3a) is thus superior to these values and out of a 99% CI. Moreover, at the end of training, when the performance of rats in HIWM was clearly affected by the accumulation of interference, such correlation between NREMS amount and HIWM performance was not observed anymore ( $r = 0.218$ ,  $P = 0.14$ ,

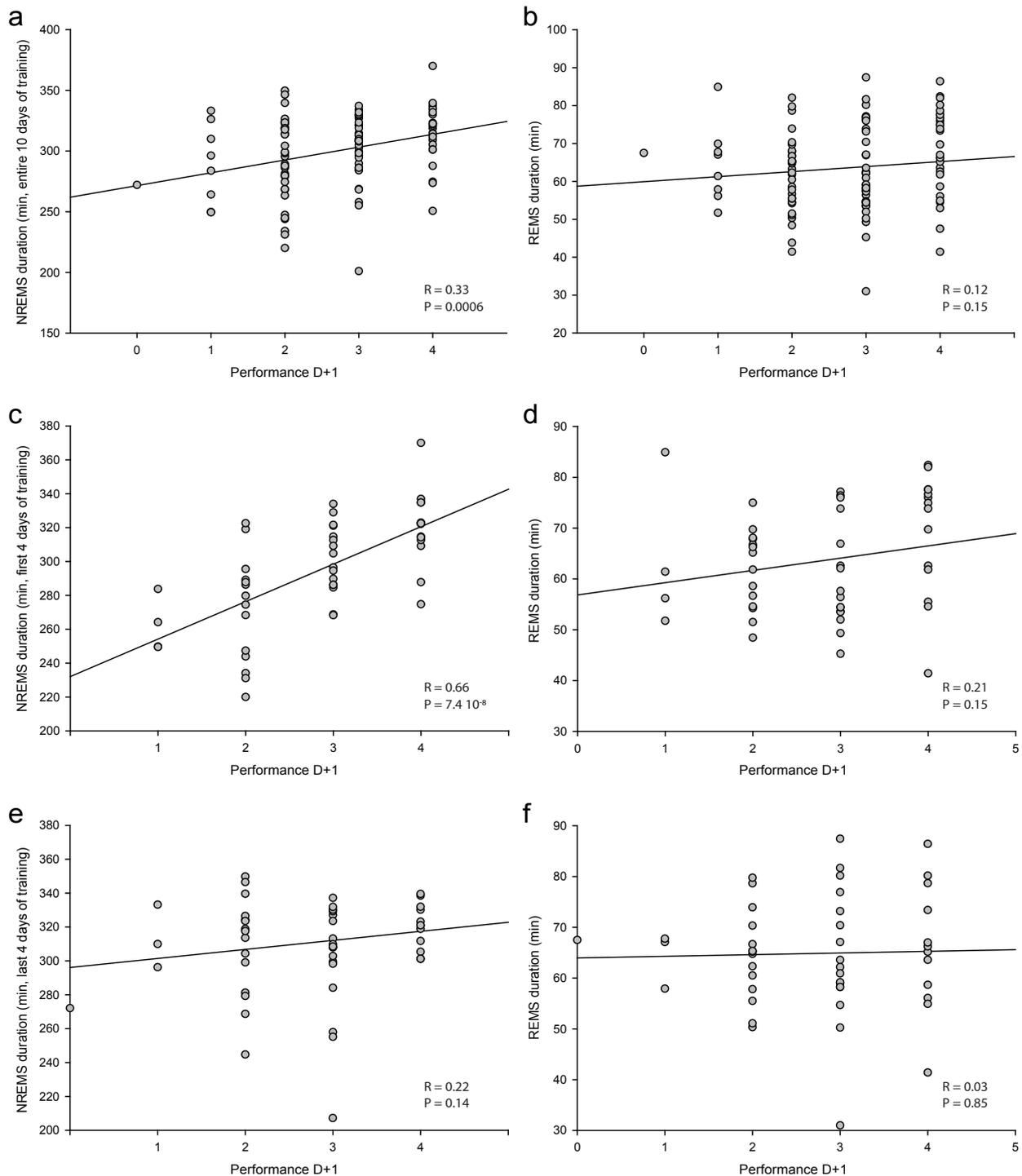
Figure 3e). We have assessed potential correlation existing between sleep parameters and the performance on the day *before* sleep recording (day *n*). Statistical analyses failed to reveal any significant correlation between these factors. The maximum  $r$  calculated was  $0.17$  with a  $P$  value equal to  $0.34$  (NREMS quantity vs performance in HIWM group).

Slow wave activity (SWA) during NREMS has been hypothesized to be linked with synaptic strength increase during previous waking period.<sup>37,38</sup> On the other side, synaptic down-scaling during NREMS is coupled with a decrease in SWA.<sup>37</sup> We then asked if SWA may promote reduction of proactive interference, and found that an increase in delta power (0–5 Hz) on the EEG signal during NREMS could predict an increase in performance of rats in the HIWM task over 2 consecutive days (Figure 4a). In contrast, in the LIWM task such a positive correlation was not observed (see Table 2). Next, given that these spatial tasks implicate the hippocampus,<sup>18,44</sup> we carried out the same analysis on LFP signals and found that a positive correlation exists between the increase in delta power in the CA1 area and the increase in performance of rats trained in the HIWM task suggesting that, during NREMS, local process in the hippocampus could be involved (Figure 4b). As we did for NREMS (see above), to verify the significance of our observed correlations (both with EEG or CA1 traces), we compared them to those obtained when the data were randomized 100 times. Our significant  $r$  values are again out of the 99% CI suggesting that the correlations found between SWA and behavioral performance did not arise by chance only. Moreover, we confirmed with a test for equality of slopes that the correlations between the progression in performance and SWA increase are statistically different between HIWM and LIWM groups ( $F_{1,179} = 18.32$ ;  $P < 0.0001$ ) for EEG and  $F_{1,140} = 10.274$ ;  $P = 0.0017$  for CA1 signal. Strikingly, no such correlation was found for the other groups of rats or for any other frequency band during NREMS (see Figure 4c and 4d and Table 2) or for all frequency band during REMS suggesting that, as predicted, a reduction of proactive interference in a spatial WM task depends on a very specific increase in SWA.

### All Types of Training Increase the Cumulative Time of Sharp Wave Ripples while Reference Memory Training Specifically Increases the Cumulative Number of Spindles

Sleep oscillatory activities have been found relevant for learning and memory processes.<sup>13,15,45,46</sup> During NREMS, sharp waves corresponding to depolarizing events superimposed with fast ripple activity (100–300 Hz) form sharp wave ripples (SW-R) events<sup>47,48</sup> in the CA3 and CA1 regions. Recent studies showed that SW-Rs are critically involved in the replay of hippocampal activity and in the consolidation of hippocampal-dependent memories during sleep, the selective suppression of SW-Rs during sleep periods resulting in a decrease in memory performance.<sup>49,50</sup> We analyzed high frequency events from the CA1 LFP recordings and using a threshold of mean  $\pm 2$  SDs, and found  $2713 \pm 44$  SW-R epochs per 60 min of NREMS recording, lasting  $30.1 \pm 0.7$  ms in average. Although no statistical changes in the number of SW-R epochs (Figure 5b) was observed between groups, a significant cumulative increase in the duration of these epochs was

Correlation between performance and sleep amount for HIWM trained rats



**Figure 3**—Performance of rats trained in the HIWM task is correlated to NREMS amount. Correlation between NREMS or REMS recorded during 12 hours post training (day  $n$ ) and performance of the rats in behavioral testing (HIWM task) on day  $n + 1$ . **a**, A significant correlation (Pearson coefficient tested;  $r = 0.33$ ,  $P = 0.0006$ ) between NREMS duration and performance was seen during the 10 days of training. No such correlation was found with REMS duration (**b**) or in the other groups (Table 1). **c**, A more pronounced and clear significant correlation ( $r = 0.66$ ,  $P < 0.0001$ ) between NREMS duration and performance was seen at the beginning of training (first four days). No such correlation was found during the last four days of training (**e**) or with REMS duration (**d**, **f**).

seen over days in all experimental groups (Figure 5c) as compared to controls. This increase was particularly prominent for HIWM rats ( $P = 0.0311$ ), and more discrete for RM and LIWM

rats, only occurring on the second, third, and eighth days ( $P < 0.05$  vs control). This result suggests that SW-R could be involved indiscriminately in the storage of spatial information.

**Table 2**—An increase in delta power is correlated to an increase in performance over two consecutive days of HIWM training.

		RM		LIWM		HIWM	
		NREMS	REMS	NREMS	REMS	NREMS	REMS
EEG	$\delta$	-0.009 (0.95)	-0.202 (0.12)	-0.090 (0.46)	-0.073 (0.54)	0.454 (0.03)	0.136 (0.25)
	$\theta$	-0.007 (0.96)	-0.105 (0.42)	-0.149 (0.22)	0.102 (0.39)	-0.149 (0.21)	-0.081 (0.50)
	$\sigma$	-0.105 (0.45)	-0.161 (0.22)	0.005 (0.97)	-0.145 (0.22)	-0.141 (0.24)	-0.029 (0.81)
	$\beta$	0.082 (0.55)	0.235 (0.07)	0.100 (0.41)	0.206 (0.08)	-0.169 (0.16)	0.081 (0.50)
	$\gamma$	0.148 (0.28)	-0.132 (0.31)	0.098 (0.42)	0.177 (0.14)	0.008 (0.50)	0.005 (0.93)
CA1 LFP	$\delta$	0.083 (0.56)	0.169 (0.20)	-0.060 (0.61)	-0.217 (0.07)	0.405 (0.01)	-0.015 (0.91)
	$\theta$	0.149 (0.30)	-0.120 (0.37)	0.183 (0.12)	0.145 (0.23)	0.209 (0.10)	0.072 (0.57)
	$\sigma$	0.200 (0.16)	-0.104 (0.43)	0.090 (0.45)	0.074 (0.54)	0.024 (0.85)	0.076 (0.56)
	$\beta$	-0.060 (0.67)	-0.190 (0.15)	0.153 (0.20)	0.162 (0.18)	-0.054 (0.68)	0.123 (0.34)
	$\gamma$	0.214 (0.13)	0.034 (0.80)	0.204 (0.09)	0.052 (0.67)	-0.049 (0.71)	0.104 (0.42)

A positive correlation was found ( $r = 0.454$ ,  $P = 0.027$  and  $r = 0.405$ ,  $P = 0.011$  from EEG and CA1 LFP recordings respectively) between Delta band spectral power increase (calculated as the difference between the relative spectral power on one day [day  $n$ ] and the relative spectral power on the next day [day  $n + 1$ ]) and performance increase (calculated as the difference between the performance of a given day [day  $n$ ] and the performance of the same rat the day after [day  $n + 1$ ]) for rats trained in the HIWM task (see also Figure 4). No such correlation was found with the other frequency bands, in REMS or in the LIWM or RM groups.

NREMS spindle oscillations are other transient events that have been shown to be important for learning and memory processes (for review see<sup>13</sup>). Notably, rats present increases in sleep spindles (10–14 Hz) density after a passive avoidance training<sup>51</sup> or after an odor-reward association learning.<sup>52</sup> Using a threshold of mean  $\pm 2$  SDs for the 10–14 Hz band, we found  $549 \pm 34$  spindle epochs (per 60 min of NREMS recording), lasting  $709 \pm 7$  ms in average for all groups of trained rats. Although no statistical changes in the mean duration of spindle epochs (Figure 6c) was observed between groups, a significant cumulative increase in the number of these epochs was seen over days in the RM group (Figure 6b) as compared to controls ( $P = 0.0239$ ), potentially confirming the role of spindles activity in the long-term consolidation of information.

## DISCUSSION

Many authors have suggested that sleep is beneficial to memory consolidation.<sup>11,46,53,54</sup> Others have hypothesized that sleep may promote forgetting,<sup>14,15,55,56</sup> but it has rarely been shown.<sup>57</sup> This work represents the first comparative study, using a single spatial environment—a radial maze—aimed to assess how different cognitive processes involving the long-term consolidation of information or in the contrary forgetting, can influence sleep patterns in the rat. We found that RM training involving the long-term storage of spatial information lead to a transient increase in REMS the day the animals reach a significant level of performance. In contrast, we found that the reduction of proactive interference in a HIWM task previously shown to depend on hippocampal LTD-dependent forgetting<sup>23</sup> is linked to an increase in NREMS quantity and SWA. These results seem to confirm Giuditta's sequential hypothesis of the function of sleep proposed two decades ago,<sup>38</sup> stating that, after learning, NREMS would consist in the weakening of non-adaptive (useless) memory traces, while REMS would deal with the storage of the remaining memory traces into long-term memory.

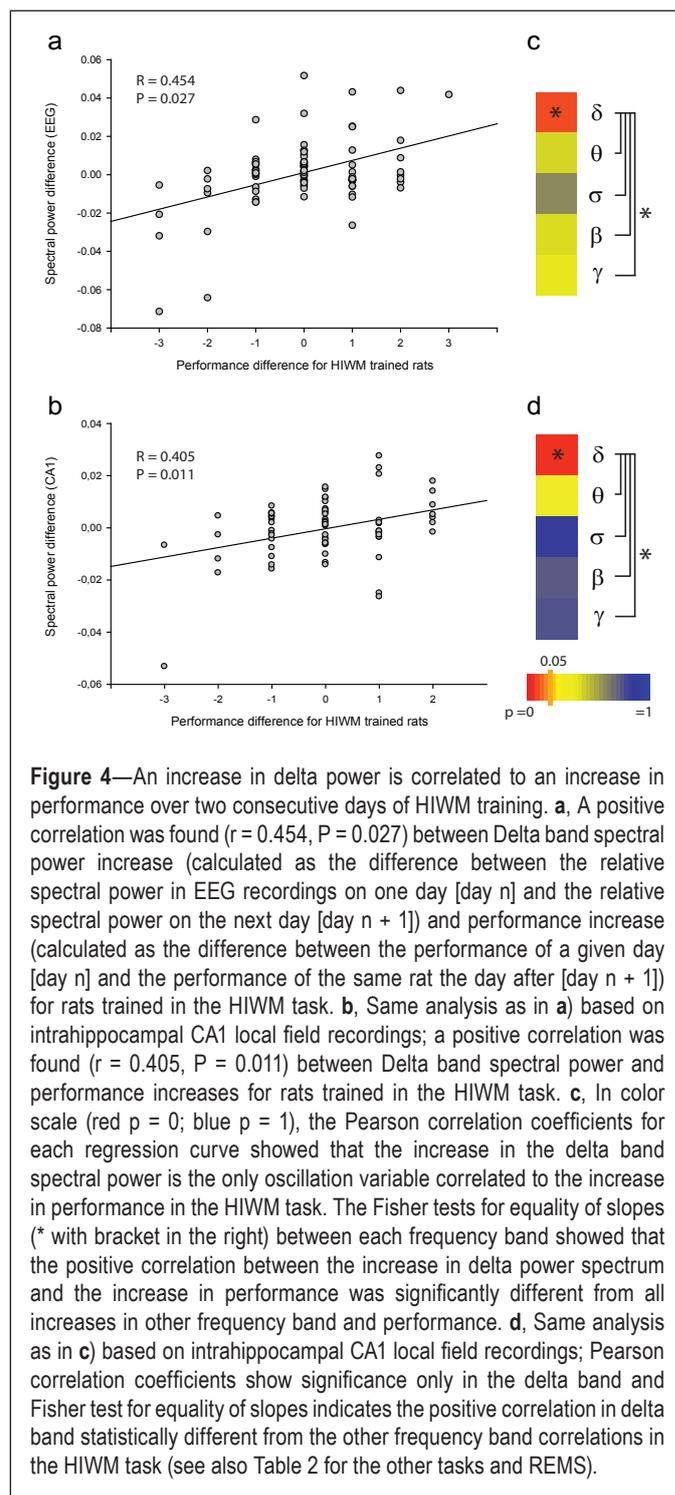
It has long been hypothesized that REMS promotes learning and memory by facilitating consolidation of newly acquired information into long-term storage<sup>58,59</sup> (but see also<sup>60</sup>). Notably a specific increase in IEG expression occurs in REMS specifically in cerebral cortices under the control of the hippocampus. These findings suggest that the consolidation of spatial traces requires a migration during REMS from the engaged hippocampus in waking to the cerebral cortex.<sup>31,32,61</sup> In addition, it has been shown that training in various memory tasks transiently increases REMS amount within a short time window, during which consolidation is sensitive to REMS loss.<sup>62–64</sup> Such transient increase in REMS reported by Hennevin and colleagues<sup>65</sup> was observed before the stabilization of performance, when learning approached asymptote. After that, when the task was mastered, this transient REMS increase dissipated and REMS returned to baseline. Our results confirm such findings as we found that training rats in a RM task transiently increases REMS, possibly when rats trained in this task mastered the RM task rules on day 5. In contrast, no increase in NREMS was found in RM trained rats, nor in REMS or NREMS in rats trained in WM or control tasks, suggesting that REMS may be specifically linked to the consolidation of information into long-term storage, whenever this information is consolidated (the day the animal learn the information to be consolidated; here, on day 5 for most subjects).

Expression of the immediate-early gene *Egr1* (also known as *Zif268/Krox-26*), a marker of synaptic plasticity,<sup>66</sup> was found to be increased in hippocampal and neocortical neurons when exploration of a novel environment or the induction of LTP were followed by REMS (but not NREMS).<sup>31,67</sup> We have recently found that REMS amounts modulate hippocampal *Egr1* expression, LTP and the consolidation of contextual information acquired during fear conditioning.<sup>28,29,33,68</sup> Therefore, it is reasonable to assume that the increase in REMS transiently seen in rats trained in the RM task induces the same changes

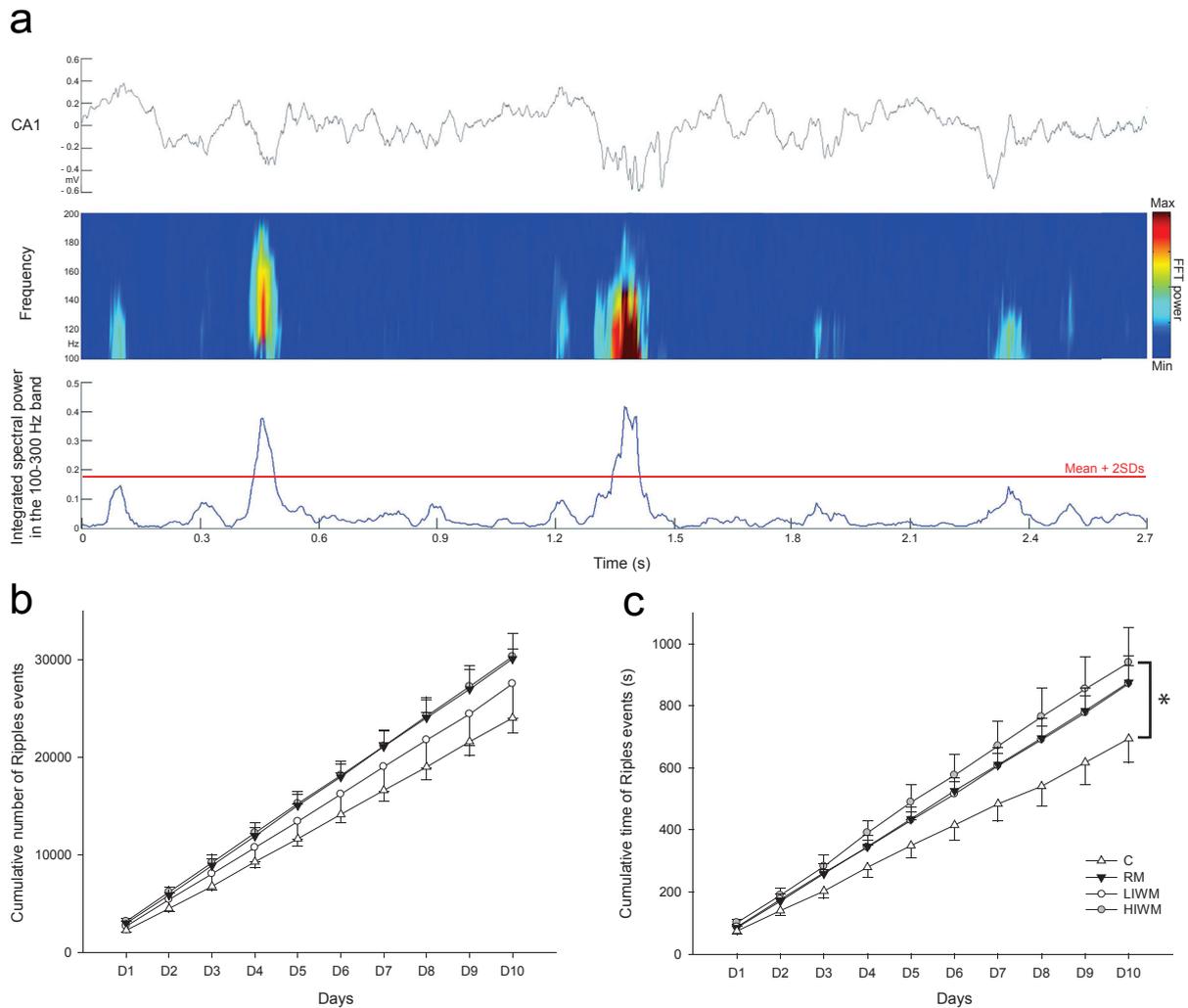
providing a cellular and molecular ground for consolidation of important information required for solving the RM task the day following the increase in REMS. Many studies showed a post-learning REMS increase.<sup>63–65,69</sup> However, in most of these REMS studies the learning is brief and definite (i.e., fear conditioning, inhibitory avoidance) compared to the present RM task. In our case, learning of the RM task is incremental with gradual acquisition of task-related information that may lead to different reorganization of REMS dynamics during the 10 days of training. Recent articles suggest another possible interpretation for REMS increase. REMS and theta oscillations could play an important role in excitability homeostasis in the hippocampus.<sup>70,71</sup> The present data and our result showing a positive correlation between RM performance and the duration of rapid theta may indeed suggest a REMS homeostatic process needed to recalibrate cortical networks after the rule learning. This could limit an overflow of hippocampal networks and reset these networks for another RM task.

In contrast to REMS, NREMS is known to be a non-permissive sleep stage for hippocampal LTP induction,<sup>30</sup> and it has been suggested that NREMS, characterized by low frequency oscillations, facilitates instead the induction of LTD.<sup>39</sup> Cirelli and colleagues have thus shown that sleep is associated with the upregulation of molecules implicated in LTD.<sup>35</sup> Such molecules include protein phosphatases such as calcineurin (PP2B) or PP1 that have been shown to be involved in forgetting<sup>72</sup> and WM.<sup>73</sup> NREMS is also associated with higher levels of insulin, which promotes the internalization of glutamate AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) receptors that is essential for the expression of LTD.<sup>74</sup> In addition, *in vivo* and *in vitro* studies have shown that NREMS could induce LTD in the CA3 and CA1 hippocampal regions<sup>75</sup> by internalization of specific AMPA receptors subtypes.<sup>76</sup> We and others previously showed that inhibiting the protein phosphatase PP2A decreases the internalization of these AMPA receptors and the expression of NMDAR-dependent hippocampal LTD.<sup>26,77</sup> Blocking such LTD results in an increase in behavioral flexibility and WM performance in a T-maze task, suggesting that NMDAR-dependent LTD is required for behavioral flexibility and may act by weakening previously encoded memory traces when new information is learned.<sup>26</sup> On the opposite, we showed that inhibition of protein kinase A (PKA) leads to an increase in hippocampal LTD, cognitive flexibility and WM performance, specifically when repetitive information (proactive interference) are presented as it is the case in a HIWM task.<sup>23</sup> Performance in this task may thus depend on molecular mechanisms of LTD that are modulated by NREMS and SWA. Indeed, we observed a positive correlation between performance in this task and SWA power immediately after training. Given that experiments suggest that an increase in SWA is linked to an increase in synaptic efficacy,<sup>36</sup> we would now have to examine if this task is associated with an immediate increase in synaptic plasticity followed by a homeostatic decrease in synaptic efficacy during NREMS.

This forgetting function of NREMS is of course in stark contrast with the many studies suggesting the consolidation function of NREMS.<sup>58,78,79</sup> Nevertheless, as we have said earlier, post-training sleep reactivation of brain structures engaged in



mnemonic tasks, as well as memory deficits observed after sleep deprivation, can also be seen as the positive evidence of a selective forgetting function of sleep. Forgetting is essential to our daily lives.<sup>22,80–82</sup> By promoting forgetting, NREMS may sort information important to be consolidated from the one to be discarded. This hypothesis is in agreement with recent findings.<sup>57</sup> Rauchs and colleagues have studied the impact of total sleep deprivation on directed forgetting. Directed forgetting is an experimental approach consisting in presenting “to be remembered” and “to be forgotten” information that

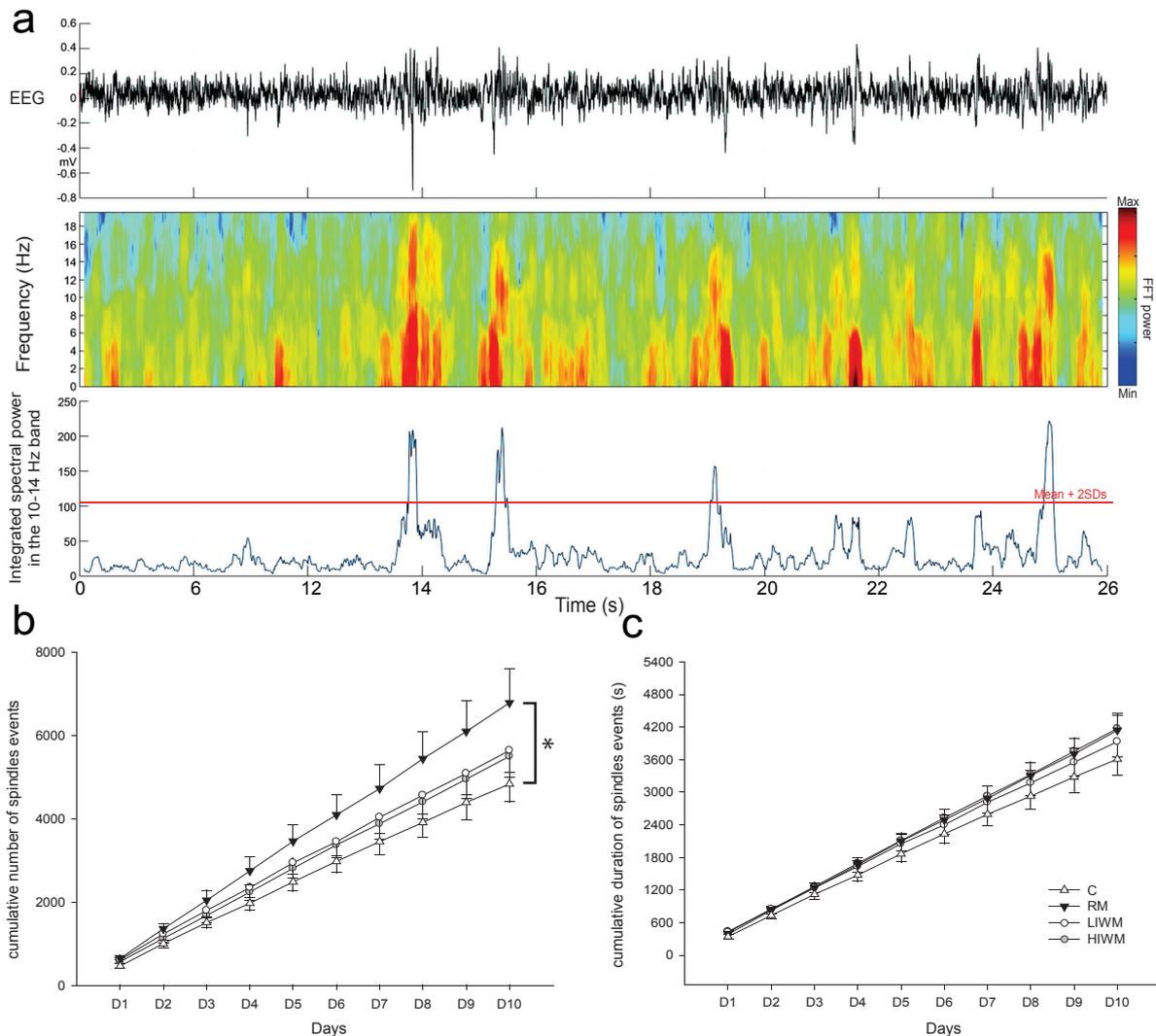


**Figure 5**—Ripples oscillations increases during NREMS in all experimental trained rats and more specifically in HIWM trained animals. **a**, Sample of CA1 recording showing detected sharp wave ripples activity using a threshold of mean  $\pm$  2 SDs (red line) from the filtered (lower; 100–300 Hz) CA1 (upper) trace. **b–c**, Cumulative number of events and duration of the ripples activity in the four groups of animals over 10 days of training. ANOVAs on repeated measures show a significant Group  $\times$  Day interaction effect ( $F_{27,288} = 1.615$ ;  $P = 0.0306$ ), and post hoc analyses indicate a significant difference between control and the HIWM group in the cumulative duration of the ripples episodes ( $P = 0.0311$ ) while no differences between groups were observed in the number of episodes of ripples.

allows to selectively decrease or increase the strength of individual memory traces according to the instruction provided at learning. The authors found that human participants to this study remember more “to be forgotten” items after sleep deprivation than after a normal night of sleep suggesting that sleep promotes the erasure of irrelevant information. Although this work does not conclude on the nature of the sleep phase involved in forgetting, our data suggest that NREMS, and more specifically SWA, might be responsible for such a process.

In 2006, Born and colleagues have shown that transcranial stimulation of endogenous slow oscillation during NREMS in humans not only boosted SWA, but also improved memory performance in a declarative memory test.<sup>83–85</sup> They recently tried to replicate these findings in rodents trained in a radial maze experiment.<sup>86</sup> Surprisingly, the authors found that boosting SWA during NREMS did not improve the rats’ performance in RM, but in WM. In fact, when examining their

data more closely, it becomes clear that boosting SWA reduced the increase of WM errors (possibly due to interference) that was observed in their control group during the first four days of training. Like rats trained in our HIWM task, this control group’s WM performance deteriorated over days. Rats trained in delayed non-match to place tasks displayed a high percentage of correct responses from the first blocks of training. This immediate learning of the delayed-non-match rule is certainly due to innate spontaneous alternation, a behavior that naturally causes rodents to choose a different option (visit arm #2) than one previously adopted (visit arm #1) and in consequence to alternate exploration between two open arms.<sup>87</sup> This tendency to spontaneously alternate between radial maze arms facilitates correct non-match responses. Nevertheless, spontaneous alternation requires memory storage of the previously visited arm in order to alternate to a different arm, and has long been shown to be dependent on the hippocampal formation



**Figure 6**—Spindle oscillations increase during NREMS in RM trained rats. **a**, Sample of EEG recording during detected transient spindle activities using a threshold of mean + 2 SDs (red line) from the filtered (lower; 10–14 Hz) EEG (upper) trace. **b–c**, Cumulative number of events and duration of spindle oscillations in the four groups of animals over the 10 days of training. Repeated measures ANOVAs shows a significant Group  $\times$  Day interaction effect ( $F_{27,288} = 1.846$ ;  $P = 0.0079$ ), and post hoc analyses indicate a significant difference between RM and Control groups ( $P = 0.0239$ ) in the number of spindles while no differences between groups were observed in the duration of the episodes.

functional integrity.<sup>88</sup> Most interestingly, while LIWM rats kept high scores throughout the entire experiment, HIWM rats showed a decrease in their performance over the course of training. This decrease is attributed to the high level of interference and repetition present in the HIWM task. This modification in WM performance due to the ever-increasing buildup of proactive interference has already been observed in previous studies using similar radial maze paradigms.<sup>23,89,90</sup> This result highlights an often overlooked issue concerning WM; more precisely, that information supposedly stored temporarily in WM can have an impact on the long term when it becomes an interference for subsequent WM information. This can be seen with the decrease in performance over days (not seconds or minutes) in our HIWM group (and as compared to the LIWM group—see Figure 1) or in the control group of Born and colleagues.<sup>86</sup> Information supposedly stored in short-term/WM thus outlast their purpose by interfering, days later, with the

storage of newer information. This deleterious impact of previously stored information on WM would, however, be blocked by boosting SWA,<sup>85,86</sup> a result in agreement with our present data and the hypothesis that SWA could indeed be required for the processing of interference in WM.

SWA is a cardinal feature of NREMS. However, other higher frequency oscillations characterize NREMS. For instance, NREMS-dependent hippocampal reactivation is suggested to occur mainly during bursts of activity known as sharp-wave ripple events (SW-Rs).<sup>1,45,48,91,92</sup> Girardeau and colleagues found that a selective elimination of SW-Rs during post-training NREMS resulted in performance impairment in rats trained in a radial maze on a RM task similar to ours.<sup>50</sup> These results thus suggest that NREMS, with its SW-Rs, may also facilitate memory consolidation through a different mechanism than SWA. High-frequency oscillations during NREMS may thus facilitate LTP and, by so, the storage of spatial information<sup>93</sup>

regardless of the training involved to learn this information, as we found here that both RM and WM training increased SW-Rs duration as compared to control levels. The common feature of our three tasks is that they all require the formation and the use of a spatial map of the behavioral room whereas the control group does not need such spatial map to obtain food rewards. That is why our results suggest a specific role of SW-Rs in spatial memory formation (Figure 5).

SW-Rs are often associated to NREMS spindles that have been shown to play a key role in learning<sup>94</sup> and in the reactivation of memory during sleep. Notably in humans, reactivations thus occur not only in temporal synchrony with spindles (12–14 Hz) but are also modulated by the amplitude of spindle events.<sup>95</sup> Spindles have also been hypothesized to promote the hippocampo-neocortical transfer of new memory traces acquired during prior waking for long-term storage.<sup>96</sup> Arc gene expression in the cortex was thus found proportional to LFP amplitude in the spindle-range in rats four hours after being exposed to a novel spatio-tactile experience<sup>32</sup> and the hippocampal levels of activated (phosphorylated) form of  $\alpha$ CaMKII during REMS were proportional to cortical spindles near NREMS/REMS transitions.<sup>97</sup> It is therefore not surprising that the increase in spindle activity seen in our experiments was specifically observed during RM training, a task requiring the long-term storage of information. We can thus hypothesize that spindle oscillations could be involved in the hippocampo-neocortical transfer of invariable information useful for RM training.<sup>13</sup> In line with the standard system consolidation hypothesis,<sup>98,99</sup> Born and colleagues<sup>100</sup> suggested that the hippocampus—a fast learner—stores memories for a short time before they are transferred to the cerebral cortex—a slow learner—for long-term storage. The activation of hippocampal circuits during SW-Rs, followed by spindles and slow waves in the cortex, would be responsible for such “system consolidation.”<sup>100</sup> We showed here that all types of training resulted in a cumulative increase in SW-Rs duration, but also that only rats trained in RM displayed an increased level of spindle activity. We can thus hypothesize that during NREMS, information that were previously stored in WM are processed within the hippocampus (SW-Rs) but are not transferred to the neocortex, unlike information stored in RM that would benefit from a shared SW-Rs-spindles activity. Although such hypothesis now needs to be tested, altogether our results strongly suggest that it is probably cerebral oscillations (high versus low frequency, global versus local) more than sleep phases (NREMS versus REMS) that control the consolidation or the forgetting of information.

## REFERENCES

1. Wilson MA, McNaughton BL. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 1994;265:676–9.
2. Pavlides C, Winson J. Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 1989;9:2907–18.
3. Oudiette D, Antony JW, Creery JD, Paller KA. The role of memory reactivation during wakefulness and sleep in determining which memories endure. *J Neurosci* 2013;33:6672–8.
4. Bendor D, Wilson MA. Biasing the content of hippocampal replay during sleep. *Nat Neurosci* 2012;15:1439–44.
5. Diekelmann S, Buchel C, Born J, Rasch B. Labile or stable: opposing consequences for memory when reactivated during waking and sleep. *Nat Neurosci* 2011;14:381–6.
6. Guan Z, Peng X, Fang J. Sleep deprivation impairs spatial memory and decreases extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in the hippocampus. *Brain Res* 2004;1018:38–47.
7. Graves LA, Heller EA, Pack AI, Abel T. Sleep deprivation selectively impairs memory consolidation for contextual fear conditioning. *Learn Mem* 2003;10:168–76.
8. Inostroza M, Binder S, Born J. Sleep-dependency of episodic-like memory consolidation in rats. *Behav Res* 2013;237:15–22.
9. Albouy G, Vandewalle G, Sterpenich V, et al. Sleep stabilizes visuomotor adaptation memory: a functional magnetic resonance imaging study. *J Sleep Res* 2013;22:144–54.
10. Leconte P, Bloch V. [Deficiency in retention of conditioning after deprivation of paradoxical sleep in rats]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences. Serie D: Sciences naturelles* 1970;271:226–9.
11. Albouy G, King BR, Maquet P, Doyon J. Hippocampus and striatum: Dynamics and interaction during acquisition and sleep-related motor sequence memory consolidation. *Hippocampus* 2013;23:985–1004.
12. Peigneux P, Laureys S, Fuchs S, et al. Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? *Neuron* 2004;44:535–45.
13. Rasch B, Born J. About sleep's role in memory. *Physiol Rev* 2013;93:681–766.
14. Crick F, Mitchison G. The function of dream sleep. *Nature* 1983;304:111–4.
15. Tononi G, Cirelli C. Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron* 2014;81:12–34.
16. Wixted JT. The psychology and neuroscience of forgetting. *Ann Rev Psychol* 2004;55:235–69.
17. Walker MP. Sleep, memory and emotion. *Progr Brain Res* 2010;185:49–68.
18. Olton DS, Papas BC. Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia* 1979;17:669–82.
19. Baddeley A. The concept of working memory: a view of its current state and probable future development. *Cognition* 1981;10:17–23.
20. D'Esposito M. From cognitive to neural models of working memory. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biol Sci* 2007;362:761–72.
21. Postle BR. Working memory as an emergent property of the mind and brain. *Neuroscience* 2006;139:23–38.
22. Dudchenko PA. An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 2004;28:699–709.
23. Malleret G, Alarcon JM, Martel G, et al. Bidirectional regulation of hippocampal long-term synaptic plasticity and its influence on opposing forms of memory. *J Neurosci* 2010;30:3813–25.
24. Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982;297:681–3.
25. Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 2001;294:1030–8.
26. Nicholls RE, Alarcon JM, Malleret G, et al. Transgenic mice lacking NMDAR-dependent LTD exhibit deficits in behavioral flexibility. *Neuron* 2008;58:104–17.
27. Benington JH, Frank MG. Cellular and molecular connections between sleep and synaptic plasticity. *Progr Neurobiol* 2003;69:71–101.
28. Ravassard P, Pachoud B, Comte JC, et al. Paradoxical (REM) sleep deprivation causes a large and rapidly reversible decrease in long-term potentiation, synaptic transmission, glutamate receptor protein levels, and ERK/MAPK activation in the dorsal hippocampus. *Sleep* 2009;32:227–40.
29. Ravassard P, Hamieh AM, Joseph MA, et al. REM sleep-dependent bidirectional regulation of hippocampal-based emotional memory and LTP. *Cereb Cortex* 2016;26:1488–500.

30. Bramham CR, Srebro B. Synaptic plasticity in the hippocampus is modulated by behavioral state. *Brain Res* 1989;493:74–86.
31. Ribeiro S, Mello CV, Velho T, Gardner TJ, Jarvis ED, Pavlides C. Induction of hippocampal long-term potentiation during waking leads to increased extrahippocampal zif-268 expression during ensuing rapid-eye-movement sleep. *J Neurosci* 2002;22:10914–23.
32. Ribeiro S, Shi X, Engelhard M, et al. Novel experience induces persistent sleep-dependent plasticity in the cortex but not in the hippocampus. *Front Neurosci* 2007;1:43–55.
33. Ravassard P, Hamieh AM, Malleret G, Salin PA. Paradoxical sleep: A vigilance state to gate long-term brain plasticity? *Neurobiol Learn Mem* 2015 Jul;122:4–10.
34. Dudek SM, Bear MF. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:4363–7.
35. Cirelli C, Gutierrez CM, Tononi G. Extensive and divergent effects of sleep and wakefulness on brain gene expression. *Neuron* 2004;41:35–43.
36. Vyazovskiy VV, Cirelli C, Pfister-Genskow M, Faraguna U, Tononi G. Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nat Neurosci* 2008;11:200–8.
37. Tononi G, Cirelli C. Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Med Rev* 2006;10:49–62.
38. Giuditta A, Ambrosini MV, Montagnese P, et al. The sequential hypothesis of the function of sleep. *Behav Brain Res* 1995;69:157–66.
39. Muzur A. Toward an integrative theory of sleep and dreaming. *J Theor Biol* 2005;233:103–18.
40. Poirier GL, Amin E, Aggleton JP. Qualitatively different hippocampal subfield engagement emerges with mastery of a spatial memory task by rats. *J Neurosci* 2008;28:1034–45.
41. Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R. Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 1999;400:671–5.
42. Parmentier R, Ohtsu H, Djebbara-Hannas Z, Valatx JL, Watanabe T, Lin JS. Anatomical, physiological, and pharmacological characteristics of histidine decarboxylase knock-out mice: evidence for the role of brain histamine in behavioral and sleep-wake control. *J Neurosci* 2002;22:7695–711.
43. Mitra P, Bokil H. Observed brain dynamics. Oxford University Press, USA, 2008.
44. Dolan RJ, Fletcher PC. Dissociating prefrontal and hippocampal function in episodic memory encoding. *Nature* 1997;388:582–5.
45. Buzsaki G. Memory consolidation during sleep: a neurophysiological perspective. *J Sleep Res* 1998;7 Suppl 1:17–23.
46. Diekelmann S, Born J. The memory function of sleep. *Nature reviews. Neuroscience* 2010;11:114–26.
47. Ylinen A, Bragin A, Nadasdy Z, et al. Sharp wave-associated high-frequency oscillation (200 Hz) in the intact hippocampus: network and intracellular mechanisms. *J Neurosci* 1995;15:30–46.
48. Buzsaki G. Hippocampal sharp waves: their origin and significance. *Brain Res* 1986;398:242–52.
49. Ego-Stengel V, Wilson MA. Disruption of ripple-associated hippocampal activity during rest impairs spatial learning in the rat. *Hippocampus* 2010;20:1–10.
50. Girardeau G, Benchenane K, Wiener SI, Buzsaki G, Zugaro MB. Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat Neurosci* 2009;12:1222–3.
51. Fogel SM, Smith CT, Beninger RJ. Evidence for 2-stage models of sleep and memory: learning-dependent changes in spindles and theta in rats. *Brain Res Bull* 2009;79:445–51.
52. Eschenko O, Molle M, Born J, Sara SJ. Elevated sleep spindle density after learning or after retrieval in rats. *J Neurosci* 2006;26:12914–20.
53. Binder S, Baier PC, Molle M, Inostroza M, Born J, Marshall L. Sleep enhances memory consolidation in the hippocampus-dependent object-place recognition task in rats. *Neurobiol Learn Mem* 2012;97:213–9.
54. Peigneux P, Schmitz R, Urbain C. Sleep and forgetting. In: Della Sala S, ed. *Forgetting*. Hove, UK: Psychology Press, 2010:165–84.
55. Welberg L. Learning and memory: to sleep, perchance to forget. *Nat Rev Neurosci* 2013;14:737.
56. Hardt O, Nader K, Nadel L. Decay happens: the role of active forgetting in memory. *Trends Cogn Sci* 2013;17:111–20.
57. Rauchs G, Feyers D, Landeau B, et al. Sleep contributes to the strengthening of some memories over others, depending on hippocampal activity at learning. *J Neurosci* 2011;31:2563–8.
58. Maquet P. The role of sleep in learning and memory. *Science* 2001;294:1048–52.
59. Hobson JA, Pace-Schott EF. The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning. *Nature reviews. Neuroscience* 2002;3:679–93.
60. Siegel JM. The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science* 2001;294:1058–63.
61. Dumoulin Bridi MC, Aton SJ, Seibt J, Renouard L, Coleman T, Frank MG. Rapid eye movement sleep promotes cortical plasticity in the developing brain. *Sci Adv* 2015;1:e1500105.
62. Smith C, Rose GM. Evidence for a paradoxical sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiol Behav* 1996;59:93–7.
63. Smith C, Lapp L. Prolonged increases in both PS and number of REMS following a shuttle avoidance task. *Physiol Behav* 1986;36:1053–7.
64. Datta S, Mavanji V, Ulloor J, Patterson EH. Activation of phasic pontine-wave generator prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced learning impairment in the rat: a mechanism for sleep-dependent plasticity. *J Neurosci* 2004;24:1416–27.
65. Hennevin E, Hars B, Maho C, Bloch V. Processing of learned information in paradoxical sleep: relevance for memory. *Behav Brain Res* 1995;69:125–35.
66. Bozon B, Davis S, Laroche S. Regulated transcription of the immediate-early gene Zif268: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* 2002;12:570–7.
67. Ribeiro S, Goyal V, Mello CV, Pavlides C. Brain gene expression during REM sleep depends on prior waking experience. *Learn Mem* 1999;6:500–8.
68. McDermott CM, LaHoste GJ, Chen C, Musto A, Bazan NG, Magee JC. Sleep deprivation causes behavioral, synaptic, and membrane excitability alterations in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2003;23:9687–95.
69. Ravassard P, Hamieh AM, Joseph MA, et al. REM Sleep-Dependent Bidirectional Regulation of Hippocampal-Based Emotional Memory and LTP. *Cereb Cortex* 2016;26:1488–500.
70. Grosmark AD, Mizuseki K, Pastalkova E, Diba K, Buzsaki G. REM sleep reorganizes hippocampal excitability. *Neuron* 2012;75:1001–7.
71. Miyawaki H, Diba K. Regulation of hippocampal firing by network oscillations during sleep. *Curr Biol* 2016;26:893–902.
72. Mansuy IM. Calcineurin in memory and bidirectional plasticity. *Biochem Biophys Res Comm* 2003;311:1195–208.
73. Zeng H, Chattarji S, Barbarosie M, et al. Forebrain-specific calcineurin knockout selectively impairs bidirectional synaptic plasticity and working/episodic-like memory. *Cell* 2001;107:617–29.
74. Man HY, Lin JW, Ju WH, et al. Regulation of AMPA receptor-mediated synaptic transmission by clathrin-dependent receptor internalization. *Neuron* 2000;25:649–62.
75. Lubenov EV, Siapas AG. Decoupling through synchrony in neuronal circuits with propagation delays. *Neuron* 2008;58:118–31.
76. Lante F, Toledo-Salas JC, Ondrejcek T, Rowan MJ, Ulrich D. Removal of synaptic Ca(2+)-permeable AMPA receptors during sleep. *J Neurosci* 2011;31:3953–61.
77. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 2004;44:5–21.
78. Peigneux P, Laureys S, Delbeuck X, Maquet P. Sleeping brain, learning brain. The role of sleep for memory systems. *Neuroreport* 2001;12:A111–24.

79. Wilson MA. Hippocampal memory formation, plasticity, and the role of sleep. *Neurobiology of learning and memory* 2002;78:565–9.
80. Kraemer PJ, Golding JM. Adaptive forgetting in animals. *Psychon B Rev* 1997;4:480–91.
81. Levy BJ, Kuhl BA, Wagner AD. The functional neuroimaging of forgetting. In: Della Sala S, ed. *Forgetting*. New York, NY: Psychology Press, 2010:135–63.
82. Wimber M, Alink A, Charest I, Kriegeskorte N, Anderson MC. Retrieval induces adaptive forgetting of competing memories via cortical pattern suppression. *Nature neuroscience* 2015;18:582–9.
83. Marshall L, Helgadottir H, Molle M, Born J. Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* 2006;444:610–3.
84. Molle M, Yeshenko O, Marshall L, Sara SJ, Born J. Hippocampal sharp wave-ripples linked to slow oscillations in rat slow-wave sleep. *J Neurophysiol* 2006;96:62–70.
85. Antonenko D, Diekelmann S, Olsen C, Born J, Molle M. Napping to renew learning capacity: enhanced encoding after stimulation of sleep slow oscillations. *Eur J Neurosci* 2013;37:1142–51.
86. Binder S, Rawohl J, Born J, Marshall L. Transcranial slow oscillation stimulation during NREM sleep enhances acquisition of the radial maze task and modulates cortical network activity in rats. *Front Behav Neurosci* 2014;7:220.
87. Whishaw IQ. A comparison of rats and mice in a swimming pool place task and matching to place task: some surprising differences. *Physiol Behav* 1995;58:687–93.
88. Ellen P, Deloache J. Hippocampal lesions and spontaneous alternation behavior in rat. *Physiol Behav* 1968;3:857.
89. Saxe MD, Malleret G, Vronskaya S, et al. Paradoxical influence of hippocampal neurogenesis on working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:4642–6.
90. Roberts WA, Dale RHI. Remembrance of places lasts: Proactive inhibition and patterns of choice in rat spatial memory. *Learn Motiv* 1981;12:261–81.
91. Kudrimoti HS, Barnes CA, McNaughton BL. Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics. *J Neurosci* 1999;19:4090–101.
92. King C, Henze DA, Leinekugel X, Buzsaki G. Hebbian modification of a hippocampal population pattern in the rat. *J Physiol* 1999;521 Pt 1:159–67.
93. Born J. Slow-wave sleep and the consolidation of long-term memory. *World J Biol Psychiatry* 2010;11 Suppl 1:16–21.
94. Molle M, Eschenko O, Gais S, Sara SJ, Born J. The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *Eur J Neurosci* 2009;29:1071–81.
95. Bergmann TO, Molle M, Diedrichs J, Born J, Siebner HR. Sleep spindle-related reactivation of category-specific cortical regions after learning face-scene associations. *NeuroImage* 2012;59:2733–42.
96. Tamminen J, Payne JD, Stickgold R, Wamsley EJ, Gaskell MG. Sleep spindle activity is associated with the integration of new memories and existing knowledge. *J Neurosci* 2010;30:14356–60.
97. Blanco W, Pereira CM, Cota VR, et al. Synaptic homeostasis and restructuring across the sleep-wake cycle. *PLoS Comput Biol* 2015;11:e1004241.
98. McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. 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* 1995;102:419–57.
99. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 2004;82:171–7.
100. Born J, Rasch B, Gais S. Sleep to remember. *Neuroscientist* 2006;12:410–24.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Fernand Malleret for his design and realization of the radial maze apparatus.

## SUBMISSION & CORRESPONDENCE INFORMATION

Submitted for publication August, 2015

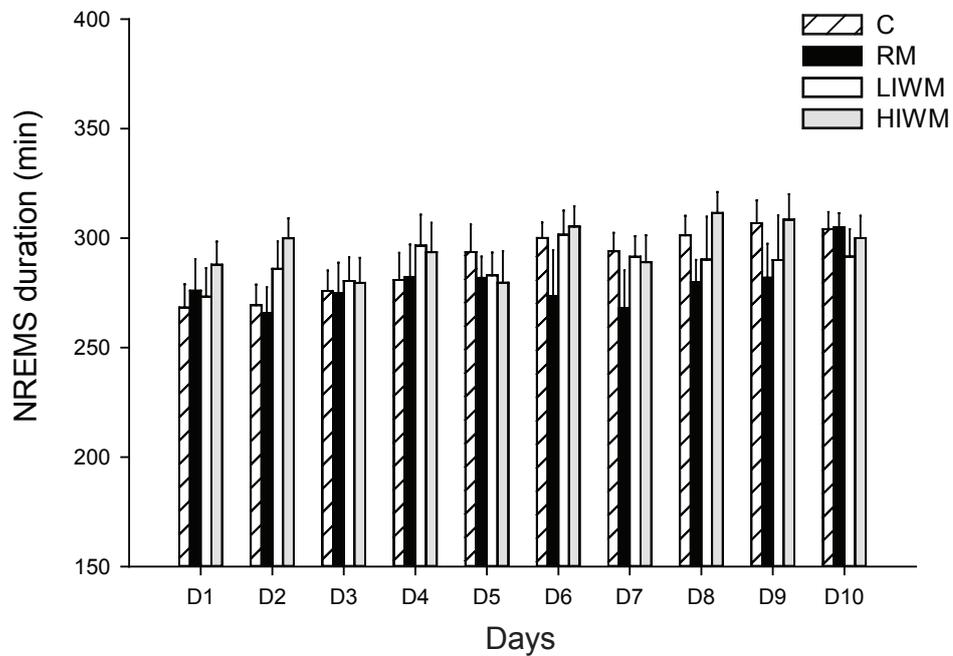
Submitted in final revised form July, 2016

Accepted for publication August, 2016

Address correspondence to: Gaël Malleret or Régis Parmentier, Lyon Neuroscience Research Center, Forgetting and Cortical Dynamics, CNRS UMR5292, INSERM U1028, Lyon, 69008, France; University Lyon 1, Lyon, France; Email: regis.parmentier@univ-lyon1.fr or gaelmalleret@gmail.com

## DISCLOSURE STATEMENT

This was not an industry supported study. This research was supported by grants from CNRS (ATIP program), Fondation pour la recherche sur le cerveau (FRC), and Région Rhône-Alpes (CIBLE program). NF and MAJ were also supported by Région Rhône-Alpes (ARC2 doctoral fellowship) and Fondation pour la Recherche Médicale (FRM). The authors have indicated no financial conflicts of interest.



**Figure S1**—Quantitative variations of NREMS in all behavioral tasks. RM (n = 12, dark bars), LIWM (n = 12, white bars), HIWM (n = 13, light gray bars) and control (n = 14, hatched bars) rats. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM (min) over the 10 days of training.

# Deuxième étude

Dans cette deuxième étude, nous avons choisi de présenter nos résultats sous la forme d'un article à soumettre. Cependant, certains groupes expérimentaux ont été élargis et de nouvelles données et analyses seront ajoutées avant soumission. Les résultats présentés ici sont donc susceptibles de modifications importantes d'ici à leur publication.

## **Opposed modulations of synaptic transmission between structures of the limbic system during the wake-sleep cycle in the rat - impact of local field potential oscillations.**

**Abbreviated title:** Sleep, oscillations and limbic synaptic transmission

Julien Carponcy<sup>1</sup>, Nicolas Fraize<sup>1</sup>, Paul-Antoine Libourel<sup>2</sup>, Gaël Malleret<sup>1</sup>, Paul-Antoine Salin<sup>1\*</sup> and Régis Parmentier<sup>1</sup>

### **Affiliations:**

<sup>1</sup> Lyon Neuroscience Research Center, Forgetting and Cortical Dynamics, CNRS UMR5292, INSERM U1028, Lyon, 69008, France; University Lyon 1, Lyon, France

<sup>2</sup>Lyon Neuroscience Research Center, Pathophysiology of the neural networks of the sleep/wake cycle, CNRS UMR5292, INSERM U1028, Lyon, France; University Lyon 1, Lyon, 69008, France

\* Corresponding authors. Email: regis.parmentier@univ-lyon1.fr and paul.salin@sommeil.univ-lyon1.fr

### **Financial support and conflicts of interest:**

This research was supported by grants from CNRS (ATIP program, PEPS FaSciDo 2015). JC was supported by SFRMS (French Society of Research in Sleep Medicine – “The Sleep Congress” grant). NF was also supported by Région Rhône-Alpes (ARC2 doctoral fellowship). The authors declare no financial conflicts of interests.

## *Introduction*

It is now well established that sleep favors memory processes (for review, see Rasch and Born 2013). For decades, neuroscientists have formulated different theories that may account for the role of sleep in memory (Hasselmo, 1999; Diekelmann and Born, 2010; Tononi and Cirelli, 2014). It has been hypothesized that cortical and sub-cortical oscillations during sleep could temporally link neurons into assemblies and facilitate synaptic plasticity that cooperatively supports temporal representation and long-term consolidation of information (Buzsaki and Draguhn, 2004). Early studies have shown a sleep modulation of spontaneous activity, in particular in brain structures involved in learning and memory including the hippocampus (HPC - Noda *et al.*, 1969). Two major different patterns of spontaneous oscillations are usually observed in mammals defining two sleep states. Slow-wave sleep (SWS) is thus characterized by a predominance of high amplitude low frequency oscillations on electroencephalographic (EEG) recordings. In contrast, Rapid Eye-Movement (REM) sleep is a deep sleep state characterized by low-voltage waves of higher frequency, and in that respect strangely similar to waking (hence its other name “paradoxical sleep”), but with an absence of muscle tone (Jouvet, 1965). To study neuronal communication between brain areas during these sleep states, synaptic transmission evoked by electrical pre-synaptic stimulations was assessed in the cerebellum (Allison *et al.*, 1968a), in the somatosensory cortex (Allison and Goff, 1968b), and in the visual system (Malcolm *et al.*, 1970) among others. However, it is with the discovery of long term potentiation (LTP) by Bliss and Lomo (1973) that the study of the modulation of synaptic transmission has gained a tremendous interest, especially in the HPC. This form of plasticity is widely considered as a cellular substrate of learning and memory (Whitlock *et al.*, 2006), and we now know that sleep can affect LTP in a bidirectional manner (Kopp *et al.*, 2006; Ravassard *et al.*, 2015). Yet, until the

work of J. Winson and C. Abzug, in 1977, there was no evidence of synaptic modulation during sleep in the HPC. These authors studied evoked synaptic potentials (ESP), and evoked action potentials (EAP – also termed population-spike) after electrical stimulations of the perforant path. They have shown that EAP in the dentate gyrus (DG) of the HPC was higher during SWS and REM sleep than during wakefulness (WK). However, these authors observed that the poly-synaptic EAP recorded in CA1 - at the end of the hippocampal tri-synaptic circuit - was reduced during REM sleep and WK but increased during SWS. Winson and Abzug concluded that the different modulation of EAP in the DG as compared to CA1 may result from a sleep-dependent modulation of synaptic inhibition, probably at the CA3 or CA1 level. Leung (1980) later showed a decreased transmission at the Schaffer Collaterals (SC) to CA1 pathway during REM sleep compared to SWS, confirming a direct impact of sleep on synaptic transmission in the HPC. Together, these findings were thus the first to demonstrate a differential and specific gating in the tri-synaptic pathway of the HPC during sleep. These two studies also suggested that if sleep exerts distinct processes on memory during the sleep-wake cycle, a different gating of information between brain structures might be necessary to sustain these different processes.

The HPC is closely interconnected with afferent and efferent structures and projects, via the ventral subiculum and the fornix (Fx), on other limbic areas such as the medial prefrontal cortex (mPFC) and the nucleus accumbens (NAc - Amaral *et al.*, 1991; Mulder *et al.*, 1997, Sesack and Grace, 2010). On one hand, the connection between the HPC and the NAC, has been implicated in a broad variety of functions such as spatial learning, contextual fear conditioning and novelty detection (Westbrook *et al.*, 1997; Sargolini *et al.*, 1999; Levita *et al.*, 2002; Lisman and Grace, 2005; Pohlack *et al.*, 2012; Rodriguez-Romaguera *et al.*, 2012). On the other hand, the connection between the HPC and the mPFC is thought to be also essential for learning and sleep-dependent memory consolidation (Benchenane *et al.*, 2010;

Diekelmann and Born, 2010). However, the dynamic of synaptic transmission between these limbic structures during the sleep-wake cycle is currently unknown.

It has been proposed that synaptic transmission can be modulated by sleep oscillation in particular during SWS (for review see Tononi and Cirelli, 2014). Amplitude of callosal cortico-cortical ESP in the frontal cortex has thus been shown to be positively correlated with the amplitude of slow oscillations during SWS (Vyazoswkiy *et al.*, 2008). However, the impact of brain oscillations on synaptic transmission in limbic structures such as the HPC has only been studied in anesthetized animals (Schall *et al.*, 2008; Schall and Dickson, 2010) and in experiments using averaged potentials or macroscopic EEG recordings (Segal, 1978; Leung, 1980). The link between synaptic transmission in limbic structures and sleep oscillations is thus far from being understood. In order to better understand this link, we decided to record evoked and spontaneous local field potentials (LFP) in three limbic areas, the HPC, the NAc and the mPFC, during the sleep-wake cycle. We assessed the modulation of synaptic transmission at the synapse linking the Schaffer collaterals to CA1 (SC-CA1) in the dorsal HPC in comparison with the synapses linking the HPC to the NAc and to the mPFC. As the efferent fibers from the ventral subiculum to the NAc and the mPFC are both located in the fornix bundle, synaptic transmission can be recorded between the HPC and the two other structures by a unique stimulating electrode placed in the Fx. Using such method, a mono-synaptic (P10) and a poly-synaptic (P25) excitatory component have been identified in both the Fx-NAc and the Fx-mPFC pathways using LFP and spike recordings in anesthetized rats (Mulder *et al.*, 1997). We hypothesized that the SC-CA1, the Fx-NAc and the Fx-mPFC pathways might be differentially modulated by SWS and/or REM sleep, but also by their specific oscillations.

## *Materials and Methods*

### *Animals and general procedure*

For this study, we used data collected from 13 Dark Agouti male rats (Janvier Labs) aged of 10-15 weeks and weighing between 200-250 grams. After surgery, they were kept in individual cages in a 12/12h (9am-9pm) light/dark cycle with *ad libitum* access to food and water. One week after surgery, the rats were introduced in their recording chamber and plugged for recording. The recording chamber consisted of a 60x60x60cm faradized box with removable container for the litter, so that the rats could be changed daily at 10am without being unplugged. While in the recording chambers, the animals were exposed to a white noise (70dB) and were also provided with food and water *ad libitum*. Once the responses were stabilized, and after at least two days of habituation, baseline recordings took place during at least 24 hours. The rats then remained eventually in the recording chambers for other subsequent protocols. The animal care and treatment procedures were in accordance with the regulations of the local (Lyon 1 University CE2A-UCBL 55) and European (2010/63/EU) ethics committee for the use of experimental animals. Every effort was made to minimize the number of animals used or any pain and discomfort occurred during surgical or behavioral procedures.

### *Surgery*

Rats were first anesthetized in an induction chamber under isoflurane (3-4%) then placed in a stereotaxic frame where anesthesia was maintained by a 1-2% isoflurane gas mix enriched in oxygen. After incision of the scalp, craniotomies were performed at the position of the electrodes and reference screws. Reference screws were fixed above the cerebellum. All the electrodes were implanted in the right side of the brain. The CA1 electrode was first lowered (A:-4mm, L:+2mm, stereotaxic coordinates are given in millimeters relative to bregma, in the

Antero-Posterior (AP), Lateral (L), and Depth (D) dimensions.) until visualization of the high spiking activity of the CA1 *stratum pyramidale* (D~2.5mm) and fixed 100-200 $\mu$ m under this layer. We then lowered the SC stimulating electrode (A:-4mm, L:+3mm) while stimulating at 0.25Hz until visualization of the best evoked response in CA1 (D:3-3.3mm). Subsequently, we lowered and fixed the recording electrodes in the mPFC (A:+2.5 mm, L:+0.5mm, D:4mm) and the NAc (A:+1.2 mm, L:+0.8mm, D:7mm). Then, we began the descent of the Fx stimulating electrode (A:-1.7mm, L:+0.7mm, D:4.2-4.4mm) until we obtained stereotyped responses in the mPFC and the NAc. Stimulation pulses were paired with a 100ms delay to monitor paired-pulse facilitation. Two EMG electrodes were implanted bilaterally in the neck muscles. All the electrodes were connected to an electrode interface board (EIB-27, Neuralynx, U.S.A.) and a protective hat was made with dental cement. At the end of the procedure, we performed a subcutaneous injection of 3mL of Glucose (2.5%) supplemented with carprofene (5mg/kg).

### ***Recording setup***

The recording electrodes consisted of two twisted tungsten wires (25 $\mu$ m in diameter - California Fine Wire, U.S.A.) de-insulated at the tip. Stimulating electrodes were made either with two twisted tungsten wires (45 $\mu$ m in diameter) or two stainless steel twisted wires (100 $\mu$ m in diameter - California Fine Wire, U.S.A.), also de-insulated at the tip. An additional recording wire (25 $\mu$ m, tungsten) was glued to the stimulating electrode in order to record spontaneous LFP at the SC stimulation site. EMG electrodes were made by golden plating a small and round solder ball at the de-insulated and hooked tip of a conventional small electric wire. All these electrodes, along with reference screws, were connected to a custom-made 16 channels analog preamplifier by the EIB-27 connector. The signal was then conveyed *via* a rotating connector (Plastics One, U.S.A.) to a 16 channel amplifier (AM-Systems, U.S.A.) within which this signal was amplified with a gain of 1000. Signals from the different

electrodes were then acquired and digitized at 5kHz by a custom Matlab software (The MathWorks, U.S.A.) driving a NI-6343 acquisition board (National Instruments, U.S.A.) before being stored on a computer.

### *Electrical stimulation*

During recording, stimulations consisted of 100  $\mu$ s monophasic current pulses delivered by two Isolated Pulse Stimulator model 2100 (AM-Systems, U.S.A.). The delay between two stimulations on the same electrode was at least 30 seconds and the delay between the two stimulation sites was at least 15 seconds. During the habituation period, evoked responses were tested by gradually incrementing the current intensities of the electrical stimulations until we obtained clear and typical post-synaptic potentials on at least one pathway. If a stimulating electrode failed to elicit proper responses, stimulation of this pathway was stopped. For the SC, stimulation intensity ranged from 50 to 400 $\mu$ A. For the fornix, stimulation intensity was ranged between 80 and 800 $\mu$ A.

### *Slope and amplitude measurement*

Single ESPs were extracted offline for slope and amplitude measurements. The analysis cursors were positioned manually on average ESP (average of at least 10 ESP) for each rat. The ESP slope was assessed by a linear regression on the initial part of ESP. ESP were rejected of the analyses if the  $r^2$  values of the linear regression of ESP components were below 0.5, potentially reflecting artefactual responses. For the SC-CA1 ESP, the amplitude measurement was computed at the peak of the sink (negative component). For Fx-NAc ESP and Fx-mPFC ESP, the amplitude was computed by the subtraction between the peak of the P10 and P25 components of the ESP (Figure 3-4), and the peak of the first negative component (N5) of the same ESP.

### *Statistical analysis*

*Dataset.* For the SC-CA1 synapse, 6 animals presented one clear excitatory negative amplitude peak with a delay of 5-10 ms after the electrical stimulation and correct electrodes placement after histological verifications. Their responses were analyzed during a 24h period. A total of 9678 responses were analyzed during WK, 7057 during SWS, and 1616 during REM sleep (mean by rats: WK=1613, SWS=1176.2, REM=269.3). After histological verifications, the evoked LFP responses of the Fx-Nac and Fx-mPFC pathways were analyzed when the evoked responses presented the three following criteria: an early negative deflection of around 4 ms after stimulation called N5, and two positive peaks at around 9ms and 23ms after stimulation referred as P10 and P25 (Fig. 3-4). For the Fx-NAc synapse, data from 10 animals were conserved and responses were analyzed during a 24h period. A total of 10405 responses were collected during WK, 8301 during SWS and 2103 during REM sleep (means by rats: WK=1040.5, SWS=830.1, REM=210.3). For the recordings in the mPFC, data from 7 animals were conserved and a total of 8024 responses were analyzed during WK, 5575 during SWS and 1528 during REM sleep (means by rats: WK=1146.3, SWS=796.4, REM=218.3). For all rats, and during the full recording period, continuous LFP recordings were available for each sites.

*Analysis by states.* For the analysis of slope and amplitude by vigilance state, we computed in the different states the mean and s.e.m. for each animal, then normalized the other states by the WK mean of each rat. We then performed a Kruskal-Wallis to test the effect of vigilance state. For each vigilance state, individual samples were the means of each rat. Finally, we tested for differences between states by Wilcoxon rank-sum tests.

*Within episode modulation of synaptic transmission.* In order to assess the dynamic modulation of responses within the different episodes of sleep or wakefulness, we computed

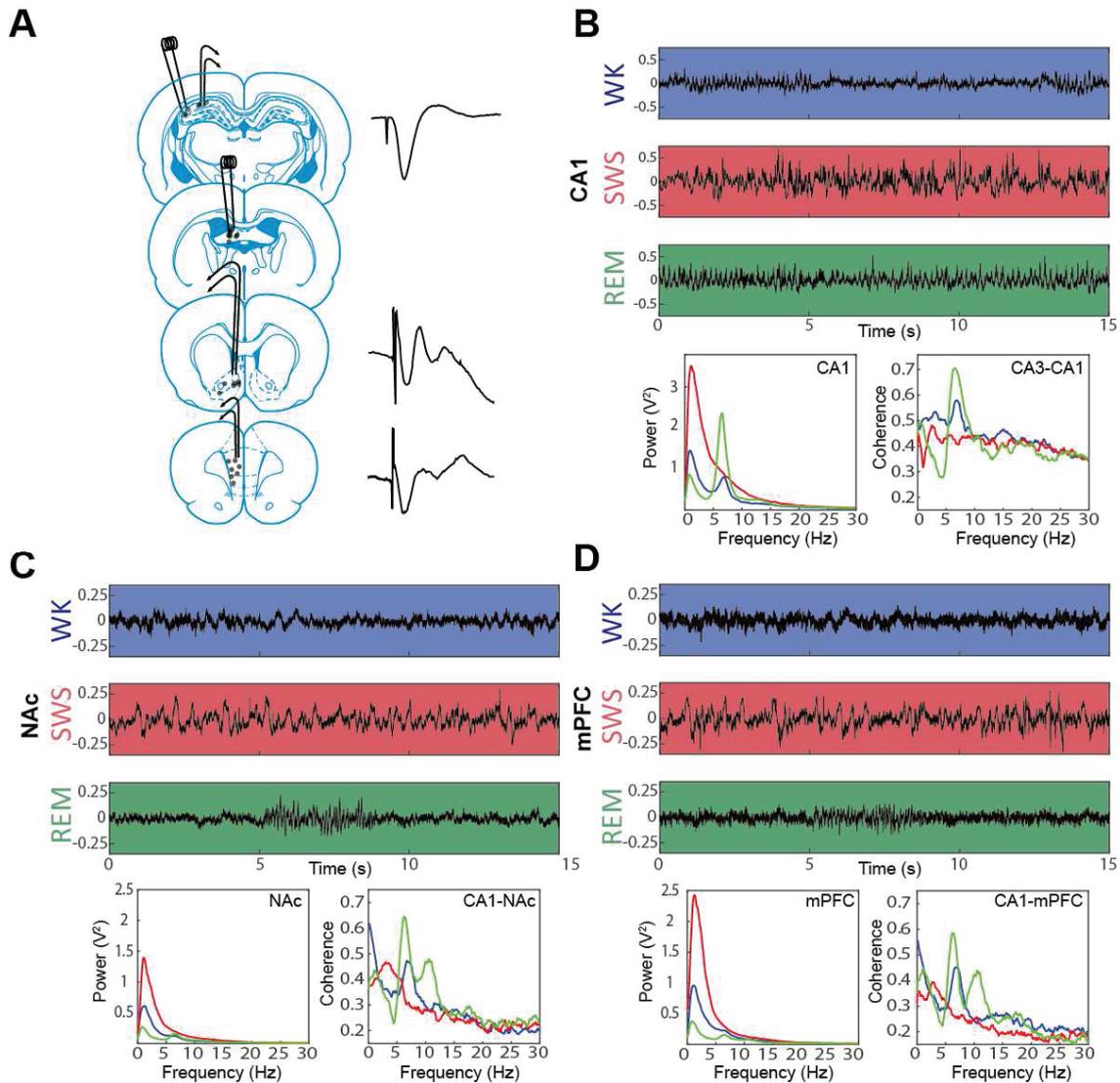
for each state the normalized position of the stimulation in the ongoing episode. Then, we z-scored the slope and amplitude values for each animal and each vigilance state in order to pool all the responses for the group. Finally, we split these datasets into first, middle and last third of the episodes. The modulation of the responses with normalized time was tested by one-way ANOVAs. The differences between these different segments were then assessed by two-sample t-tests.

*Modulation of SC-CA1 synaptic transmission by spontaneous oscillations.* To understand the effect of the spontaneous LFP on the gating of information between structures, we needed to have an estimation of the rhythms as close to the stimulation as possible. In order to do so, we first removed the stimulation artifact by linear interpolation of the signal before and 200ms after the stimulus. We then band pass filtered the signals in the bands of interest with a finite impulse response filter (delta: 1-4Hz, theta: 6-8Hz, High Frequency (HF): 150-250Hz). We applied a Hilbert transform on this filtered signals in order to obtain the instantaneous amplitude of the signal in each band. Finally, we computed the mean of the instantaneous amplitude in the few cycles preceding the stimulation (2s for delta band, 300ms for theta, and 70ms for HF). Band power and amplitude were finally z-scored within each state of each rat to later pool the data between rats. Random samples were extracted from each rat of the group in order to have the same number of samples by rats for each state. Final correlations were made on these group samples between z-scored slope and amplitudes and z-scored instantaneous power. Pearson's correlation coefficients were then computed for the LFP in each structure, for each vigilance state (fig. 7).

## **Results**

Figure 1A shows a schematic of the electrode implantations with the histologically identified sites of the recording and stimulating electrodes. Figure 1A (right) presents also

typical examples of single traces of electrically evoked potential recorded in CA1, NAc and mPFC.



**Figure 1. Spontaneous oscillations and coherence in the limbic network.** **A)** Schema of the implantation and positions of the recording and stimulating electrodes (left). Right: examples of single evoked synaptic responses in CA1 (top), NAc (middle), and mPFC (bottom). **B)** Examples of spontaneous LFP recorded during the three vigilance states in the CA1 area (top). Bottom: averaged power spectrum of LFP in CA1 (left) and averaged coherence between CA3 and CA1 spontaneous LFP during the three vigilance states (right). **C)** Examples of spontaneous LFP recorded during the three vigilance states in the NAc (top). Bottom: averaged power spectrum of NAc LFP (left) and averaged coherence between CA1 and NAc spontaneous LFP during the three vigilance states (right). **D)** Examples of spontaneous LFP recorded during the three vigilance states in the mPFC (top). Bottom: averaged power spectrum of mPFC (left) and averaged coherence between CA1 and mPFC spontaneous LFP during the three vigilance states (right).  $n=6$  rats in all the spectral analyses.

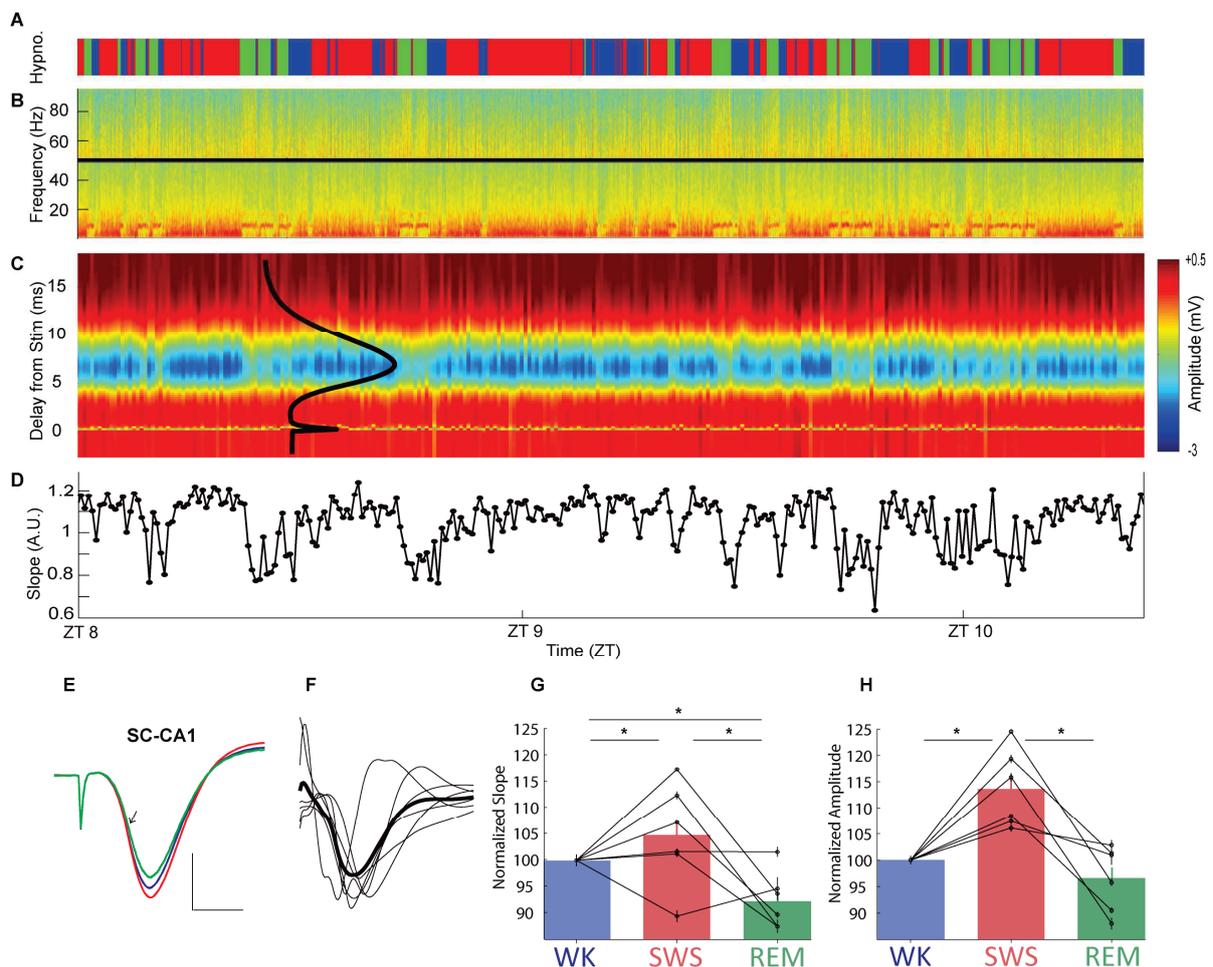
### *Spontaneous oscillations and coherence between CA1, NAc and mPFC during the sleep-wake cycle.*

As communication between structures is thought to be modulated by oscillations, we examined the spontaneous LFP in the three structures of interest. During SWS, a prominent peak around 1Hz was observed in all regions. This peak seems more important in CA1 than in the other regions. This peak was also visible during the other states, indicating that slow oscillations are present in the three states although markedly reduced in WK and REM sleep compared to SWS. In the NAc (Fig. 1C) and the mPFC (Fig. 1D), oscillations were generally weaker than in CA1. Slow oscillations were observed in the NAc and the mPFC, but their power was stronger in the mPFC than in the NAc, especially during SWS. In addition, it is also important to notice that the coherence for slow oscillations (around 1Hz) seems weak during SWS compared to WK and REM sleep for each pair of structures. In CA1 (Fig. 1B), theta oscillations were present during active WK (and associated with high amplitude EMG), and for the entire duration of REM sleep episodes. When averaged across episodes and rats, the theta power seems higher during REM sleep compared to WK. Theta rhythm, although less prominent than in the HPC, was clearly visible in the NAc and mPFC during REM sleep. The highest theta power was found in CA1 compared to the other regions. We also observed phasic increases in theta power and frequency during REM sleep. This phasic theta oscillations with a peak around 11-13Hz, lasting 3-5 seconds, have been previously characterized in the HPC in association with phasic pontine discharge (PGO or p-wave) and rapid eye movements in rats and cats (Sano *et al.*, 1973; Sakai *et al.*, 1973; Karashima *et al.*, 2005; Montgomery *et al.*, 2008). Interestingly we also observed these phasic theta oscillations in the NAc and in the mPFC. Indeed the coherence analysis revealed two distinct peaks in the theta band during REM sleep between the HPC and the NAc and the mPFC. The coherence was globally higher in the theta band and lower in the delta band for the three

pairs considered during REM sleep. Between structures, coherence was generally higher within the HPC and theta coherence seems higher in the HPC-NAc pair than in the HPC-mPFC pair.

### *Modulation of mono-synaptic transmission during the sleep-wake cycle in the SC-CA1, Fx-NAc and Fx-mPFC pathways.*

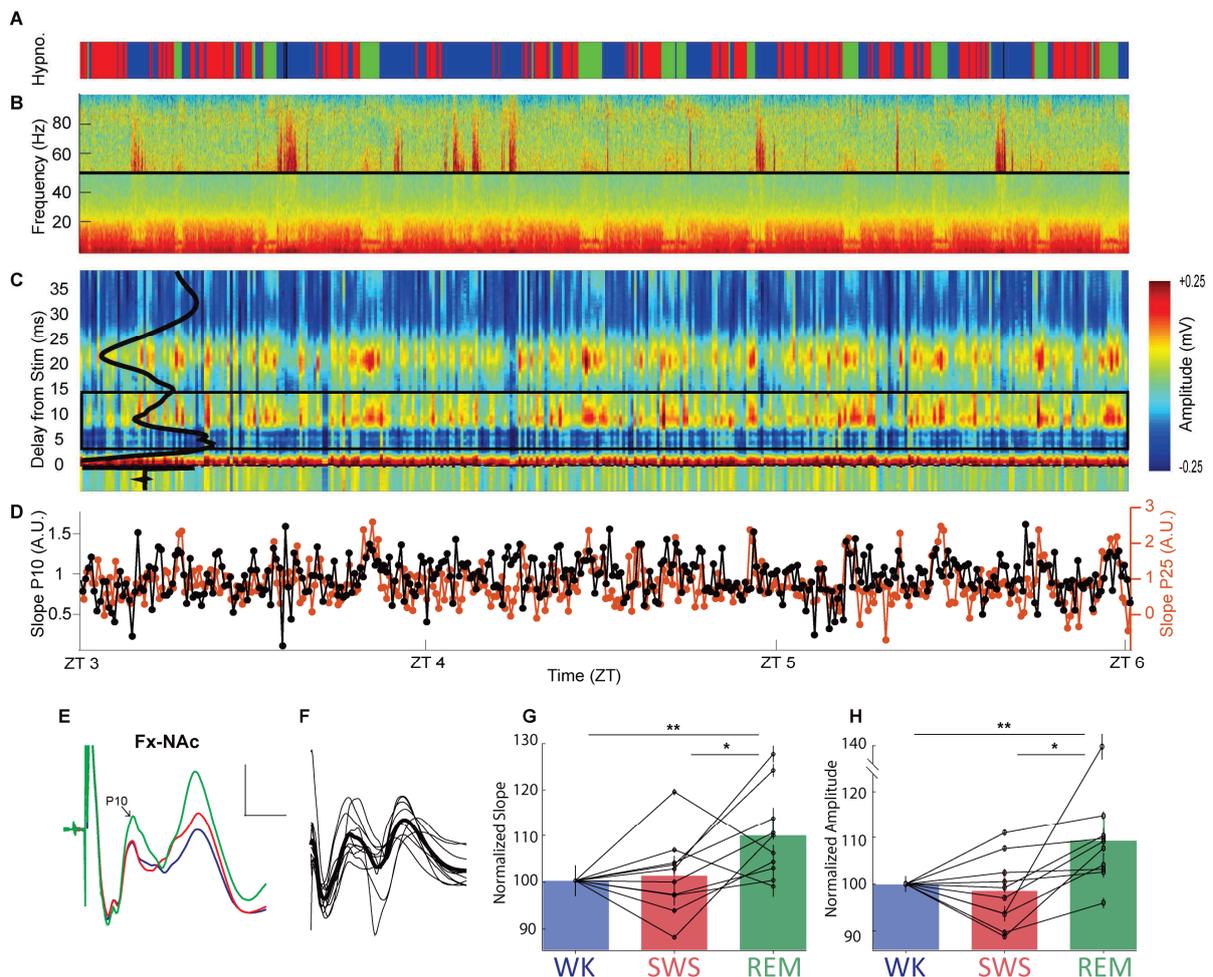
In order to assess the dynamic modulation of synaptic transmission during vigilance states, we quantified the slope and peak amplitude of the different ESP components over 24h period for each rat. The mean slope and amplitude by animals for each vigilance states were then normalized according to the mean WK values.



**Figure 2. SC-CA1 synaptic transmission increases during SWS and rapidly decreases during REM sleep.** **A)** Color-coded hypnogram (WK: blue, SWS: red, REM: green). **B)** Time-frequency spectrogram of the CA1 LFP. Color scale has been adapted on each side of the 50Hz black band. **C)** Color-coded traces of individual ESP of the SC-CA1 synapse over time. The black trace superimposed is the averaged ESP of the same animal. **D)** Evolution of the ESP slope over time. SC-CA1 slopes rise progressively during SWS bouts before decreasing rapidly during REM sleep. **E)** Example of averaged traces (24h) for the three vigilance states (WK: blue, SWS: red, REM: green) for the same rat. **F)** Averaged ESP of each rat of the group. Traces have been z-scored in order to plot them together. Thick line represents the grand-averaged ESP. **G)** Average normalized slope of mono-synaptic ESP during SWS and REM sleep, compared to WK, measured in a 24h period. **H)** Average normalized amplitude of mono-synaptic ESP during SWS and REM sleep, compared to WK. Scale bars: 2mv/5ms. \*  $p < 0.05$  with Wilcoxon rank-sum test.

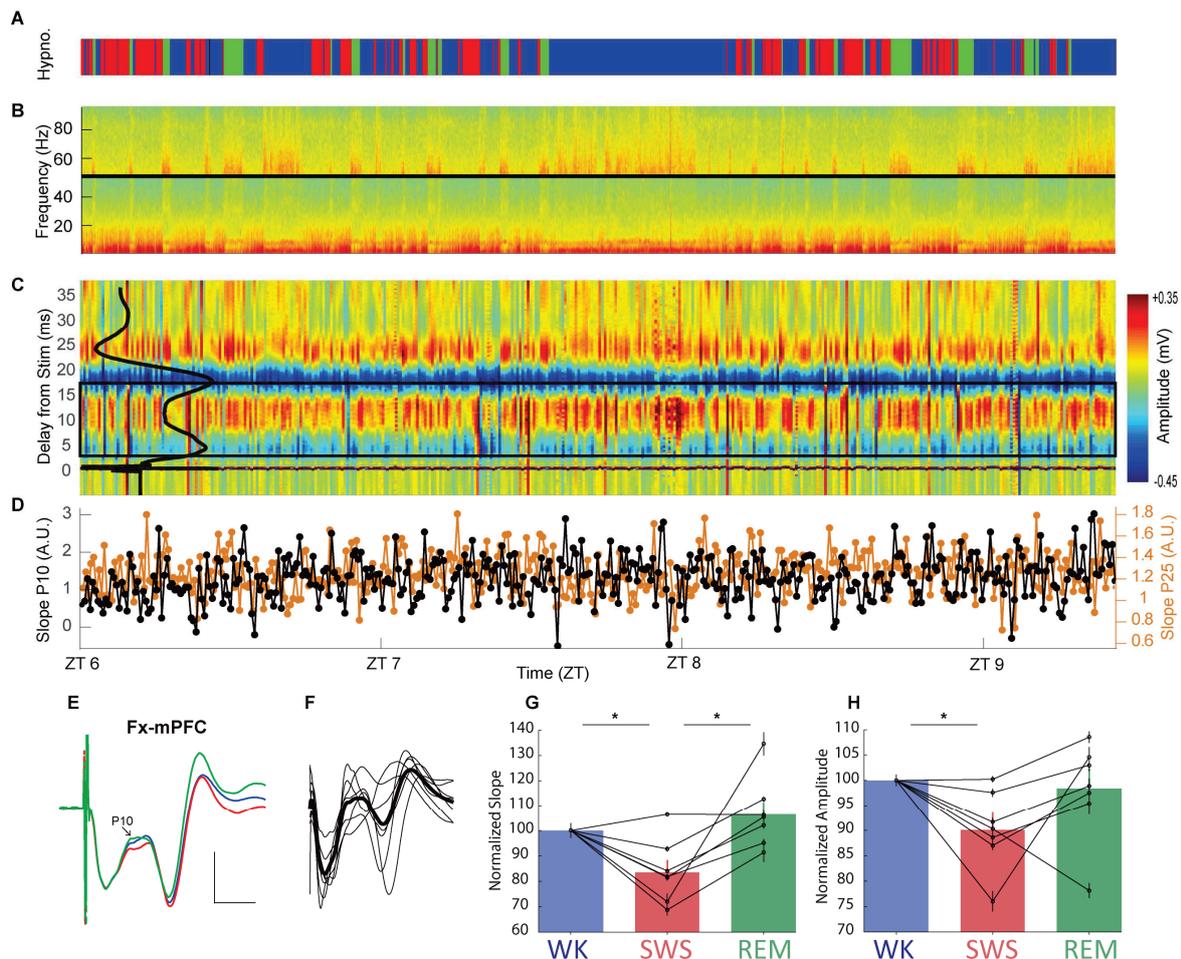
*SchafferCollaterals to CA1*. Figure 2C shows an example of the time course of the SC-CA1 ESP during two hours of sleep-wake cycle (in diurnal period, the time of light on defines zeitgeber time zero [ZT 0 = 9 am]). Amplitude and slope of the ESP seem to be greatly influenced by the sleep/wake cycle. Responses progressively increased during large SWS episodes while they rapidly decreased during each REM sleep episodes. Responses increased progressively during large SWS episodes and decreased rapidly at each REM sleep occurrence. The example shown in figure 2E illustrated the mean ESP over 24h for each vigilance states for a given rat. For this rat, the amplitude of the mean response increased during SWS, but decreased in REM sleep, compared to WK. Figure 2F illustrates the averaged responses for all rats. Overall mean responses for all rats (Fig. 2G-H) were also higher during SWS, and lower during REM sleep, compared to WK. We found that synaptic transmission was significantly modulated during the sleep/wake cycle when considering the amplitude ( $\chi^2=9$ ,  $p=0.011$ ) and marginally when looking at slope values ( $\chi^2=5.3$ ,  $p=0.069$ ). When comparing between states, transmission was higher during SWS compared to WK (Friedman slope:  $W=27$ ,  $p=0.048$ ; amplitude:  $W=21$ ,  $p=0.0022$ ). Synaptic transmission in SC-CA1 was also significantly higher in SWS than in REM sleep (slope:  $W=27$ ,  $p=0.048$ ; amplitude:  $W=21$ ,  $p=0.0022$ ). During REM sleep, the slope of evoked responses decreased compared to WK ( $W=51$ ,  $p=0.048$ ). No significant difference was found when comparing the mean amplitudes ( $W=39$ ,  $p=1$ ).

**Fornix to Nucleus Accumbens.** The Fx-NAc synapse was also found to be modulated during the sleep-wake cycles. In contrast with SC-CA1 synaptic responses, we found an increase in ESP during REM sleep compared to WK and SWS (Figure 3C-D). Both slope and amplitude were significantly modulated by the vigilance state (Fig. 3G-H; slope:  $\chi^2=7.4$ ,  $p=0.025$ ; amplitude:  $\chi^2=12.6$ ,  $p=0.0018$ ). The mono-synaptic transmission increased in the NAc during REM sleep compared to WK (slope:  $W=35$ ,  $p=0.0014$ ; amplitude:  $W=35$ ,  $p=0.0014$ ) and SWS (slope:  $W=77$ ,  $p=0.038$ ; amplitude:  $W=71$ ,  $p=0.011$ ). No differences were found between WK and SWS at this synapse (slope:  $W=105$ ,  $p=1$ ; amplitude:  $W=115$ ,  $p=0.44$ ).



**Figure 3. Fx-NAc synaptic transmission is increased during REM sleep.** **A)** Color-coded hypnogram (WK: blue, SWS: red, REM: green). **B)** Time-frequency spectrogram of the NAc LFP. Color scale has been adapted on each side of the 50Hz black band. **C)** Color-coded traces of single ESP of the Fx-NAc synapse during three hours of recordings. Note that mono and poly-synaptic component of the ESP increased during REM sleep episodes compared to Wk and SWS. Different gamma activity was observed in WK and REM sleep bouts. The black trace superimposed is the averaged ESP of the same animal. Color scale has been adapted in the black rectangle to magnify the P10 component. **D)** Evolution of the P10 and P25 slope over time. **E)** Example of averaged traces (24h) for the three vigilance states (WK: blue, SWS: red, REM: green) for the same rat. **F)** Averaged ESP of each rat ( $n = 10$ ). Traces have been z-scored in order to plot them together. Thick line represents the grand-averaged ESP. **G)** Average normalized slope of mono-synaptic ESP during SWS and REM sleep, compared to WK, measured in a 24h period. **H)** Average normalized amplitude of mono-synaptic ESP during SWS and REM sleep, compared to WK. Scale bars: 0.2mV/10ms. \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$  with Wilcoxon rank-sum test.

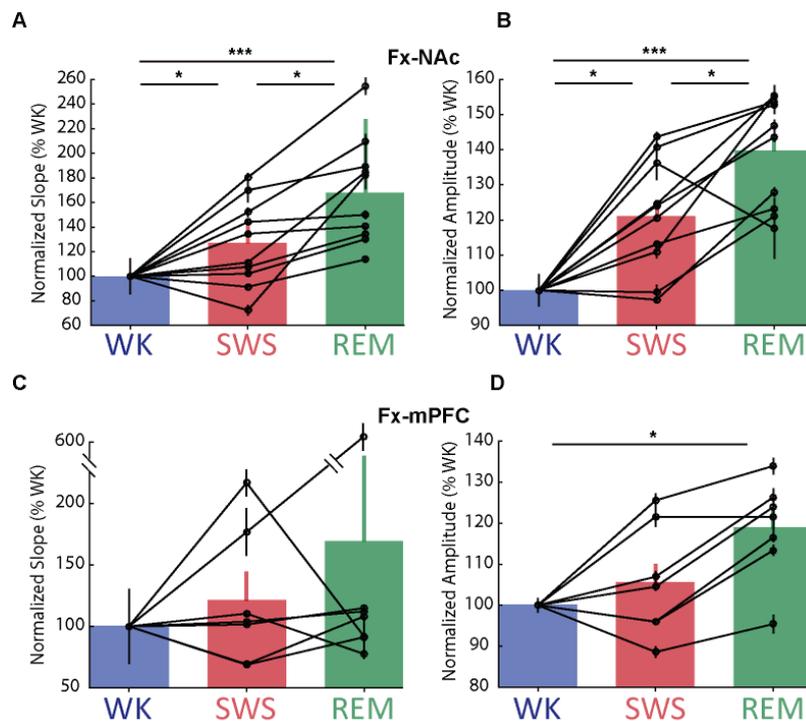
*Fornix to medial Prefrontal Cortex.* We found a different pattern at the Fx-mPFC synapse, although only the slope was found to be significantly modulated during the sleep/wake cycle (slope:  $\chi^2=6$ ,  $p=0.049$ ; amplitude:  $\chi^2=5.43$ ,  $p=0.066$ ). As shown in Figure 4, the global trend observed at this pathway was a reduction of synaptic transmission during SWS. Pairwise comparisons showed a significant decrease of the P10 during SWS compared to WK (slope:  $W=70$ ,  $p=0.017$ ; amplitude:  $W=70$ ,  $p=0.017$ ) and REM sleep, although amplitude differences did not reach significance for the SWS-REM comparison (slope:  $W=34$ ,  $p=0.018$ ; amplitude:  $W=39$ ,  $p=0.097$ ). No difference was seen between WK and REM sleep for P10 at this synapse (slope:  $W=42$ ,  $p=0.18$ ; amplitude:  $W=56$ ,  $p=0.69$ ).



**Figure 4. Fx-PFC synaptic transmission decreases during SWS.** **A)** Color-coded hypnogram (WK: blue, SWS: red, REM: green). **B)** Time-frequency spectrogram of the mPFC LFP. Color scale has been adapted on each side of the 50Hz black band. **C)** Color-coded traces of individual ESP of the Fx-mPFC synapse over time. The amplitude of the P25 seems to increase during REM sleep compared to --. Color scale has been adapted in the black rectangle to magnify the P10 and P25 slope over time. **D)** Evolution of the P10 and P25 slope over time. **E)** Example of averaged traces (24h) for the three vigilance states (WK: blue, SWS: red, REM: green) for the same rat. **F)** Averaged ESP of each rat ( $n=7$ ). Traces have been z-scored in order to plot them together. Thick line represents the grand-averaged ESP. **G)** Average normalized slope of mono-synaptic ESP during SWS and REM sleep, compared to WK, measured in a 24h period. **H)** Average normalized amplitude of mono-synaptic ESP during SWS and REM sleep, compared to WK. Scale bars: 0.5mV/10ms. \*  $p<0.05$  with Wilcoxon rank-sum test.

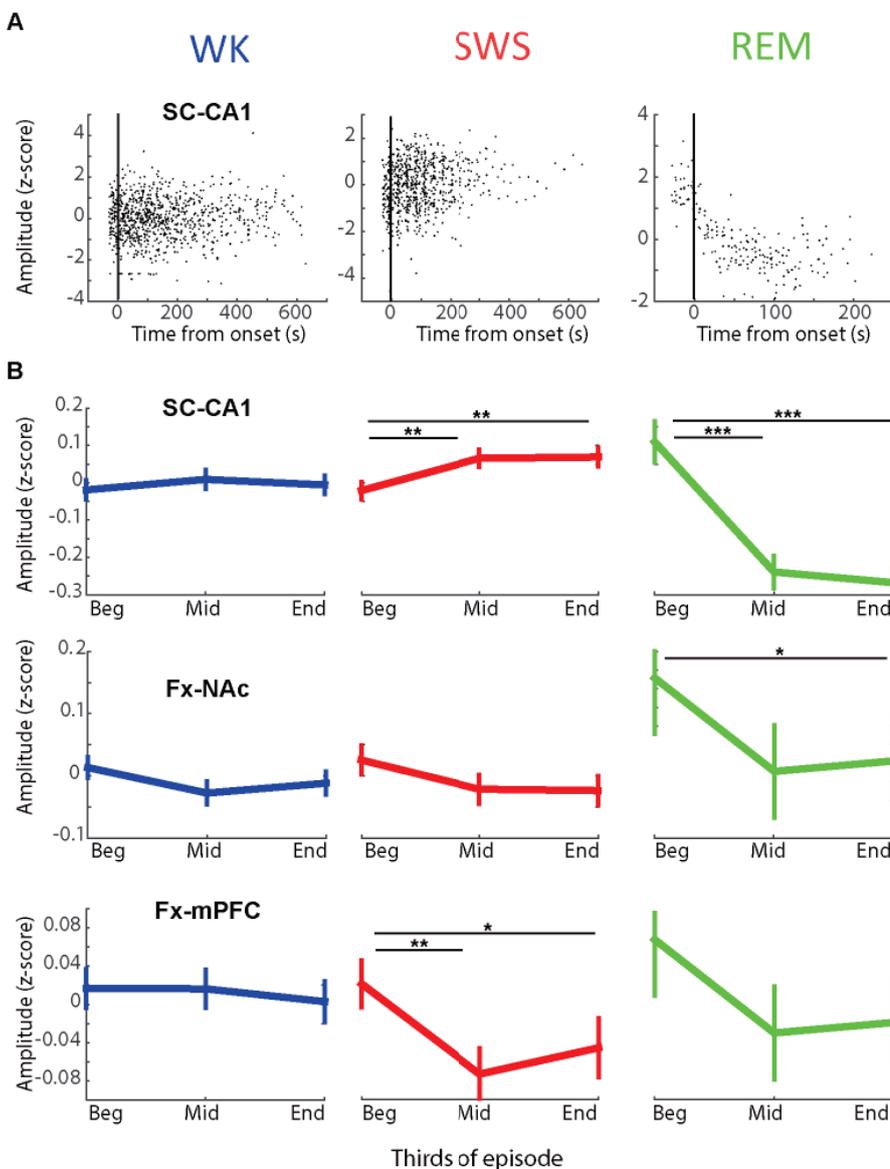
### Modulation of poly-synaptic transmission during the sleep-wake cycle.

We then observed how the poly-synaptic, P25 component in the Fx-NAc and Fx-mPFC pathways was affected by the sleep/wake cycle. Although it was less clear in the mPFC than in the NAc, both poly-synaptic components appeared to be increased during REM sleep (Fig. 5). The P25 Fx-NAc responses were highly modulated during the sleep-wake cycle (slope:  $\chi^2=16.8$ ,  $p=2.3 \times 10^{-4}$ ; amplitude:  $\chi^2=14.6$ ,  $p=6.8 \times 10^{-4}$ ). Pairwise comparisons showed a highly significant increase of the P25 in REM sleep compared to WK (slope and amplitude:  $W=55$ ,  $p=6.4 \times 10^{-5}$ ). The increase in P25 Fx-NAc responses during REM sleep was also significant compared to SWS (slope:  $W=77$ ,  $p=0.038$ ; amplitude:  $W=75$ ,  $p=0.026$ ). Finally, we also observed an increased transmission of the Fx-NAc P25 between WK and SWS (slope and amplitude:  $W=75$ ,  $p=0.017$ ).



**Figure 5. Poly-synaptic ESP at hippocampal outputs tend to increase during REM sleep.** Averaged normalized slope **A**) and amplitude **B**) of the Fx-NAc P25 during SWS and REM sleep, compared to WK, measured in a 24h period. Averaged normalized slope **C**) and amplitude **D**) of the Fx-mPFC P25 during SWS and REM sleep, compared to WK, measured in a 24h period. \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  with Wilcoxon rank-sum test.

Concerning the P25 Fx-mPFC, no difference of the slopes was observed during the sleep-wake cycle (Friedman  $\chi^2=1.1$ ,  $p=0.57$ , all pairwise comparisons have  $p>0.05$ ). However, the amplitude of the P25 was slightly modulated during the vigilance states (Friedman  $\chi^2=5.43$ ,  $p=0.066$ ). The amplitude of the P25 was increased during REM sleep compared to WK (W=35,  $p=0.017$ ; other  $p>0.05$ ).



**Figure 6. Evolution of the ESP amplitude within individual episodes of WK, SWS and REM sleep. A)** Examples of evolution of synaptic transmission within episodes at the SC-CA1 pathway. The z-scored ESP amplitudes were plotted against the time from episodes onset. Each graph is from one animal. Black bar indicates the onset of an episode of WK, SWS or REM sleep. **B)** Evolution of the amplitude of mono-synaptic responses between thirdsof episodes for the SC-CA1, Fx-NAc and Fx-mPFC synapse. The times of stimulations were normalized from 0 to 1 relatively to the onset and offset of the ongoing episode. z-scored amplitude were then averaged for each thirds of episodes. Comparisons were made between the beginning (beg), the middle (Mid), and the end (End) of WK, SWS and REM sleep episodes. \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$  with two-samples t-test.

### *Dynamic of the synaptic transmission within single episodes of WK, SWS or REM sleep.*

In order to examine whether individual episodes of sleep or wake tends to up- or down-regulate synaptic transmission, we measured the evolution of the recorded responses across the course of the different episodes of WK, SWS or REM sleep (fig. 6A - see Methods).

*Schaffer Collaterals to CA1.* At this synapse, the ESP did not appear to be modulated during WK episodes ( $F_{(2,4388)}=4.5$ ,  $p=0.73$ ). In contrast, an increase in amplitude was observed during the second and third parts of SWS episodes compared to the first part (fig.6B;  $F_{(2,4924)}=4.5$ ,  $p=0.011$ ). Surprisingly, the SC-CA1 ESP amplitude was decreased during the second and third parts of REM sleep episodes compared to the first part ( $F_{(2,1001)}=18.9$ ,  $p=9.7 \times 10^{-9}$ ). Therefore this analysis of ESP amplitude reveals differences between the first and the two other thirds during SWS and REM sleep. For REM sleep in particular, the time course of the diminution appears to be restricted to the first 30-50 seconds of the episodes (Figure 6A).

*Fornix to Nucleus Accumbens.* The Fx-NAc synapse was characterized by a diminution of amplitude during the course of an episode of REM sleep. ESP amplitude was decreased during the second and third parts of REM sleep episodes compared to the first part (Fig. 6B–  $F_{(2,1307)}=4.3$ ,  $p=0.014$ ). Beside this diminution during REM sleep, we found no other significant evolution of the evoked responses within episodes (WK:  $F_{(2,6621)}=1.33$ ,  $p=0.26$ ; SWS:  $F_{(2,5554)}=1.44$ ,  $p=0.24$ ).

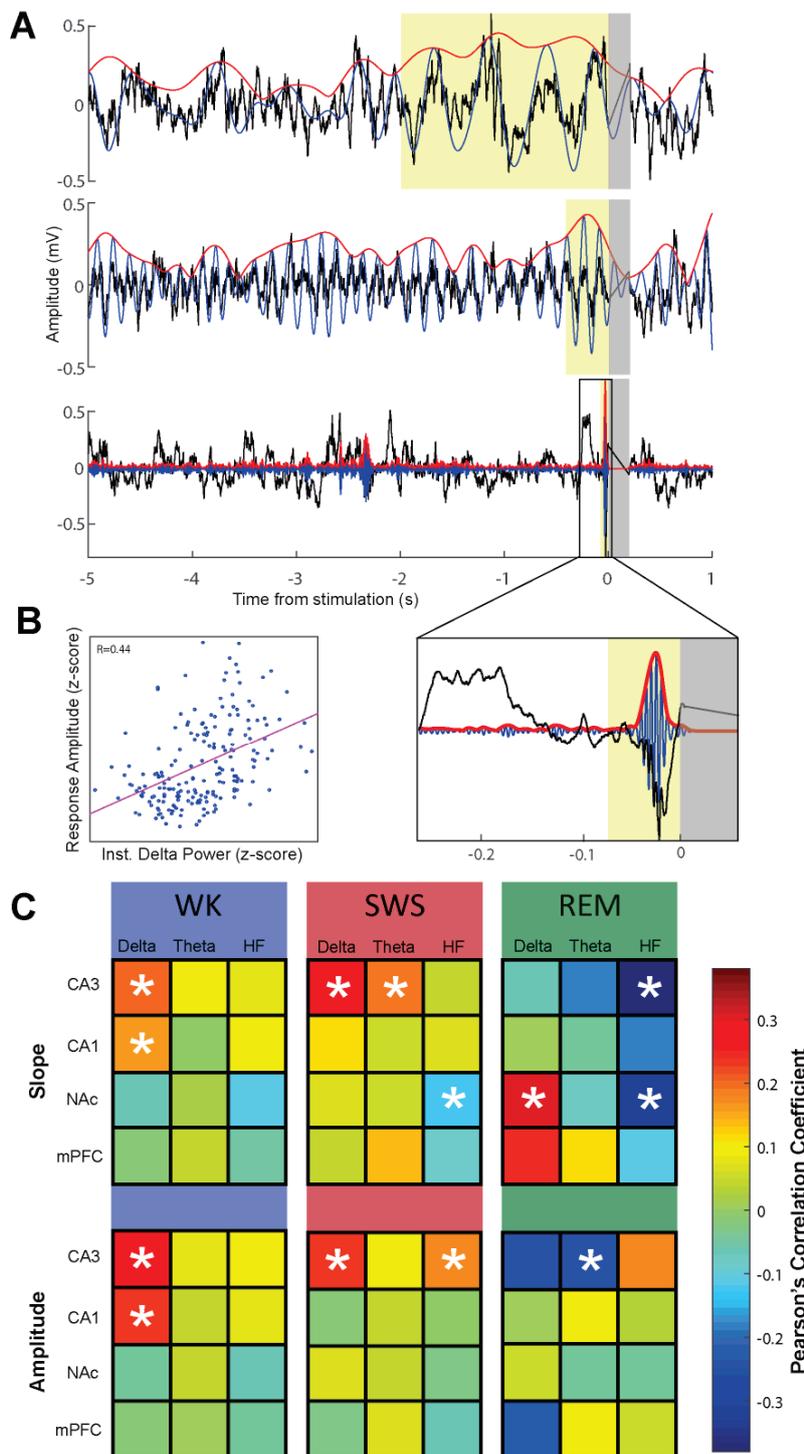
*Fornix to medial Prefrontal Cortex.* WK and REM sleep episodes did not appear to dynamically affect synaptic transmission in the mPFC (WK:  $F_{(2,979)}=3.1$ ,  $p=0.86$ ; REM:  $F_{(2,979)}=3.1$ ,  $p=0.34$ ). However, and in contrast with SC-CA1, Fx-mPFC ESP decreased during the time course of SWS ( $F_{(2,3717)}=3.1$ ,  $p=0.044$ ). In this case also, the differences in ESP size only appeared between the first and the two other thirds.

Altogether these results suggest that ESP at SC-CA1, Fx-NAc and Fx-mPFC can be rapidly modulated at the beginning of sleep episodes. These results seem to be in contrast with the results obtained from other sets of connections such as in the neocortex (Vyazovskiy *et al.*, 2008).

### ***Modulation of SC-CA1 synaptic transmission by spontaneous oscillations.***

As expected for synaptic transmission, ESP size was highly variable within each state (see Figures 2C, 3C and 4C). A possible source of this variability was the highly dynamic changes in oscillatory patterns in these structures during the sleep/wake cycles that could modulate neuronal excitability, presynaptic neurotransmitter release and postsynaptic receptor activation (Shu *et al.* 2006). In contrast with anaesthetized animals, spontaneous LFP oscillations during WK, SWS and even REM sleep were highly variable in frequency and amplitude in each episode. Therefore, we analyzed spontaneous LFP oscillations which immediately preceded the stimulation in all structures. First, as shown in figure 7A, we filtered the signal in three bands: delta (1-4Hz), theta (6-8Hz) and high-frequency (150-250Hz). The corresponding high-frequency corresponds to the frequency band of hippocampal ripple oscillations. Second, we computed the instantaneous amplitude of each frequency band in the few cycles preceding the stimulation (see methods). The band power was z-scored, as well as the corresponding slope and amplitude of the responses. After pooling the data from all animals, we computed a linear regression between the band power on one hand and the slope and amplitude of SC-CA1 responses on the other. An example of linear regression between CA1 delta oscillation power *and* SC-CA1 ESP amplitude during WK is illustrated on the figure 7B. The correlation matrices, as illustrated by Figure 7C, showed few significant correlations between oscillation power and SC-CA1 ESP.

During WK, we observed a significant positive correlation between the slope and amplitude of the SC-CA1 responses and the delta power in CA3 and CA1 (Fig 7C). These correlations were clearly stronger than what could be observed in other bands or regions for this state. Additional analysis will be carried out to determine whether this positive



**Figure 7. Spontaneous oscillations modulate the SC-CA1 responses.** **A)** Examples of CA1 LFP traces where we extracted the instantaneous power before stimulation in the delta (top), theta (middle), and HF band (bottom). black: raw LFP traces. blue: band-pass filtered LFP. red: instantaneous amplitude of the filtered signal. Periods used for averaging the instantaneous power are highlighted in yellow (delta: 2s, theta: 300ms, HF: 70ms). Stimulation artifact and the ESP were removed and the signal interpolated within the grey shadowed window (200ms). Note that in the bottom trace, a sharp wave-ripple complex elicit a massive and brief increase in the HF instantaneous amplitude (to simplify, we will refer later as band power) just before the stimulation. **B)** Example of correlation between instantaneous delta power in CA1 and the amplitude of the corresponding ESP. Instantaneous power and ESP amplitude were both z-scored for each rat and vigilance states. **C)** Correlation matrices between the amplitude/slope of SC-CA1 responses, and the preceding instantaneous power in the three bands, for the three vigilance states. Pearson's linear correlation coefficients are color-coded. Significant correlations are marked with a white asterisk

correlation is observed only during quiet waking, a period characterized by a high level of slow oscillations (e.g.: Crochet and Petersen, 2006; Fujisawa and Buzsaki, 2011). During SWS, SC-CA1 responses were positively correlated to CA3 delta power. We observed also a positive correlation between SC-CA1 ESP slope and theta power in CA3. A positive correlation between SC-CA1 amplitude and CA3 HF power was also found. In contrast, SC-CA1 slope was negatively correlated with NAc HF power. During REM sleep, the correlation matrix drastically changes. During this state, SC-CA1 responses did not correlate with CA3 delta power as in WK and SWS. SC-CA1 slope was negatively correlated with CA3 theta power and CA3 HF power. SC-CA1 slope was also positively correlated with NAc delta power and negatively correlated with NAc HF power.

To summarize, during WK and SWS, SC-CA1 responses were positively correlated with the amplitude of hippocampal delta rhythm. These correlations with HPC delta power were not observed with NAc, and mPFC delta power. During REM sleep, SC-CA1 responses were negatively correlated with HPC theta rhythm. Additionally, we performed a slightly different analysis which resulted in a similar pattern of correlations of the SC-CA1 ESP with LFP oscillations (supplementary figure 1).

## *Discussion*

With this study, we investigated the modulation of synaptic transmission during the sleep-wake cycle at three different synapses of the limbic system, the SC-CA1, the Fx-NAc and Fx-mPFC pathways. We showed that while SC-CA1 ESP increased during SWS compared to WK, and also decreased in PS compared to SWS (Leung, 1980) and compared to WK. We found that mono- and poly-synaptic responses in Fx-NAc increases during REM sleep and that mono-synaptic responses in Fx-mPFC decreased during SWS. We also found that these

responses may be rapidly modulated within each episode of SWS or PS. In addition, we showed that the synaptic responses (in the SC-CA1 pathway) were differently modulated by slow and fast oscillations during the vigilance states.

*Characterization of the P25 response.* The nature of the P25, poly-synaptic component recorded in the NAc and the mPFC after stimulation of the Fx, has been studied by Boeijinga and colleagues (1993). Their findings show that the late P25 in the NAc results from a stimulation of septal afferents to the HPC. Excitatory potentials in the HPC are then propagated through the HPC tri-synaptic circuit before being sent by the ventral subiculum to the NAc. In fact, both septal projections to the HPC and the subiculum projections to the NAc and the mPFC are transiting *via* the fornix. Boeijinga and colleagues (1993) have shown that temporary lesion of the fornix by lidocaine injection, upstream of the stimulation electrode, disrupt the late P25 response in the NAc without affecting the P10. Injection of kynurenic acid, that antagonizes ionotropic glutamate receptors in the CA1/subiculum region also blocked the P25. Moreover, stimulation of the Fx evoked an early synaptic response in the CA1-subiculum that was suppressed by lidocaine (a blocker of action potentials) injection in the Fx. Additionally, the absence of P25 in the NAc with *in vitro* preparation stimulating HPC afferents suggests that P25 is not internally generated in the NAc by recurrent activity (Pennartz and Kitai, 1991). Although it was not studied as extensively, P25 recorded in the mPFC is most likely evoked by the same mechanisms. Local and external processes to the NAc and the mPFC might be involved in the modulation of P25 during the sleep-wake cycle. The enhanced SC-CA1 responses during SWS could explain the changes of the P25 response in the NAc between WK and SWS, while no difference was found between these two states on the mono-synaptic component. However, the enhancement of the responses during REM sleep is relatively greater for the P25 than for the P10. As hippocampal synaptic transmission decreases during REM sleep, the effect of REM sleep on the Fx-NAc P25 is probably caused

elsewhere. Given the strong septal activity during REM sleep, the enhanced transmission between the septum and the HPC might be responsible for the greater P25 in the NAc. Concerning the poly-synaptic component of the Fx-mPFC ESP, slopes appear to be extremely variable between animals. Mulder and colleagues (1997) have reported that poly-synaptically driven single-units in the mPFC were found in a much broader time range after stimulation than in the NAc, and it appears that these units were not detectable for all recorded depth. These depth and variability in the poly-synaptic component of the Fx-mPFC might explain the inconsistent modulations of this component between our animals.

*Modulation of SC-CA1 during the sleep-wake cycle.* Our results concerning the SC-CA1 synapse - the most described synapse in the literature – corroborate previous findings. Leung (1980), with a very low number of rats, showed that the amplitude of averaged evoked potentials at this synapse was higher during SWS than in an alert, walking animal, but did not find any difference between SWS and immobile awake rats. Leung's results also suggested that ESP decreases during REM sleep compared to SWS and quiet waking, but not compared to walking. It would thus be of great interest to analyze ESP amplitude separately during quiet and active waking in order to confirm these results.

The dynamic of ESP changes within the different sleep episodes in the SC-CA1 synapse have, to the best of our knowledge, never been examined before. Our results suggest that SWS episodes and REM sleep episodes have a different impact on synaptic transmission. SC-CA1 ESP increase during the course of SWS episodes. During REM sleep episodes, they rapidly decrease and remain stable after about 30-50 seconds from REM sleep onset. Grosmark and colleagues (2012) have shown that firing rate decreases in CA1 during the course of REM sleep episodes, and that this decrease seems to be constant during all the normalized duration of the REM sleep episodes. For their analysis, they included episodes

longer than 50 seconds while we did not consider episodes shorter than 100 seconds. The normalization procedure Grosmark adopted, combined with shorter episodes, may account for the decrease observed during the whole REM sleep episodes in their study. An alternative explanation would be that synaptic transmission and firing rates are not evolving with the same time course during REM sleep episodes.

In the HPC, the REM sleep-dependent decrease of synaptic transmission is generally attributed to a high cholinergic tone that was first observed in this area by H. Kametani and H. Kawamura (1990). Unlike what is observed in the HPC, it has been shown that cholinergic release does not peak in the cortex during REM sleep (Marrosu *et al.*, 1995). One of the current framework regarding memory consolidation proposes that, during WK, associational cortices are transferring information to the HPC. Once transferred to the HPC, this information would be protected from other interfering information due to an elevated cholinergic tone that inhibits the feed-forward excitation of the hippocampal network during WK, by a presynaptic activation of muscarinic receptors (Hasselmo, 1999; however see Wester and Contreras, 2013). During SWS, a release of the acetylcholine-mediated suppression of hippocampal feedback to the neocortex is generally observed. Consequently, SWS may provide a privileged window for the transfer of information from the HPC to the neocortex and thus for the long-term storage of memory traces recently encoded in the HPC.

*Modulation of Fx-NAc and Fx-mPFC transmission during the sleep-wake cycle.* In contrast to the well-known SC-CA1 synapse, our results regarding the modulation of our two hippocampal outputs, the NAc and the mPFC, were not previously described in unanesthetized rats and our approach allows us to compare them with the SC-CA1 synapse. One of our most striking results is that the three synapses examined here are differentially modulated during the sleep-wake cycle. While Fx-NAc mono-synaptic transmission appears

to be increased only during REM sleep, the Fx-mPFC ESP decrease during SWS compared to WK. These different modulations in synapses sharing *a priori* the same afferent origins might indicate that post-synaptic changes are mostly involved in these pathways.

Concerning the modulation of the Fx-mPFC synapse, studies using spike recordings have shown that peak of cross-correlation between spike trains of ventral CA1 and mPFC neurons increases during SWS (Siapas and Wilson, 1998; Wierzynski *et al.*, 2009) compared to WK and REM sleep. This suggests that the contribution of hippocampal neuronal activity to mPFC neuronal activity increased during SWS. Our results showing that Fx-mPFC transmission decreases during SWS seem to suggest the opposite. Future work will need to quantify spike activity in mPFC after Fx stimulation during SWS and the other vigilance states.

Regarding the Fx-NAc synapse, we observed a significant increase in the mono-synaptic response during REM sleep but no difference between the SWS and WK conditions. Such enhancement of ESP during REM sleep has been reported in one recent study in the thalamo-cortical system (Chauvette *et al.*, 2012). Several mechanisms might explain this sustained enhancement of synaptic transmission during REM sleep compared to the other vigilance states. The NAc is the main target of Ventral Tegmental Area (VTA). The VTA from which originates the mesolimbic dopaminergic circuit has been shown to be activated during REM sleep (Maloney *et al.*, 2002; Lena *et al.* 2005; Dahan *et al.*, 2007) and VTA neurons have been shown to preferentially fire in burst during REM sleep (Dahan *et al.*, 2007). It has also been shown that bursting activity massively increases extracellular dopamine levels (Floresco *et al.*, 2003), and that activation of D1 dopamine receptors in the NAc potentiates the responses evoked by hippocampal stimulations (Goto and Grace, 2005). Consequently, an increased activation of D1 receptors during REM sleep could be responsible for the ESP enhancement seen during this state. Dopamine is equally known to modulate synaptic transmission, LTP and memory consolidation (Otmakhova and Lisman, 1999; Li *et al.*, 2003).

More generally, the mesolimbic dopamine reward system contributes to a broad range of learning paradigm, as VTA projects on many structures such as the mPFC and the HPC (for review, see Sesack and Grace, 2010). Therefore the NAc which receives the major part of this dopaminergic output, may serve as a hub between the HPC, the mPFC and the amygdala. Lisman and Grace (2005) proposed the idea that a functional hippocampal-VTA loop would be crucial for the acquisition of salient memories. According to this theory, the downward arc of the loop would carry novelty signals from the HPC to the NAc, via the ventral subiculum. The NAc, via the inhibition of neurons in the ventral pallidum, would then release the VTA from its inhibitory constraints and trigger a dopamine signal at its output structures, constituting the upward arc of the loop. Indeed, the downward arc, connecting the HPC to the NAc has been implicated in learning and consolidation, even without explicit reinforcement (Sargolini *et al.*, 1999; Mele *et al.*, 2004; Ferretti *et al.*, 2010). Moreover, the activation of neuronal assemblies in these two structures have been demonstrated to improve reward and place coding, and has been shown to be also replayed during SWS (Pennartz *et al.*, 2004; Lansink *et al.*, 2008, 2009, 2012).

What could be the physiological role of this improved synaptic transmission between the HPC and the NAc during REM sleep? We hypothesize that this REM sleep-dependent increase in transmission might be involved in the processing of memory, and emotional memory in particular. Indeed, it has been shown that REM sleep restriction alters more emotional memories than neutral memories. In humans, experiments using the “night-half paradigm” aimed to compare the effect of sleep rich in SWS or REM sleep on learning and memory, have shown that REM sleep-rich condition benefits more to the retention of highly emotional text compared to neutral texts (Wagner *et al.*, 2001). In rodents, early studies have found that REM sleep deprivation impaired a great variety of aversive learning (for review, see Hutchinson and Rathore, 2015). A recent study by our team (Ravassard *et al.*, 2015) has

proved that even a short (4h) and non-stressful REM sleep deprivation impairs both contextual fear conditioning consolidation and LTP in the dorsal HPC, and that in the opposite, a higher amount of REM sleep after conditioning enhanced this hippocampal LTP and consolidation of fear memory. Given that the NAc has been implicated in contextual fear conditioning both in rodents (Westbrook *et al.*, 1997; Levita *et al.*, 2002) and humans (Rodriguez-Romaguera *et al.*, 2012; Pohlack *et al.*, 2012), we hypothesize that an enhanced synaptic transmission between the HPC and the NAc during REM sleep might be implicated in the consolidation and/or extinction of aversive memories, especially when in relation to a specific context.

*Correlations of synaptic transmission with LFP oscillations.* The impact of oscillatory patterns on synaptic transmission has mostly been studied by comparing averaged evoked responses elicited in theta and non-theta states. There is a clear consensus on a decreased synaptic transmission at the SC-CA1 synapse during theta states compared to non-theta states (Segal, 1978; Leung, 1980). In anesthetized animals, the phase of theta and of slow oscillations are also modulating hippocampal transmission with greater responses during the falling phase of these two types of oscillations (Schall *et al.*, 2008). However, the modulation of individual responses by the instantaneous power of oscillations before the stimulation has never been studied. During WK and SWS, our results suggest that delta rhythm, positively correlated with SC-CA1 responses, has a greater influence on synaptic transmission than theta rhythm. Moreover, this modulation by delta rhythm seems to be local as no such correlations were seen with the LFP in the NAc and the mPFC during these states. We also found that HF (150-250Hz) events in CA3 are positively correlated with the amplitude of ESP during SWS. Although we did not specifically detect sharp-wave ripples, it is reasonable to think that they contribute to the observed modulation. An increased amplitude of ESP during these HF events may correspond to a greater excitability of hippocampal pyramidal cells during sharp-wave

ripples. The pattern of correlations during REM sleep seem to change compared to WK and SWS. The prominent theta rhythm in the HPC during REM sleep probably explains the lack of correlations of the ESP with local delta activity. However, delta activity in the NAc is positively correlated with the ESP slopes in the HPC, indicating that rhythms recorded outside the HPC may modulate the SC-CA1 synaptic transmission. Curiously, HF power in the NAc and in CA3 during REM sleep is associated with decreased slope in the SC-CA1 ESP. We can hypothesize that these HF events during REM sleep might reflect high gamma bursts, possibly caused by an increased firing of GABAergic interneurons, leading to an increased synaptic inhibition. In conclusion, it appears that the synaptic transmission is not only determined by the different neuromodulator influence between vigilance states but can also be dynamically regulated by local oscillatory phenomenon. We know that a great variety of neurons modulate their firing probability according to the phase of ongoing LFP oscillations (Somogyi *et al.*, 2014). As it is the case with neuronal firing rates, the phase of local oscillations is modulating synaptic transmission in anesthetized rats (Schall *et al.*, 2008). As observed with preliminary analysis (data not shown), this phenomenon is likely to occur in our freely-moving rats. In consequence, these rhythmic modulations of synaptic transmission might be one of the mechanisms providing communication windows between structures, as it has been proposed by the communication through coherence theory (Fries, 2005). Therefore, the different oscillations occurring in the sleep-wake cycle might gate the communication between different structures in order to achieve different functions on memory processing. The synchronization of oscillatory phenomenon generated in different part of the brain, like slow oscillations, spindles, and sharp wave-ripples (Mölle *et al.*, 2006, 2009) may thus modulate synaptic transmission between different networks. The synaptic homeostasis hypothesis (SHY) poses that SWS promotes a global synaptic downscaling by the way of a slow-oscillation-dependent LTD mechanism (Tononi and Cirelli, 2014). From an

electrophysiological perspective, Tononi's group most striking results come from recordings in the frontal cortex (Vyasowskiy *et al.*, 2007, 2008). At the Fx-mPFC synapse, our results indicate that synaptic transmission progressively decays during SWS episodes and are thus in agreement with the SHY. However, the phenomenon Tononi described could be restricted to the frontal cortex as, at the SC-CA1 synapse, our results indicate that SWS episodes does not decrease but enhance synaptic transmission. At this synapse, as well as in the Fx-NAc synapse, a downscaling appears during the course of REM sleep episodes (ie: during the first third compared to the other thirds of each REM sleep episodes). Other theories have also suggested that REM sleep may promote synaptic consolidation of previously reactivated memories (Hasselmo, 1999; Diekelmann and Born, 2010). However, the dissociations we found between synapses regarding the effect of REM sleep also indicate that this sleep state may not exert the same effect throughout the brain. More generally, current theories might be too schematic in attributing a global role to one brain state. In the future, discrepancies between conflicting theories on sleep's role might be resolved by comparing the effect of sleep states in different pathways or structures. A better knowledge about sleep's role in learning thus implies to further investigate the modulation of synaptic transmission in the complex networks associated with memory. Different neuromodulators can exert an opposed effect in distinct pathways, and potentially reconfigure the brain connectivity during sleep. At a shorter timescale, oscillations may also gate the synaptic transmission between distinct structures, allowing the formation of neuronal assemblies (Fries, 2005). Beside neuronal spikes studies, the analysis of synaptic transmission and its interactions with brain rhythms might provide new answers regarding sleep-dependent effects on memory.

## References

- Allison, T., and Goff, G. (1968). Potentials Evoked in Somatosensory Cortex to Thalamocortical Radiation Stimulation During Waking Sleep and Arousal from Sleep. *Arch. Ital. Biol.* *106*, 41.
- Allison, T., Goff, G., and Goff, W. (1968). Somatic Cerebellar Evoked Responses During Waking and Sleep. *Psychophysiology* *5*, 242.
- Amaral, D.G., Dolorfo, C., and Alvarez-Royo, P. (1991). Organization of CA1 projections to the subiculum: A PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* *1*, 415–435.
- Benchenane, K., Peyrache, A., Khamassi, M., Tierney, P.L., Gioanni, Y., Battaglia, F.P., and Wiener, S.I. (2010). Coherent Theta Oscillations and Reorganization of Spike Timing in the Hippocampal-Prefrontal Network upon Learning. *Neuron* *66*, 921–936.
- Bliss, T., and Lomo, T. (1973). Long-Lasting Potentiation of Synaptic Transmission in Dentate Area of Anesthetized Rabbit Following Stimulation of Perforant Path. *J. Physiol.-London* *232*, 331–356.
- Boeijinga, P.H., Mulder, A.B., Pennartz, C.M.A., Manshanden, I., and da Silva, F.H.L. (1993). Responses of the nucleus accumbens following fornix/fimbria stimulation in the rat. Identification and long-term potentiation of mono- and polysynaptic pathways. *Neuroscience* *53*, 1049–1058.
- Buzsáki, G., and Draguhn, A. (2004). Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science* *304*, 1926–1929.
- Chauvette, S., Seigneur, J., and Timofeev, I. (2012). Sleep Oscillations in the Thalamocortical System Induce Long-Term Neuronal Plasticity. *Neuron* *75*, 1105–1113.
- Crochet, S., and Petersen, C.C.H. (2006). Correlating whisker behavior with membrane potential in barrel cortex of awake mice. *Nat Neurosci* *9*, 608–610.
- Dahan, L., Astier, B., Vautrelle, N., Urbain, N., Kocsis, B., and Chouvet, G. (2007). Prominent burst firing of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area during paradoxical sleep. *Neuropsychopharmacology* *32*, 1232–1241.
- Diekelmann, S., and Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci* *11*, 114–126.
- Ferretti, V., Rouillet, P., Sargolini, F., Rinaldi, A., Perri, V., Fabbro, M.D., Costantini, V.J.A., Annese, V., Scesa, G., Stefano, M.E.D., *et al.* (2010). Ventral striatal plasticity and spatial memory. *PNAS* *107*, 7945–7950.
- Floresco, S.B., West, A.R., Ash, B., Moore, H., and Grace, A.A. (2003). Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci* *6*, 968–973.

Fries, P. (2005). A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends in Cognitive Sciences* 9, 474–480.

Fujisawa, S., and Buzsáki, G. (2011). A 4 Hz Oscillation Adaptively Synchronizes Prefrontal, VTA, and Hippocampal Activities. *Neuron* 72, 153–165.

Goto, Y., and Grace, A.A. (2005). Dopamine-dependent interactions between limbic and prefrontal cortical plasticity in the nucleus accumbens: Disruption by cocaine sensitization. *Neuron* 47, 255–266.

Grosmark, A.D., Mizuseki, K., Pastalkova, E., Diba, K., and Buzsáki, G. (2012). REM Sleep Reorganizes Hippocampal Excitability. *Neuron* 75, 1001–1007.

Hasselmo, M.E. (1999). Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences* 3, 351–359.

Hutchison, I.C., and Rathore, S. (2015). The role of REM sleep theta activity in emotional memory. *Front. Psychol.* 6, 1439.

Jouvet, M. (1965). Paradoxical Sleep--a Study of Its Nature and Mechanisms. *Progress in Brain Research* 18, 20–62.

Kametani, H., and Kawamura, H. (1990). Alterations in acetylcholine release in the rat hippocampus during sleep-wakefulness detected by intracerebral dialysis. *Life Sciences* 47, 421–426.

Karashima A., Nakao M., Katayama N., Honda K. (2005). Instantaneous acceleration and amplification of hippocampal theta wave coincident with phasic pontine activities during REM sleep. *Brain Research* 1051: 50–56.

Kopp, C., Longordo, F., Nicholson, J.R., and Luethi, A. (2006). Insufficient sleep reversibly alters bidirectional synaptic plasticity and NMDA receptor function. *J. Neurosci.* 26, 12456–12465.

Lansink, C.S., Goltstein, P.M., Lankelma, J.V., Joosten, R.N.J.M.A., McNaughton, B.L., and Pennartz, C.M.A. (2008). Preferential Reactivation of Motivationally Relevant Information in the Ventral Striatum. *J. Neurosci.* 28, 6372–6382.

Lansink, C.S., Goltstein, P.M., Lankelma, J.V., McNaughton, B.L., and Pennartz, C.M.A. (2009). Hippocampus Leads Ventral Striatum in Replay of Place-Reward Information. *PLoS Biol* 7, e1000173.

Lansink, C.S., Jackson, J.C., Lankelma, J.V., Ito, R., Robbins, T.W., Everitt, B.J., and Pennartz, C.M.A. (2012). Reward Cues in Space: Commonalities and Differences in Neural Coding by Hippocampal and Ventral Striatal Ensembles. *J. Neurosci.* 32, 12444–12459.

Léna, I., Parrot, S., Deschaux, O., Muffat-Joly, S., Sauvinet, V., Renaud, B., Suaud-Chagny, M.-F., and Gottesmann, C. (2005). Variations in extracellular levels of dopamine, noradrenaline, glutamate, and aspartate across the sleep–wake cycle in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of freely moving rats. *J. Neurosci. Res.* 81, 891–899.

Leung, L. (1980). Behavior-dependent evoked potentials in the hippocampal CA1 region of the rat. I. Correlation with behavior and egg. *Brain Research* 198, 95–117.

Levita, L., Dalley, J.W., and Robbins, T.W. (2002). Disruption of Pavlovian contextual conditioning by excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core. *Behavioral Neuroscience* 116, 539–552.

Li, S.M., Cullen, W.K., Anwyl, R., and Rowan, M.J. (2003). Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nat. Neurosci.* 6, 526–531.

Lisman, J.E., and Grace, A.A. (2005). The Hippocampal-VTA Loop: Controlling the Entry of Information into Long-Term Memory. *Neuron* 46, 703–713.

Malcolm, L.J., Bruce, I.S.C., and Burke, W. (1970). Excitability of the lateral geniculate nucleus in the alert, non-alert and sleeping cat. *Exp Brain Res* 10, 283–297.

Maloney, K.J., Mainville, L., and Jones, B.E. (2002). c-Fos expression in dopaminergic and GABAergic neurons of the ventral mesencephalic tegmentum after paradoxical sleep deprivation and recovery. *Eur. J. Neurosci.* 15, 774–778.

Marrosu, F., Portas, C., Mascia, M.S., Casu, M.A., Fà, M., Giagheddu, M., Imperato, A., and Gessa, G.L. (1995). Microdialysis measurement of cortical and hippocampal acetylcholine release during sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain Research* 671, 329–332.

Mele, A., Avena, M., Roullet, P., De Leonibus, E., Mandillo, S., Sargolini, F., Coccorello, R., and Oliverio, A. (2004). Nucleus accumbens dopamine receptors in the consolidation of spatial memory. *Behav. Pharmacol.* 15, 423–431.

Mölle, M., Yeshenko, O., Marshall, L., Sara, S.J., and Born, J. (2006). Hippocampal Sharp Wave-Ripples Linked to Slow Oscillations in Rat Slow-Wave Sleep. *Journal of Neurophysiology* 96, 62–70.

Mölle, M., Eschenko, O., Gais, S., Sara, S.J., and Born, J. (2009). The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *European Journal of Neuroscience* 29, 1071–1081.

Montgomery SM., Sirota A., Buzsáki G. (2008). Theta and Gamma Coordination of Hippocampal Networks during Waking and Rapid Eye Movement Sleep. *J Neurosci* 28: 6731–6741.

Mulder, A.B., Arts, M.P.M., and daSilva, F.H.L. (1997). Short- and long-term plasticity of the hippocampus to nucleus accumbens and prefrontal cortex pathways in the rat, in vivo. *Eur. J. Neurosci.* 9, 1603–1611.

Noda, H., Manohar, S., and Adey, W.R. (1969). Spontaneous activity of cat hippocampal neurons in sleep and wakefulness. *Experimental Neurology* 24, 217–231.

Otmakhova, N.A., and Lisman, J.E. (1999). Dopamine selectively inhibits the direct cortical pathway to the CA1 hippocampal region. *J. Neurosci.* 19, 1437–1445.

Pennartz, C.M., and Kitai, S.T. (1991). Hippocampal inputs to identified neurons in an in vitro slice preparation of the rat nucleus accumbens: evidence for feed-forward inhibition. *J. Neurosci.* *11*, 2838–2847.

Pennartz, C.M.A., Lee, E., Verheul, J., Lipa, P., Barnes, C.A., and McNaughton, B.L. (2004). The ventral striatum in off-line processing: Ensemble reactivation during sleep and modulation by hippocampal ripples. *J. Neurosci.* *24*, 6446–6456.

Pohlack, S.T., Nees, F., Ruttorf, M., Schad, L.R., and Flor, H. (2012). Activation of the ventral striatum during aversive contextual conditioning in humans. *Biological Psychology* *91*, 74–80.

Rasch, B., and Born, J. (2013). About Sleep's Role in Memory. *Physiological Reviews* *93*, 681–766.

Ravassard, P., Hamieh, A.M., Joseph, M.A., Fraize, N., Libourel, P.-A., Lebarillier, L., Arthaud, S., Meissirel, C., Touret, M., Malleret, G., Salin P-A. (2016). REM Sleep-Dependent Bidirectional Regulation of Hippocampal-Based Emotional Memory and LTP. *Cereb Cortex* *26*: 1488–1500.

Rodriguez-Romaguera, J., Monte, F.H.M.D., and Quirk, G.J. (2012). Deep brain stimulation of the ventral striatum enhances extinction of conditioned fear. *PNAS* *109*, 8764–8769.

Sakai K., Sano K., Iwahara S. (1973). Eye movements and hippocampal theta activity in cats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* *34*: 547–549.

Sano K., Iwahara S., Senba K., Sano A., Yamazaki S. (1973). Eye movements and hippocampal theta activity in rats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* *35*: 621–625.

Sargolini, F., Roullet, P., Oliverio, A., and Mele, A. (1999). Effects of lesions to the glutamatergic afferents to the nucleus accumbens in the modulation of reactivity to spatial and non-spatial novelty in mice. *Neuroscience* *93*, 855–867.

Schall, K.P., and Dickson, C.T. (2010). Changes in hippocampal excitatory synaptic transmission during cholinergically induced theta and slow oscillation states. *Hippocampus* *20*, 279–292.

Schall, K.P., Kerber, J., and Dickson, C.T. (2008). Rhythmic Constraints on Hippocampal Processing: State and Phase-Related Fluctuations of Synaptic Excitability During Theta and the Slow Oscillation. *Journal of Neurophysiology* *99*, 888–899.

Segal, M. (1978). A correlation between hippocampal responses to interhemispheric stimulation, hippocampal slow rhythmic activity and behaviour. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* *45*, 409–411.

Sesack, S.R., and Grace, A.A. (2010). Cortico-Basal Ganglia Reward Network: Microcircuitry. *Neuropsychopharmacology* *35*, 27–47.

Shu, Y., Hasenstaub, A., Duque, A., Yu, Y., and McCormick, D.A. (2006). Modulation of intracortical synaptic potentials by presynaptic somatic membrane potential. *Nature* *441*, 761–765.

Siapas, A.G., and Wilson, M.A. (1998). Coordinated Interactions between Hippocampal Ripples and Cortical Spindles during Slow-Wave Sleep. *Neuron* *21*, 1123–1128.

Somogyi, P., Katona, L., Klausberger, T., Lasztóczy, B., and Viney, T.J. (2014). Temporal redistribution of inhibition over neuronal subcellular domains underlies state-dependent rhythmic change of excitability in the hippocampus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* *369*, 20120518.

Tononi, G., and Cirelli, C. (2014). Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron* *81*, 12–34.

Vyazovskiy, V.V., Riedner, B.A., Cirelli, C., and Tononi, G. (2007). Sleep homeostasis and cortical synchronization: II. A local field potential study of sleep slow waves in the rat. *Sleep* *30*, 1631–1642.

Vyazovskiy, V.V., Cirelli, C., Pfister-Genskow, M., Faraguna, U., and Tononi, G. (2008). Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nat Neurosci* *11*, 200–208.

Wagner, U., Gais, S., and Born, J. (2001). Emotional Memory Formation Is Enhanced across Sleep Intervals with High Amounts of Rapid Eye Movement Sleep. *Learn. Mem.* *8*, 112–119.

Westbrook, R.F., Good, A.J., and Kiernan, M.J. (1997). Microinjection of morphine into the nucleus accumbens impairs contextual learning in rats. *Behav. Neurosci.* *111*, 996–1013.

Wester, J.C., and Contreras, D. (2013). Differential Modulation of Spontaneous and Evoked Thalamocortical Network Activity by Acetylcholine Level In Vitro. *J. Neurosci.* *33*, 17951–17966.

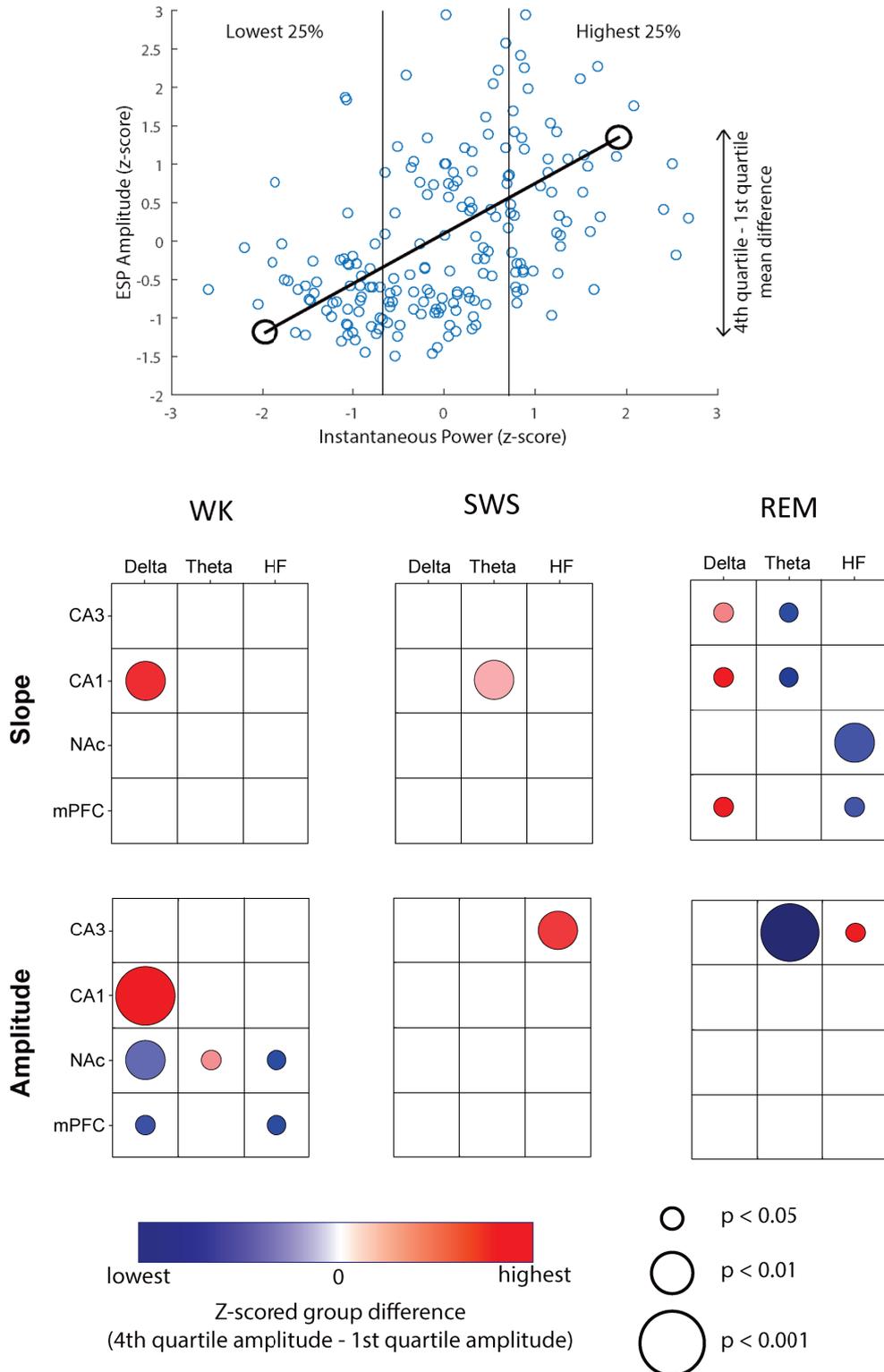
Whitlock, J.R., Heynen, A.J., Shuler, M.G., and Bear, M.F. (2006). Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* *313*, 1093–1097.

Wierzynski, C.M., Lubenov, E.V., Gu, M., and Siapas, A.G. (2009). State-Dependent Spike-Timing Relationships between Hippocampal and Prefrontal Circuits during Sleep. *Neuron* *61*, 587–596.

Winson, J., and Abzug, C. (1977). Gating of Neuronal Transmission in Hippocampus - Efficacy of Transmission Varies with Behavioral State. *Science* *196*, 1223–1225.

Supplementary data

Supplementary Figure 1:



In this supplementary figure, as in figure 7, we examined the relationship between SC-CA1 ESP and the instantaneous power of local oscillations before stimulation. In the analysis presented in this figure, we took all the responses of all the 6 rats included. Lowest and highest quartiles of instantaneous power were then defined and we computed the mean ESP amplitude from these two quartiles, for each rat (Fig. S1A). We applied these measures in each band, structure and vigilance states. In each band, we then obtained group samples for the lowest and highest quartiles. We finally performed a bootstrap procedure by pooling randomly the mean values of the highest and lowest quartiles and random group differences were thus obtained. We repeated this procedure 10,000 times and evaluated the percentage of random group differences above the real difference of the group in order to have an estimate of the probability that the observed differences were due to random variations (Fig S1B). This method gave rise to similar results as in figure 7. In figure 7, the analysis was the following: equal number of samples were randomly selected from each animals and the linear regression were performed in the pooled z-scored samples for the whole group (see methods).

However, some differences could be found between these two methods of analysis. Although in figure 7 the SC-CA1 ESP was correlated with CA3 and CA1 during WK, on figure S1B we can see that this correlation is strong but limited to CA1. Moreover, negative correlations appeared between NAc and mPFC delta power and SC-CA1 amplitude. Furthermore, no more significant correlation was observed during SWS between the ESP and delta rhythm, but there was a positive correlation between theta and SC-CA1 slope as well as between CA3 HF and SC-CA1 amplitude. Once again the correlation pattern seems to change in REM sleep. Whereas there were positive correlations between delta power in CA3, CA1 and mPFC with the ESP slope, no such correlation was observed for the amplitude. However a strong negative correlation was observed between CA3 theta and the ESP amplitude. Negative correlations were also observed between the slope and the theta power in CA3 and

CA1. Finally, as in figure 7, we found an opposed modulation of the HF band on the slope and the amplitude. Whereas NAc and mPFC HF power negatively correlated with the SC-CA1 slope, CA3 HF corresponded to increased ESP amplitude. Overall, the pattern of correlation was similar and the two strongest correlations in S1B ( $p < 0.001$ ) were also found in figure 7.

# **Discussion générale**

Ces dernières années, la communauté scientifique a acquis une somme considérable de données suggérant que la plasticité synaptique de longue durée pourrait sous-tendre la formation de nouveaux souvenirs (Martin *et al.*, 2000; cependant voir Gallistel et Matzel, 2013). Dans le même temps, une littérature bourgeonnante commence à préciser l'action du sommeil sur la mémoire et à montrer l'effet des oscillations du sommeil sur la consolidation. En revanche, la compréhension du rôle du sommeil sur la mémoire se heurte à une grande hétérogénéité de résultats, concernant notamment les phénomènes oscillatoires impliqués, le type d'apprentissage concerné, ou les effets respectifs du SL et du SP par exemple. Les travaux que nous avons réalisés en première année de thèse contribuent à expliquer cette hétérogénéité. Nous avons observé des différences, qualitatives et quantitatives, dans les modifications du sommeil entraînées par des tâches comportementales distinctes, réalisées dans les mêmes conditions expérimentales. Cela tend donc à confirmer que différents attributs du sommeil impactent des aspects mnésiques distincts, que sont, dans notre étude, la mémoire de référence d'une part, et la mémoire de travail, avec différents degrés d'interférence, d'autre part. Lors de la deuxième partie de cette thèse, nous avons démontré, grâce à une autre approche, que la transmission synaptique évoluait différemment au cours du cycle veille-sommeil selon la synapse du réseau limbique considérée. Ainsi, ce travail aura permis de préciser sensiblement notre connaissance des mécanismes par lesquels le sommeil participe au bon fonctionnement de la mémoire et contribuera, nous l'espérons, à affiner les différentes théories, parfois trop générales au regard de la complexité des phénomènes que nous avons pu observer. Ceci aussi bien en terme de type d'apprentissage, que de structures cérébrales considérées. Nous allons donc essayer ici de discuter l'apport de nos travaux par rapport à ces théories et aux études qui les sous-tendent.

Pour cette partie, nous commencerons par traiter la première étude. Après avoir explicité l'intérêt et la nouveauté de celle-ci, nous discuterons des différents résultats obtenus dans ces travaux, comme le rôle du SP et du thêta phasique en MR. Nous aborderons ensuite le rôle du SL et des OL dans la gestion des interférences en mémoire de travail. Puis, nous examinerons le rôle des oscillations phasiques du SL dans la mémoire, avant de terminer cette partie par un résumé des résultats obtenus. Ensuite, nous aborderons la deuxième étude en commençant par souligner l'intérêt de celle-ci au regard de nos résultats précédents et de la littérature. Nous évoquerons la mise au point et les difficultés techniques rencontrées dans la mise en œuvre de ce projet. Nous discuterons dans la partie suivante nos résultats relatifs aux différences de transmissions synaptiques obtenues entre les différentes voies et les différents états de

vigilance. Nous poursuivrons en évoquant les implications possibles de ces différences, en s'attardant notamment sur les rôles probables du SP et de la dopamine dans le traitement de la mémoire émotionnelle, puis en invoquant les neuromodulateurs possiblement impliqués dans les différences observées. Enfin, nous traiterons des modulations dynamiques que nous avons constatées au cours des états de vigilance, en nous attardant sur les différences et les similarités de nos résultats avec la littérature portant sur ce sujet. Nous finirons cette partie par un bref résumé de ce travail. La partie suivante portera sur les perspectives ouvertes par cette étude, d'abord en termes d'analyses à réaliser, puis sur les expériences nécessaires afin de répondre à certaines questions restant en suspens. Pour finir, nous présenterons une conclusion générale portant sur l'ensemble de nos deux études.

## *1. Première étude*

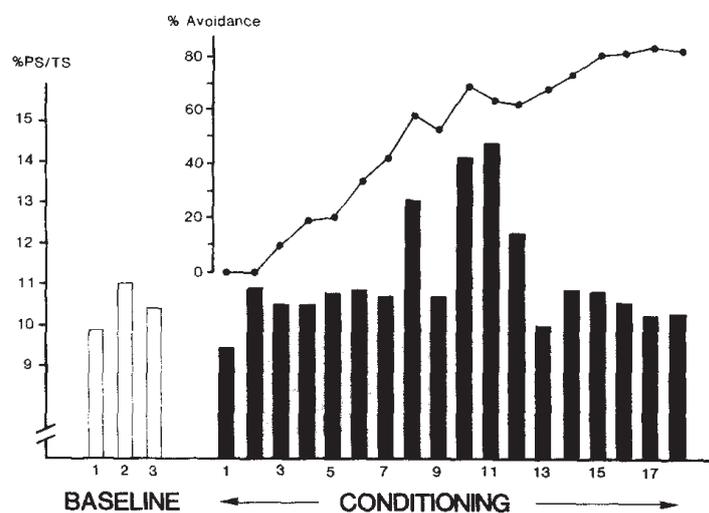
### *1.1. Un paradigme expérimental permettant des comparaisons nouvelles*

Le caractère inédit de l'étude que nous avons réalisée en première année de thèse réside dans les différents protocoles expérimentaux utilisés. En effet, notre équipe développe depuis plusieurs années ce paradigme expérimental original, dans lequel les rats réalisent différentes tâches de mémoire spatiale au sein du même labyrinthe radial à huit bras. Les trois types de tâches réalisées par les rats (Mémoire de Référence [MR], Mémoire de Travail à Haut niveau d'Interférences [MTHI] et Mémoire de Travail à Faible niveau d'Interférences [MTFI]) ainsi que la tâche contrôle, n'impliquant aucun type de mémoire, présentent l'avantage d'être réalisées au sein du même environnement spatial, ainsi que de présenter des caractéristiques identiques en terme de motricité et de récompense alimentaire. Ce paradigme nous permet donc véritablement de comparer l'effet de protocoles expérimentaux qui sont différenciés seulement par leur composante mnésique. Pour rappel, la tâche de MR nécessite d'apprendre sur le long terme l'emplacement de deux récompenses alimentaires placées au bout des mêmes bras tout au long des 10 jours de la tâche. En revanche, lors des tâches de mémoire de travail, l'emplacement des récompenses change très régulièrement et le rat doit, lors de la phase de test, choisir entre les deux bras ouverts, celui qui n'a pas été visité lors de la phase de présentation. Ce type de tâche s'appuie donc sur la propension innée du rat à l'alternance spontanée. Ainsi ces tâches de mémoire de travail pourraient s'apparenter à un labyrinthe en T, dont il diffère cependant fortement du fait de la dimension spatiale

qu'impliquent nos tâches. En effet, le labyrinthe radial nous permet de changer le bras de départ du rat, y compris entre la phase de présentation et de test, et, combiné au nettoyage au chiffon humide permettant un brouillage olfactif, ceci nous permet de nous assurer que les rats se basent bien sur des informations spatiales et qu'ils utilisent donc une stratégie allocentrique et non égocentrique. Une des avancées majeures permise par notre équipe et ayant donné lieu à nos travaux réside globalement dans le fait que les informations stockées en mémoire de travail peuvent s'accumuler, et donc être stockées sur le long terme, perturbant ainsi la réussite des essais ultérieurs de tâche de mémoire de travail. L'idée d'une mémoire à court terme totalement dissociable de la mémoire à long terme serait donc purement théorique. De ce fait, l'oubli des informations relatives aux essais précédents jouerait donc un rôle adaptatif, améliorant les performances des essais subséquents, en diminuant la charge des interférences pro-actives. Ainsi, pour la tâche de MTHI, nous augmentons la quantité d'interférences pro-actives et donc la nécessité de traiter ces interférences, favorisant ainsi l'oubli adaptatif par rapport à la tâche de MTFI. Des travaux récents de notre équipe ont d'ailleurs confirmé que les interférences pro-actives générées par les essais préalables, réalisés systématiquement dans la même paire de bras du labyrinthe, sont directement liées à la proximité spatiale des deux bras (45°). En effet, en effectuant les mêmes tâches (MTFI et MTHI) sur des bras séparés à 90° et non à 45° comme précédemment, nous n'avons plus observé de baisse des performances en MTHI lors des derniers jours de la tâche (Missaire *et al.*, 2017). L'absence d'effet des interférences pro-actives dans ce cas s'expliquerait par la moindre nécessité de faire appel au phénomène de « *pattern-separation* » pour dissocier les deux bras au cours du même essai, diminuant vraisemblablement le nombre d'essais très similaires en mémoire. Pour reprendre l'analogie présentée en Introduction, si vous gardez votre voiture dans le même grand parking tous les jours, vous pourriez donc plus facilement perdre celle-ci, si vous vous gardez systématiquement dans le même coin du parking, que si vous vous gardez chaque jour à des endroits très différents. Cette étude confirme donc que la similarité de l'information spatiale entre les différents essais en MTHI est responsable d'une accumulation, sur le long terme, de souvenirs liés à la tâche de mémoire de travail interférant avec les essais des derniers jours. Ce paradigme nous a donc permis, pour la première fois, de comparer rigoureusement l'effet de tâches de mémoire de travail ou de MR sur le sommeil. Plus important encore, ces tâches nous ont permis d'examiner les modifications du sommeil induites par des paradigmes impliquant ou non un oubli adaptatif, chez le rongeur.

## 1.2. Un rôle transitoire du SP dans l'acquisition de la tâche de MR

Un des aspects les plus frappants concernant les modifications du sommeil après la tâche de MR concerne l'augmentation transitoire de la quantité de SP, qui n'est significative qu'au cinquième jour de l'apprentissage. Si, par le passé, de nombreuses études ont montré une augmentation transitoire du SP après un apprentissage, notamment émotionnel (pour revue voir Hennevin *et al.*, 1974, 1995; Hutchison et Rathore, 2015), il est légitime de se demander pourquoi cette augmentation n'a lieu qu'au cinquième jour de la tâche de MR. Premièrement, il est à noter que les augmentations de quantité de SP précédemment constatées dans la littérature sont, elles aussi, transitoires, et ont généralement lieu le jour suivant l'acquisition de la tâche, avant de revenir à des valeurs normales les jours suivants (Hennevin *et al.*, 1995). Dans la **figure 10**, nous pouvons ainsi observer que lors d'un conditionnement d'évitement réalisé sur plusieurs jours, la proportion de SP par rapport au sommeil total augmente entre le 8<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour d'apprentissage, soit au milieu de la sigmoïde décrite par la courbe d'apprentissage.



**Figure 10: Effet d'un conditionnement d'évitement sur le SP subséquent.** Pendant 18 jours consécutifs avec seulement 6 essais chaque jour, les rats (n=15) ont été entraînés dans une tâche d'évitement de choc en navette à deux voies (« two-way shuttle shock-avoidance task ») pendant laquelle un son signalait le choc. Après chaque session d'entraînement, leurs états de vigilance ont été enregistrés pendant 2h et comparé avec les jours pré-conditionnement, aux mêmes heures, sur les 3 jours précédant l'apprentissage. Les barres blanches représentent la quantité de SP (Ratio du total de SP sur le temps total passé en sommeil x 100) obtenue sur les 3 jours de base ; les barres noires représentent la quantité de SP obtenue après chaque session de conditionnement. La courbe d'apprentissage figure au dessus des barres. Noter que l'augmentation de SP a lieu seulement entre le 8<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> jour de conditionnement. Avant et après cette étape de l'acquisition, les quantités de SP ne diffèrent pas de la ligne de base. (D'après Hennevin *et al.*, 1995)

Nous avons par ailleurs montré, dans la partie Résultats, que les animaux ont des performances différant significativement du niveau chance à partir du cinquième jour, qui, dans notre cas, correspond plutôt au début du segment ascendant de la courbe d'apprentissage. Il semble donc, qu'à l'échelle du groupe, ce jour soit celui où les rats comprennent la règle de la tâche, tout en continuant à s'améliorer les jours suivants. Ainsi, cette augmentation transitoire de SP pourrait être en relation avec un processus hors-ligne de consolidation lié à l'apprentissage de la règle de la tâche, contribuant à l'amélioration des performances ultérieures, sans qu'une augmentation du SP soit nécessaire par la suite. Il se pourrait par exemple qu'après avoir consolidé la règle de la tâche via une augmentation de la quantité de SP, l'amélioration des performances ultérieures reposent plus sur les SW-R ou les fuseaux du SL, permettant une éventuelle consolidation systémique. Un autre indice, immunohistologique, nous laisse penser qu'avant ce cinquième jour, malgré une très légère augmentation des performances, le cerveau des rats n'est pas engagé dans un processus de consolidation de la tâche de MR. En effet, en comparant le cerveau de rats effectuant les différentes tâches après 4 ou 10 jours de comportement dans nos trois protocoles, ainsi que ceux des rats contrôles, notre équipe a montré qu'il n'y avait pas d'activation supérieure des gènes immédiats précoces Fos et Zif268 chez les rats MR par rapport aux rats contrôles à 4 jours. En revanche, à 10 jours, nous avons constaté un marquage Fos significativement supérieur chez les rats MR dans le GD, CA3, et dans le LEC ; alors que le marquage Zif268 montrait une activation supérieure aux rats contrôles, seulement chez les rats sacrifiés après 10 jours de MR, au sein des trois sous-régions hippocampiques (GD, CA3, CA1) ainsi qu'au niveau du LEC et du CPFm (Thèse de Mickaël Joseph, 2014). Cela suggère que les rats n'ont pas acquis les règles de la tâche de MR au quatrième, et que l'augmentation du SP au cinquième jour pourrait donc constituer un des marqueurs biologiques de cet apprentissage. Au vu de nos données, nous pourrions enfin spéculer qu'un marquage Fos et/ou Zif268 plus important serait observé dans certaines régions du cerveau (peut-être hippocampiques dans un premier temps) des rats engagés en MR et sacrifiés après le cinquième jour de la tâche, par rapport à leurs contrôles respectifs.

### 1.3. Apprentissage spatial en MR et thêta phasique

Outre l'augmentation de la quantité de SP que nous avons observée au cinquième jour chez les rats engagés dans la tâche de MR, nous avons également pu observer une corrélation positive entre la durée des bouffées d'oscillations phasiques du SP (appelées thêta phasique dans l'article), et les performances au jour suivant. Ces oscillations particulières, proche de la fréquence sigma et représentant environ 5% de la durée du SP, ont fait l'objet de peu d'études. Cependant, elles ont été récemment particulièrement bien décrites au niveau hippocampique par Montgomery et collaborateurs (2008). Ces auteurs ont observé, tout comme nous, une cooccurrence de bouffées d'oscillations, plus rapides et plus amples que le thêta tonique, et de bouffées d'oscillations gamma. Au sein de ces épisodes phasiques, ils décrivent une plus grande synchronisation gamma au sein de l'HPC et émettent l'hypothèse d'une communication renforcée, au sein de l'HPC, mais aussi entre l'HPC et ses efférences. Comme nous l'avons mentionné en introduction, il est probable que ces bouffées de thêta phasique trouvent leur origine dans les ondes PGO ou ondes pontiques (P, voir la partie ***Oscillations du SP et mémoire***). A notre connaissance, nos travaux rapportent la première relation directe entre le thêta phasique du SP et les performances d'apprentissage. Auparavant, ce sont les ondes P ou PGO qui avaient été plusieurs fois impliquées, parfois de manière causale, dans l'apprentissage. De plus, ces relations n'avaient été établies qu'avec des conditionnement aversifs puissants comme l'évitement actif, passif, le conditionnement de peur au contexte, ou l'extinction de ce conditionnement (Datta, 2000; Datta *et al.*, 2008, Datta et O'Malley, 2013). Les ondes P et les bouffées de thêta phasique étant coïncidentes chez le rat (sans qu'ait été démontré une relation de causalité entre ces deux phénomènes [Karashima *et al.*, 2005]), il est probable que l'une ou l'autre de ces oscillations, ou la synergie entre les deux, soient impliqués dans une variété d'apprentissage beaucoup plus importante que l'on ne le pensait jusqu'à présent. Enfin, nous nous devons de mentionner qu'outre l'amygdale, où ce thêta phasique fut décrit dans une seule publication (Karashima *et al.*, 2010), nous avons observé, dans la deuxième partie de notre thèse, ces bouffées de thêta phasique également dans le NAc et le CPFm (nous reviendrons sur ce point dans la discussion). Il est également intéressant de noter qu'au contraire des rongeurs, chez qui le thêta tonique est observable pendant toute la durée du SP, seuls des épisodes phasiques de thêta sont détectables par des enregistrements sub-duraux et intra-cérébraux lors du SP chez l'humain (Cantero *et al.*, 2003). Il est donc permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle ces bouffées de thêta phasique,

représentant à peine 5% de la durée des épisodes de SP, seraient peut être à elles-seules responsables de la majorité des effets pro-mnésiques associés à cet état de sommeil. A l'avenir, des études plus systématiques, portant à la fois sur les mécanismes de génération, de propagation, et de contrôle de ces oscillations, mais aussi sur leur implication précise dans l'apprentissage et la consolidation, nous paraissent essentielles à une meilleure compréhension du rôle du SP sur la mémoire.

#### *1.4. Sommeil Lent et gestion des interférences.*

De manière attendue, nous n'avons pas observé de modification significative des quantités de SL entre les trois tâches testées et les contrôles. En revanche, nous avons observé différentes corrélations entre les performances et les attributs du SL. En considérant les 10 jours de la tâche, nous avons observé une corrélation positive entre la quantité de SL et les performances du jour suivant, seulement en MTHI. En examinant cette corrélation de plus près, nous pouvons voir que celle-ci n'est obtenue que les 4 premiers jours de la tâche, quand les performances des rats en MTHI sont encore au même niveau que celles des rats en MTFI; alors que nous ne la retrouvons pas lors des 4 derniers jours, au cours desquelles nous observons la dégradation des performances en MTHI. Une hypothèse envisageable serait que les animaux faisant le plus de SL au cours des premiers jours de MTHI seraient mieux à même de gérer les interférences pro-actives générées au cours des jours précédents, alors que l'accumulation trop importante des interférences, lors des derniers jours de MTHI, entraîne irrémédiablement une dégradation des performances, quelle que soit la quantité de SL la nuit précédant la tâche. Afin de tester cette hypothèse, il serait intéressant d'examiner ces corrélations lorsque la similarité entre les essais diminue en MTHI (bras écartés de 90° au lieu de 45°), et que les interférences pro-actives sont correctement gérés par les rats sur les 10 jours de la tâche (Missaire *et al.*, 2017). Si nous retrouvons cette corrélation jusque dans les derniers jours de MTHI dans cette configuration, cela constituerait un indice de plus montrant que les quantités de SL sont bien associées à la bonne gestion des interférences générées les jours précédents, et donc que le SL aurait un rôle décisif dans l'oubli adaptatif.

### *1.5. Ondes Lentes et interférences*

Nous pouvons, en tout premier lieu, discuter de notre choix de regrouper OL et bande delta, qui fut pour nous un choix basé sur les spectres observés pendant le SL. En effet, dans cette étude comme dans la suivante, aucun animal ne montre de pic spécifique à la bande delta, ni de distinction entre ces deux bandes, parfois traitées séparément dans la littérature. Nous avons donc, comme dans d'autres travaux, considéré les OL et la bande delta de manière globale, et, comme dans l'introduction, nous nous référerons à l'AOL (0,5-5Hz). Ainsi, nous avons observé que la variation des performances d'un jour à l'autre était corrélée positivement à la variation de puissance spectrale de l'AOL, seulement en MTHI. Une augmentation de l'AOL peut ainsi contribuer à l'amélioration des performances dans cette tâche. Nous pouvons aussi interpréter cette corrélation dans l'autre sens. Il est en effet possible qu'une moins bonne gestion des interférences se reflète dans une diminution de l'amplitude des OL, entraînant ainsi une baisse des performances au jour suivant, car, en MTHI, les performances ont plutôt tendance à diminuer qu'à augmenter d'un jour à l'autre. La combinaison de cette corrélation avec celle retrouvée en MTHI avec la durée du SL constitue donc un faisceau important d'indices montrant l'implication de l'AOL dans la gestion des interférences et/ou l'oubli adaptatif. Ces résultats se trouvent confortés par une étude récente de Binder et collaborateurs (2014) dans laquelle les auteurs produisent, par stimulations électriques transcrâniennes (stimulation transcrânienne à courant direct [tDCS]) sinusoïdales, des OL (qui favorisent le rappel chez l'humain [Marshall *et al.*, 2006]) sur des rats effectuant une tâche en labyrinthe radial. Ces auteurs montrent que l'application exogène d'OL favorise les performances des rats en mémoire de travail, mais pas en mémoire de référence (Binder *et al.*, 2014).

### *1.6. Oscillations phasiques du SL et mémoire.*

Nous avons observé pendant le SL, dans les enregistrements de PCL au niveau hippocampique, des oscillations de hautes fréquences, coordonnées avec des bouffées phasiques dans la bande 10-14Hz. Ces oscillations sont visibles sur les tracés, notamment sous forme d'une forte déflexion négative sur le PCL sur laquelle viennent se superposer des oscillations de hautes fréquences. Ce motif oscillatoire correspond à la description

généralement acceptée d'un complexe fuseau-SW-R (pour revue, voir Buzsaki, 2015). Ces SW-R ont depuis quelques années été particulièrement associées à l'apprentissage (Eschenko *et al.*, 2008; Ramadan *et al.*, 2009; Girardeau *et al.*, 2009, 2014; Buzsaki, 2015), notamment spatial (De Lavilléon *et al.*, 2015), et comprennent en leur sein la relecture de séquences d'activation de cellules de lieux dont le champ récepteur fut parcouru peu de temps auparavant, ou dont l'anticipation d'un trajet à effectuer par le rongeur conduit ces cellules de lieux à s'activer séquentiellement. Nous avons trouvé une augmentation significative de la durée cumulée de ces SW-R dans toutes les tâches mnésiques par rapport aux rats contrôles, sans pour autant observer de modifications dans le nombre cumulé d'évènements. A première vue, cela semble indiquer une augmentation de la durée des SW-R dans nos trois tâches. Or, hormis des interventions pharmacologiques ou optogénétiques, il paraît difficile de trouver dans la littérature des exemples de tâches physiologiques modifiant la durée des SW-R (Buzsaki, 2015). Cependant, des travaux ont montré que de longues séquences comportementales conduisaient à la réactivation séquentielle des cellules de lieux lors de plusieurs SW-R successifs, regroupées en trains rapprochés, alors que de courtes séquences sont entièrement rejouées au sein d'une seule SW-R (Davidson *et al.*, 2009). L'augmentation de durée que nous avons constatée dans le SL suivant nos tâches mnésiques pourrait donc être liée à une plus grande occurrence de SW-R en trains successifs et rapprochés. Notre méthode d'analyse, consistant à détecter le dépassement d'un seuil de puissance spectrale (100-300 Hz) correspondant à deux écarts-types au dessus de la moyenne, par fenêtre glissante, pourrait ne pas être assez sensible au niveau temporel pour détecter les pauses entre deux SW-R successives présentes dans un même train. Il est donc difficile de déterminer si nos tâches mnésiques entraînent une plus grande accumulation de tels trains de SW-R, ou bien, effectivement, un rallongement sensible de la durée des SW-R individuelles. L'affinage des techniques d'enregistrement et de détection des SW-R (par ondelettes par exemple) dans le cadre de ce protocole expérimental pourrait permettre de répondre à cette question. Dans tout les cas, il est intéressant de constater que, les animaux contrôles, n'ayant aucune nécessité d'apprendre la configuration spatiale du labyrinthe pour obtenir des récompenses, ne présentent pas cette augmentation que nous avons aussi bien constaté dans la tâche de MR que dans les tâches de mémoire de travail. Cela semble donc constituer un indice supplémentaire montrant que nos rats effectuant les tâches de mémoire de travail engagent eux aussi des phénomènes neurophysiologiques associés à la formation de mémoire spatiale sur le long terme, pouvant ainsi expliquer la génération progressive d'interférences pro-actives, perturbant l'exécution comportementale lors des derniers jours de MTHI.

Comme nous l'avons mentionné plus haut, une augmentation de la puissance des fuseaux post-apprentissage tout comme une corrélation positive entre le nombre ou la densité des fuseaux et les performances à long terme ont été régulièrement observées aussi bien chez l'homme (Schabus *et al.*, 2004; Clemens *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2006; Holz *et al.*, 2012) que chez le rongeur (Eschenko *et al.*, 2006, Fogel *et al.*, 2009). Le fait que, contrairement aux SW-R, nous n'ayons constaté une augmentation (en nombre d'occurrences) qu'après la tâche de MR pourrait s'expliquer par une plus grande nécessité de transfert hippocampo-cortical pour celle-ci. En effet, le dialogue entre les cellules pyramidales de CA1 et du CPFm, au cours du sommeil, a lieu préférentiellement lors de l'occurrence de SW-R (Wierzynski *et al.*, 2009). De plus, la synchronisation temporelle, provoquée par des stimulations électriques, entre les fuseaux et les SW-R favoriserait un dialogue hippocampo-cortical et entraîne la consolidation d'informations qui ne l'auraient pas été en l'absence de ces stimulations (Maingret *et al.*, 2016). Ainsi, l'augmentation des SW-R constatée dans les trois tâches pourrait donc refléter un phénomène de consolidation synaptique restreint à l'HPC, mais suffisant pour générer les interférences pro-actives. Au contraire, l'apprentissage des deux bras constamment renforcés en MR, et donc, l'apprentissage de la règle, serait permis par un plus fort dialogue entre l'HPC et le néocortex, qui se reflète sous forme d'une augmentation des fuseaux du SL dans nos expériences, que l'on ne retrouve pas pour les tâches de mémoire de travail.

### *1.7. Résumé des résultats obtenus en première année de thèse*

Pour résumer, les expériences menées lors de notre première année de thèse nous auront conduites à plusieurs observations quant aux rôles du sommeil sur la mémoire. Nous avons confirmé que notre tâche de MR induisait une augmentation du SP transitoire, au moment où les rats semblent apprendre la règle. Ensuite, nous avons vu que les quantités de SL, ainsi que l'AOL associée, semblent jouer un rôle dans la gestion des interférences et l'oubli adaptatif. Enfin nous avons montré une augmentation cumulée des SW-R dans nos trois types de tâches, suggérant ainsi que même les tâches de mémoire de travail semblent engager des processus associés à la consolidation d'information au cours du sommeil. Cependant, les fuseaux du SL n'augmentent qu'avec la tâche de MR nous permettant d'émettre l'hypothèse qu'une consolidation systémique vers le néocortex lors du SL n'aurait pas lieu dans nos tâches de mémoire de travail. L'influence du SL et du SP, ainsi que des

oscillations associées, semble donc varier en fonction du type de tâches mnésiques. Ces tâches reposent sur des substrats anatomiques différents (Thèse Mickaël Joseph, 2014). Les travaux de notre équipe ont montré que ces tâches requièrent l'expression de protéines associées à des phénomènes de plasticité synaptique comme CamKII et la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA (Fraize *et al.*, 2017). Dans une autre étude, nous avons également montré que la privation de SP diminue la LTP chez la souris, et que, l'hypersomnie de SP, au contraire, augmente la LTP après un même protocole de stimulation. Il semble donc, en accord avec la littérature (voir la section **Principales Théories**) que les effets mnésiques du sommeil passent par des modifications de la transmission synaptique. Dans ce contexte, il nous a paru intéressant d'observer la dynamique de la transmission synaptique, au cours du sommeil, dans des réseaux choisis pour leur implication dans l'apprentissage.

Dans la partie suivante de la discussion, je commencerai d'abord par exposer les intérêts de cette deuxième étude. Ensuite, j'expliquerai les difficultés techniques auxquelles nous avons dû faire face dans la mise au point de ce projet. Je discuterai ensuite des implications possibles de nos résultats, qui doivent néanmoins être complétés. C'est la raison pour laquelle je poursuivrai en exposant l'intérêt des différentes approches analytiques que nous devons encore appliquer à nos données. Pour terminer, j'exposerai les perspectives envisageables dans la poursuite de ces travaux.

## *II. Deuxième étude*

### *II.1. Intérêts de l'étude au regard de la littérature existante.*

Premièrement, les études antérieures portant sur la variation de la transmission synaptique dans les réseaux mnésiques au cours du sommeil datent pour la plupart d'un certain nombre d'années, quand les capacités d'enregistrement et de traitement du signal étaient encore très limitées. C'est par exemple le cas du travail de Leung (1980), où les seules statistiques portant sur l'amplitude des potentiels évoqués en relation avec les états de vigilance ne proviennent que d'un nombre limité de stimulations chez un seul rat. Nos enregistrements sur des périodes de 24h ou plus, chez un nombre de rat conséquent, nous permettent donc d'étayer les connaissances existantes, et d'en apporter de nouvelles. Le groupe de Buzsáki a néanmoins examiné, dans deux travaux différents, l'évolution du taux de

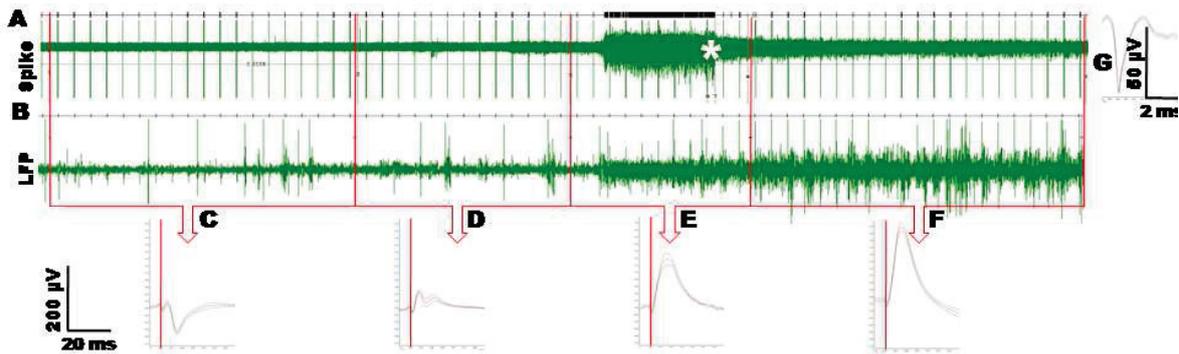
décharge des neurones au cours des épisodes de sommeil sur un nombre conséquent d'enregistrements (Grosmark *et al.*, 2012; Watson *et al.*, 2016). Ces deux articles ont le mérite d'examiner la dynamique du taux de décharge des neurones au cours des épisodes de sommeil, dans deux aires cérébrales associées à la mémoire (HPC pour le premier, cortex préfrontal pour le second). Cependant, ces taux de décharge ne nous renseignent pas directement sur l'évolution de la transmission synaptique dans les réseaux examinés. Par ailleurs, d'autres articles ont tenté d'évaluer l'influence des états de vigilance sur la transmission synaptique par des approches indirectes. Par exemple, Vyazovskiy et collaborateurs (2008), ont examiné la quantité de sous-unités GluA1 des récepteurs AMPA, ou l'état de phosphorylation de ces mêmes récepteurs (Ser<sub>845</sub>) avant et après des périodes riches en éveil ou en SL. Or, ces mesures ne donnent aucune idée de la dynamique de ces modifications, et ne sont pas à même de discriminer les effets du SL de ceux du SP. Ces auteurs ont par ailleurs effectué une mesure de la transmission synaptique inter-hémisphérique (par stimulation transcallosale) mais reproduisent le même biais en n'enregistrant ces potentiels qu'une fois toutes les quatre heures, après des périodes prolongées d'éveil ou de sommeil, mêlant SL et SP (Vyazovskiy *et al.*, 2008). L'article de Chauvette et collaborateurs (2012), en revanche, est un des rares articles examinant directement l'évolution de la transmission synaptique au cours des épisodes de sommeil. Cet article, particulièrement intéressant, n'examine cette dynamique que sur la synapse reliant le lemnisque médian au cortex somesthésique primaire (S1). De ce fait, il est légitime de se demander si les tendances observées à cette synapse sont représentatives de la dynamique synaptique au sein des réseaux limbiques, particulièrement associés aux processus mnésiques. C'est pour cette raison que nous avons choisi d'examiner cette dynamique synaptique non seulement au niveau de l'HPC (entre les collatérales de Schaffer [SC] et CA1), mais aussi au niveau des efférences hippocampiques, par des stimulations au niveau du fornix. Cela nous permet donc d'enregistrer une synapse intra-hippocampique, une synapse de projection hippocampique vers le néocortex (CPFm), ainsi qu'une synapse de projection hippocampique vers une structure sous-corticale (NAc). Ainsi, l'examen de ces trois synapses, de nature différentes, nous a permis de nous faire une idée de la variété des dynamiques synaptiques, au sein du réseau limbique, au cours des épisodes de sommeil ou d'éveil. De plus, nos enregistrements de longue durée incluant également les PCL au niveau des trois aires considérées, nous ont permis de commencer à examiner l'influence des oscillations cérébrales sur la transmission synaptique. Cet examen est facilité par le grand nombre de potentiels évoqués (>2800/24h), nous permettant de corrélérer la diversité des motifs oscillatoires du sommeil et de l'éveil à la

transmission synaptique dans nos réseaux. En effet, nous disposons ainsi de plusieurs potentiels évoqués en début, milieu et fin d'épisodes de sommeil. De plus, nous avons pu comparer des potentiels évoqués pendant, et en dehors d'évènements oscillatoires comme les fuseaux, ou les bouffées de thêta phasique. Ceci n'est possible qu'en contrôlant précisément l'instant de la stimulation (Girardeau *et al.*, 2009; Maingret *et al.*, 2016), ou bien, comme nous l'avons fait, en recueillant un nombre très important de réponses synaptiques. Cependant, l'acquisition d'une telle quantité de données au niveau de plusieurs aires cérébrales, simultanément, n'a pas été sans poser de nombreux problèmes techniques. Nous allons donc maintenant exposer certains de ces défis techniques, ainsi que les solutions que nous avons mises en place pour les relever.

## *II.2. Mise au point et difficultés techniques.*

### *Chirurgie et implantation.*

Le premier défi de ce projet a consisté à mettre en place les techniques d'implantations nécessaires à l'enregistrement des signaux spontanés et évoqués chez nos rats. Pour cela, nous avons d'abord dû fabriquer des électrodes permettant d'enregistrer un signal à l'échelle mésoscopique (c'est-à-dire intermédiaire entre le microscopique [*« patch-clamp »*] et le macroscopique [EEG]) dans le cerveau du rat libre de ses mouvements. Notre choix s'est porté vers des électrodes constituées de deux fils en tungstène d'un diamètre de 25 $\mu$ m, tressées puis collées entre elles afin d'obtenir la rigidité nécessaire à une descente stéréotaxique précise de ces électrodes dans le cerveau. Après avoir dénudé la pointe de ces électrodes, l'impédance constatée à 1000Hz est de l'ordre de 10 à 100 kOhms. Cette impédance nous permet d'enregistrer, pendant la chirurgie, une activité multi-unitaire dans CA1 (**Figure 11**). Dans le NAc comme dans le CPFm, l'enregistrement de potentiels d'action est cependant beaucoup plus rare, probablement de par la nature différente des neurones dans ces régions. Un des principaux problèmes rencontrés durant l'implantation est lié à la proximité des sites d'implantation de l'électrode de stimulation dans CA3 et de l'électrode d'enregistrement dans CA1 (1mm d'écart en latéralité entre ces deux électrodes). De ce fait, les bras stéréotaxiques utilisés ne nous permettent pas de descendre convenablement l'électrode d'enregistrement et celle de stimulation en même temps. Nous avons donc finalement choisi d'implanter d'abord l'électrode d'enregistrement au-dessous de la couche pyramidale de CA1, avant de procéder à la descente de l'électrode de stimulation dans CA3.



**Figure 11: Evolution des potentiels évoqués à la synapse CA3-CA1 au cours de la descente des électrodes lors de l'implantation de celles-ci. (A)** LFP filtré > 600 Hz, canal "spike". Les traits au dessus correspondent aux évènements détectés (stim+spikes). Notez la forte activité unitaire dans le segment E, correspondant à la traversée de la *stratum pyramidale* (StPy). **(B)** LFP filtré < 600 Hz, canal à partir duquel sont moyennés les PSE. Au dessus de StPy **(C)**, le PSE de faible amplitude est dirigé vers le bas avec un pic à 8 ms de la stimulation. On constate ensuite une quasi abolition du PPSEc à l'approche de la StPy **(D)**, avant d'observer une inversion des PPSEc au niveau de cette StPy **(E)**. Nous descendons ensuite légèrement jusqu'a obtenir un potentiel d'amplitude plus élevée et de forme plus régulière correspondant au *stratum radiatum***(F)**, profondeur: 2,5-2,7 mm. On peut noter sur cette figure que l'inversion du potentiel évoqué s'effectue dans le sens inverse de celui attendu, probablement dû à une électrode de stimulation placée au-dessus de la couche pyramidale de CA3 **(G)** Tracé moyen des potentiels d'actions détectés entre deux stimulations au niveau de l'astérisque blanche. **Intensité de stimulation : 40 μA.** Les traces sont représentées en moyenne ± erreur standard à la moyenne.

Cependant, il arrive que l'électrode d'enregistrement soit trop proche de la couche pyramidale (et la réponse est donc contaminée par un « *population-spike* »), ou trop éloignée de celle-ci (auquel cas la forme ne correspond plus vraiment à celle attendue). A l'avenir, l'utilisation d'un angle pour la descente de l'électrode de stimulation, ou l'utilisation d'un autre dispositif stéréotaxique, pourra nous permettre de pallier à cette contrainte.

#### *Dispositif d'enregistrement chronique.*

Après la mise au point de ces techniques d'implantation sur les trois synapses étudiées, il nous a fallu trouver un dispositif de connexion à la fois pratique et peu coûteux, correspondant à notre dispositif d'enregistrement. Pour cette étude, nous avons construit deux caissons d'enregistrement chronique afin de satisfaire plusieurs exigences. La première était le grand nombre de voies d'enregistrement, ainsi que la mise en place des canaux nécessaires pour les deux électrodes de stimulation bipolaires. Ensuite, il nous a fallu fiabiliser le dispositif d'acquisition afin d'améliorer la qualité de nos signaux, étape nécessaire pour obtenir des réponses synaptiques de bonne qualité, durant les trois états de vigilances. En effet, le dispositif utilisé précédemment (dans l'étude sommeil et mémoire - voir annexe) n'utilisant

pas de système de pré-amplification, les signaux acquis pendant l'éveil, et dans une moindre mesure, pendant le sommeil, étaient régulièrement contaminés par des artefacts liés aux mouvements de l'animal ou au bruit électrique. Pour cela, nous avons collaboré avec le Laboratoire de Neurosciences Cognitives (Marseille, dirigé par Bruno Poucet) dans lequel Vincent Hok (Maître de conférences) et Didier Louber (Ingénieur d'étude), m'ont initié à la fabrication de pré-amplificateurs à 16 voies. Nous avons ensuite modifié leur dispositif pour le faire correspondre à nos besoins, notamment pour l'adaptation à notre connecteur (EIB-27, Neuralynx, U.S.A.) et pour le passage des quatre voies de stimulations. Il nous a ensuite fallu réaliser nos propres câbles d'enregistrement, permettant le passage de 16 voies au sein d'un câble unique, pour le confort de l'animal. Nos enregistrements étant réalisés sur de très longues durées, la fragilité de ces câbles nous a posé de nombreux problèmes. Cependant, la technique de fabrication de ces câbles, constituant le « maillon faible » de notre dispositif, n'a cessé de s'améliorer au fil des mois. Enfin, le problème majeur auquel nous avons été confronté fut la disparition, progressive ou soudaine, des réponses synaptiques évoquées chez de nombreux rats. Ce souci nous a conduit à prendre plusieurs mesures. Dans un premier temps, nous avons diminué la fréquence de nos stimulations afin d'éviter un phénomène potentiel de LTD ou de « fatigue synaptique » lié à nos stimulations permanentes (passage d'une stimulation toutes les trente secondes à une stimulation toutes les deux minutes sur nos premiers rats). Nous avons ensuite diminué l'intensité de nos stimulations, et ajusté l'intensité minimale nécessaire à l'obtention d'une réponse synaptique. Nous avons par ailleurs adopté l'utilisation de câbles blindés pour nos voies de stimulations, dont le blindage a été raccordé à la phase neutre de notre système d'alimentation électrique. Enfin, nous avons changé nos électrodes de stimulation, passant de deux fils de tungstène d'un diamètre de 45 $\mu$ m, à deux fils d'acier d'un diamètre de 100 $\mu$ m. *A posteriori*, ces deux dernières mesures nous ont permis de régler la majeure partie de nos problèmes et de conserver des réponses stables durant plusieurs jours d'enregistrement et de stimulations continues.

### *Analyse du signal.*

Bien que notre laboratoire travaille à l'acquisition de signaux électrophysiologiques *in vivo* depuis de nombreuses années, ces signaux étaient jusqu'à présent essentiellement issus d'enregistrements macroscopiques EEG et EMG. Ces signaux sont acquis sans dispositif de pré-amplification et comprennent donc de nombreux artefacts, notamment à l'éveil. En effet, l'utilisation de ces signaux sert généralement à une analyse quantitative du sommeil, et

éventuellement à la détection automatique des états de vigilance. Cependant, il n'existait pas, au sein de notre laboratoire, un savoir-faire en matière d'analyse qualitative des signaux électrophysiologiques acquis *in vivo*. En outre, la spécificité des études portant sur le sommeil réside dans la très grande quantité de données à traiter, et dans l'analyse séparée des différents états de vigilance. Lors de ma première année de thèse, nous avons donc initié, avec Paul-Antoine Libourel (Ingénieur de Recherche), la création d'un logiciel graphique, développé avec Matlab, permettant la visualisation et l'analyse qualitative des signaux acquis sur de très longues durées, en traitant séparément les différents états de vigilance. Nous avons ensuite, tout au long de ma thèse, poursuivi le développement de ce logiciel, pour le faire correspondre à nos nouveaux besoins, notamment en termes d'analyse des signaux évoqués. Ce logiciel est dorénavant utilisé par de nombreuses personnes au sein du laboratoire.

#### *Puissance instantanée : écueils méthodologiques.*

Nous savons que les oscillations gamma sont régulièrement modulées par la phase d'oscillations plus lentes, et donc que les oscillations rapides se présentent sous forme de bouffées brèves et rythmiques, dans l'HPC comme dans le NAc (Colgin *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2009). Il est donc important de disposer d'une bonne résolution temporelle pour estimer la puissance de ces oscillations rapides avant stimulation. L'artefact de stimulation, de grande amplitude, constitue le principal écueil pour cette analyse de nos données. En effet, si nous appliquons un filtre sur cet artefact, le signal filtré est déformé par l'artefact de stimulation. Pour tenter de remédier à ce problème, nous avons donc choisi d'enlever l'artefact de stimulation et la réponse synaptique qui suit (de -0.5 à 200ms autour de la stimulation) puis de lier le signal de part et d'autre de cet intervalle par une interpolation linéaire. Cependant, l'interpolation elle-même est également susceptible de déformer le signal filtré et donc également l'amplitude instantanée ainsi que la phase extraite par la transformée de Hilbert. C'est la raison pour laquelle nous avons considéré l'amplitude instantanée moyenne sur les quelques cycles précédant la stimulation et non la seule valeur d'amplitude à l'instant de la stimulation (voir partie **Résultats, Figure 7 de la deuxième étude**). Nous devons donc procéder de la même manière pour les deux synapses restantes, afin d'établir quelles sont les oscillations les mieux corrélées à la modulation des réponses enregistrées dans le NAc et le CPFm. Après avoir décrit les difficultés rencontrées dans l'initiation de ce projet, nous allons maintenant tenter de dégager les implications de nos résultats par rapport à la littérature existante.

### II.3. L'information suit-elle des flux différents en fonction des états de vigilance ?

Premièrement, nous nous devons d'éclaircir la différence entre deux démarches que nous avons utilisées, qui, pour être très différentes, n'en sont pas moins complémentaires. Nous avons, d'un côté, comparé la transmission synaptique entre différents états de vigilance, puis, d'un autre côté, nous avons examiné l'évolution de la transmission synaptique au sein de ces états de vigilance. Même si la littérature actuelle se focalise principalement sur la deuxième approche, afin de savoir quel est l'effet de l'éveil et du sommeil sur les modulations de la transmission synaptique au niveau d'une aire donnée, il nous paraît important de décrire les variations de l'état d'un réseau en fonction des différents états de vigilance. Winson et Abzug (1977), qui ont les premiers tenté de décrire ces différences de transmission au sein du réseau hippocampique, ont intitulé leur article « *Gating of neuronal transmission in the hippocampus: efficacy of transmission varies with behavioral state* ». Cette notion de « *gating* » de l'information utilisée par leurs soins, dans la discussion de cet article, nous paraît tout à fait pertinente. En effet, elle illustre parfaitement le fait que l'information suivrait des chemins différents au sein du cerveau au cours du cycle veille-sommeil. Ainsi, au-delà des modifications du réseau permises par chaque état de vigilance, il nous paraît important de souligner que le cerveau traiterait l'information sur des modes totalement différents suivant que l'on se trouve en éveil, en SL, ou en SP. Ainsi, le flot d'informations peut être drastiquement atténué entre certaines structures, alors que certaines voies alternatives peuvent être favorisées pendant le même état. Pour prendre un exemple relativement bien décrit, durant le SL, il semblerait que la transmission d'information de la voie perforante vers le gyrus denté soit considérablement diminuée par rapport à l'éveil (Winson et Abzug, 1977), alors que cette transmission est augmentée au niveau SC-CA1 (voir résultats et Leung, 1980) permettant ainsi l'initiation et le transfert des SW-R hippocampiques de CA3 vers CA1 puis vers le néocortex (Buzsaki, 1986). Le réseau hippocampique, particulièrement étudié pour de nombreuses raisons, est ainsi l'un des seuls pour lequel nous disposons de travaux sur la transmission synaptique, permettant d'avoir un aperçu des processus d'adressage de l'information en fonction des états de vigilance (voir résultats, Winson et Abzug, 1977 ; Leung, 1980). Toutefois, malgré la relative abondance de travaux sur la transmission synaptique hippocampique, il existe encore, à notre connaissance, des synapses au sein de ce réseau dont le comportement en fonction des états de vigilance n'est pas connu. C'est le cas par exemple des fibres moussues reliant le gyrus denté à l'aire CA3, dont la variation de transmission synaptique en fonction des états de vigilance n'a pas été décrite (même si des

variations circadiennes sous contrôle des récepteurs de type 2 à l'orexine ont été décrites par Perin et collaborateurs [2014]). C'est également le cas de la transmission des synapses au niveau des collatérales récurrentes de CA3 qui n'a été que sommairement testée chez un seul rat par Lubenov et Siapas (2008), sans faire de statistiques ni de distinctions entre SL et SP. En dehors du réseau hippocampique, les données concernant la transmission synaptique en fonction des états de vigilance sont encore plus rares. Ainsi, nos données confirment les données préliminaires proposées par Leung (1980) au niveau de la synapse SC-CA1 montrant une transmission accrue pendant le SL et très faible en SP. Par ailleurs, nous apportons de nouvelles données quant aux variations de transmission synaptique au niveau des efférences de l'HPC. Ainsi, notre travail montre que dans l'ensemble, la transmission synaptique pendant le SL sur la voie Fornix (Fx) - CPFm est plus faible en SL qu'en SP ou qu'à l'éveil (nous reviendrons sur ce point ultérieurement). De plus, l'autre efférence hippocampique étudiée, innervant cette fois une structure sous-corticale, montre une transmission synaptique accrue vers le NAc en SP par rapport aux deux autres états de vigilance (nous y reviendrons également). L'article de Chauvette et collaborateurs (2012) est, à notre connaissance, la seule étude montrant une autre synapse dont la transmission est maximale en SP. Il s'agit d'une synapse thalamo-corticale reliant le lemnisque médian à l'aire somesthésique primaire (S1). Ainsi, il est par exemple envisageable que, en général, le SP soit un état privilégié pour le traitement des informations vers, et à partir des noyaux sous-corticaux. De manière anecdotique, il peut être intéressant ici de mentionner que Shein-Idelson et collaborateurs (2016) ont proposé tout récemment que l'origine phylogénique du SP semble remonter à l'ancêtre commun des amniotes, bien plus loin dans l'évolution que ce que l'on considérait jusqu'alors. Hypothétiquement, il est donc éventuellement possible que cet état constitue depuis longtemps une fenêtre privilégiée d'interactions entre structures sous-corticales, plus anciennes d'un point de vue évolutif. Pour revenir au travail mentionné précédemment (Chauvette *et al.*, 2012), il est particulièrement curieux que la transmission synaptique maximale, durant le SP, ne fasse l'objet d'aucune mention dans la discussion. L'essentiel du propos porte en effet sur l'effet du SL sur la variation de transmission synaptique, et non sur la comparaison de cette transmission entre les différents états de vigilance. Ainsi, il apparaît qu'à la suite des travaux précurseurs de Winson et Abzug (1977) et de Leung (1980), très peu de travaux ont pris la peine d'examiner les circuits privilégiés pour la circulation de l'information durant les différents états de vigilance. Nous disposons donc, malgré les nombreuses avancées scientifiques sur les rôles mnésiques du sommeil, d'une cartographie plus qu'incomplète, et donc, d'une absence totale de vue d'ensemble, sur la manière,

potentiellement très différente, dont circule l'information dans le cerveau au cours du SL et du SP. Nous pouvons dégager deux grands facteurs majeurs expliquant ces lacunes dans nos connaissances actuelles. Le premier, théorique, tient pour nous à la place qu'occupe l'hypothèse SHY et à l'importance prise par le phénomène de LTP dans l'apprentissage ces dernières années. Effectivement, si l'apprentissage provoque des augmentations de la transmission synaptique, qui sont, par essence, limitées par les contraintes physiologiques de notre cerveau, le rôle du sommeil doit donc forcément passer par une renormalisation de ces connexions et/ou un transfert de ces potentiations. La majorité de la communauté scientifique est donc naturellement plus focalisée à trouver les mécanismes de ces transferts ou de ces rééquilibrages qu'à établir une cartographie fonctionnelle de la transmission synaptique entre différentes aires cérébrales au cours du sommeil, et donc à décrire les réseaux différents empruntés par l'information, en SL et en SP. D'autre part, la deuxième raison serait pour nous d'ordre technique. Il est en effet, grâce aux techniques électrophysiologiques actuelles, beaucoup plus facile d'enregistrer simultanément un grand nombre de neurones dans la même région que de stimuler simultanément un grand nombre de faisceaux de fibres et d'enregistrer les réponses évoqués en post-synaptique. D'où l'essor pris ces dernières années dans la littérature par les enregistrements de neurones unitaires (qui ne donnent pourtant que des informations indirectes sur la transmission synaptique), et la relative désaffection pour les travaux portant sur les PPSEc *in vivo*. De fait, à l'heure actuelle, l'imagerie cérébrale fonctionnelle, notamment par IRMf, paraissent être les techniques privilégiées pour effectuer ces cartographies des réseaux actifs en fonction des états de vigilance. Ainsi, comme nous l'avons mentionné en introduction, il a par exemple été montré une activation préférentielle du CPFm, de l'HPC, du NAc et de l'amygdale au cours du SP (Miyachi *et al.*, 2009; Dang-Vu *et al.*, 2010). En revanche, ces études ne donnent pas d'information sur la transmission synaptique entre ces aires, et ne peuvent, au mieux, que donner une vague idée de ces réseaux par les approches de connectivité fonctionnelle. Nous espérons que le développement rapide de l'optogénétique (et des techniques d'enregistrements multi-sites), permettant dorénavant d'obtenir des PPSEc (autrement que par stimulation électrique [Nabavi *et al.*, 2014]), pourra favoriser, dans un futur proche, l'accumulation de connaissances relatives aux circuits privilégiés par l'information en fonction des différents états de vigilance. Comme nous l'avons mentionné précédemment, une plus grande partie de la littérature essaye de déterminer l'influence des différents états de vigilance sur le phénomène d'homéostasie synaptique. Nous allons donc, dans la partie suivante, discuter de l'apport de nos résultats sur

l'évolution de la transmission synaptique au sein des états de vigilance en les confrontant aux travaux existants.

#### *II.4. Implications d'une modulation différentielle de la transmission synaptique au cours du cycle veille-sommeil.*

Nous l'avons vu, lors de la succession des états de vigilance, la transmission synaptique au sein du réseau limbique est régulée à la hausse et à la baisse de manière différente en fonction de la synapse considérée. Cependant, les modifications constatées sont transitoires et globalement réversibles lorsque l'animal effectue des cycles complets impliquant éveil, SL et SP. Il est donc légitime de nous interroger sur les mécanismes par lequel le sommeil participe aux modifications à long terme du réseau, nécessaires à la stabilisation des souvenirs dans la durée. Nous savons que le sommeil est un phénomène homéostatique finement régulé puisque les privations de sommeil entraînent nécessairement des hypersomnies et des modifications qualitatives du sommeil après la fin de la privation. Les privations spécifiques de SP aboutissent à un phénomène de rebond avec une augmentation drastique du temps passé par l'animal en SP après cette privation pour récupérer la dette de sommeil (Borbély et Achermann, 1999). Les privations totales de sommeil aboutissent quant à elles à une augmentation du temps passé en SL, mais aussi à un sommeil plus profond lors du rebond, essentiellement caractérisé par une augmentation de la puissance des OL du SL. Réciproquement, comme indiqué plus haut, l'apprentissage modifie lui aussi la qualité et les quantités de sommeil (Hennevin *et al.*, 1974, 1995), sans que l'on sache en quoi les phénomènes de plasticité synaptique sous-tendant la formation de nouveaux souvenirs sont impliqués dans les modifications de sommeil subséquentes. Comme nous l'avons vu dans l'introduction de ce manuscrit, la SHY tente de formuler quelques hypothèses à ce sujet, et propose que le sommeil participe au maintien d'une homéostasie synaptique globale. En effet, nous avons vu plus haut que la tendance d'un réseau à former sans cesse de nouvelles synapses aboutit nécessairement à une plus grande instabilité de celui-ci. Ce fut le principal problème des premières théories formulées par Donald Hebb (1949). Les modèles de G. Stent et T Sejnowski puis le modèle BCM ont donc proposé que l'activité locale du réseau soit un facteur important de régulation de la plasticité synaptique de longue durée (Stent 1973;

Sejnowski, 1977; Cooper et Bear, 2012). Par ailleurs, à côté de ces mécanismes hebbiens, Turrigiano et Nelson (2000, 2004) ont révélé l'existence d'un mécanisme de régulation synaptique à l'échelle du neurone, afin que celui-ci puisse maintenir son taux de décharge dans des limites physiologiques, en ajustant globalement et de manière uniforme la force de ces connexions afférentes. Ces phénomènes hebbiens et non hebbiens sont associés *in vivo* et pourraient contribuer à des fonctions physiologiques importantes (Mrsic-Flogel *et al.*, 2007). Avec la SHY, Tონoni et Cirelli (2014) suggèrent que ces mécanismes d'ajustement globaux de la force des synapses sont assurés par le sommeil, et plus précisément par les OL du SL, servant à induire une diminution globale et uniforme des poids synaptiques dans l'ensemble du cerveau. Ceci afin de contrecarrer l'excitabilité excessive entraînée par la création nette de synapses à l'éveil. Si nous admettons l'utilité de tels phénomènes d'homéostasie synaptique afin de préserver l'intégrité fonctionnelle du cerveau, nos résultats, montrant des évolutions différentes en fonction de la synapse considérée, suggèrent des processus plus complexes que ceux avancés par Tონoni et Cirelli. De fait, en dehors de nos travaux, de nombreuses données semblent contredire cette théorie (**Figure 11**). Selon nos observations, il paraît plus probable que ces mécanismes d'homéostasie s'opèrent de différentes manières selon la synapse considérée. Par exemple, comme nous l'avons commenté plus haut, à la synapse SC-CA1, nos données, comme celles de Grosmark et collaborateurs (2012) et celles de Miyawaki et Diba (2016), suggèrent que la diminution de la transmission synaptique aurait lieu au cours du SP suite à une augmentation de la force des connexions pendant le SL. En revanche, entre l'HPC et le CPFm, ce processus de « *synaptic downscaling* » pourrait se réaliser pendant le SL, malgré le renforcement sélectif de certaines synapses en lien avec les SW-R. Au contraire, l'étude de Miyawaki et Diba (2016) suggère que le « *downscaling* » du SP serait corrélé positivement aux fuseaux et aux SW-R du SL précédent. Aussi, ces auteurs suggèrent que la dépression synaptique hippocampique du SP permettrait le transfert des traces mnésiques correspondantes vers les efférences hippocampiques dont notamment le cortex préfrontal. La diminution de la transmission au niveau de la voie Fx-CPFm pendant le SL que nous avons constaté semble rendre cette hypothèse peu probable. Le type de réorganisation opérée pendant les états de sommeil serait donc spécifique du type de synapse considéré, ce qui n'est pas surprenant lorsque l'on connaît la très large diversité du fonctionnement synaptique dans des aires cérébrales distinctes (Salin *et al.*, 1996; Gupta *et al.*, 2000). L'enchaînement de cycles comprenant éveil, SL et SP pourrait donc favoriser des modifications systémiques entre différentes aires du cerveau, tout en préservant un équilibre au sein de chaque structure. Cette alternance serait elle-même influencée par l'apprentissage afin de consolider les nouveaux

souvenirs et d'équilibrer la force des connexions synaptiques dans les différentes aires. De ce fait, les variations de transmission synaptique à l'échelle des régions cérébrales seraient plutôt cycliques tandis que certaines connexions spécifiques seraient renforcées ou affaiblies afin de conserver les traces mnésiques importantes en mémoire à long terme. La facilitation de la transmission synaptique entre certaines régions dans différents états pourrait ainsi constituer un moment favorable au renforcement des connexions impliquées dans les apprentissages à l'éveil. Ainsi, l'effet bénéfique des OL du SL sur la mémoire déclarative et la mémoire de travail pourrait s'expliquer par la facilitation du renforcement des connexions synaptiques au sein de l'HPC (Marshall *et al.*, 2006; Fraize, Carponcy *et al.*, 2016 [**partie Résultats, première étude**]). Les connexions entre l'HPC et le CPFm pourraient plutôt bénéficier de l'impact des SW-R pendant lesquelles ces deux régions auraient des interactions privilégiées (Wierzynski *et al.*, 2009). Enfin, nos données montrant une augmentation de la transmission synaptique sur la voie Fx-NAc pourraient suggérer que le SP favorise la consolidation synaptique (et donc, au vu de la voie considérée, possiblement systémique) entre l'HPC et les structures sous-corticales comme le striatum. Nos résultats actuels, en tout état de cause, ne permettent pas d'établir que le sommeil agit à long terme sur la transmission synaptique. Certaines analyses et expériences complémentaires, que nous aborderons dans les perspectives, pourraient cependant aider à mieux préciser l'effet à long terme du sommeil sur la transmission synaptique et la mémoire. Nous allons donc tenter de discuter de ces résultats concernant le SP dans une perspective plus mnésique.

### *II.5. Rôles du SP dans le traitement de la mémoire émotionnelle.*

La littérature scientifique propose depuis plus de quarante ans un rôle du SP dans la mémoire émotionnelle. Les premières études suggérant ce phénomène ont d'abord été réalisées en étudiant l'effet de la privation de SP sur le conditionnement aversif chez les rongeurs (Pearlman, 1969; Leconte et Bloch, 1970; Fishbein, 1971). Une étude de notre équipe a par ailleurs très récemment montré un effet facilitateur d'une augmentation des quantités de SP sur l'apprentissage et la consolidation mnésique du conditionnement de peur au contexte (Ravassard *et al.*, 2015, 2016). Chez l'humain, plusieurs études d'imagerie ont montré une activation des aires limbiques au cours du SP, notamment de l'HPC, de l'amygdale, du striatum et du CPFm (Miyachi *et al.*, 2009; Dang-Vu *et al.*, 2010). Toujours chez l'humain, il a été montré que le sommeil de fin de nuit, riche en SP, favoriserait plus la

consolidation des souvenirs à forte valence émotionnelle par rapport aux souvenirs neutres (Wagner *et al.*, 2001). Par ailleurs, certaines études suggèrent que le conditionnement de peur a tendance à diminuer les quantités de SP alors que l'extinction de ce conditionnement induit un rétablissement de ces quantités de SP (Sanford *et al.*, 2001, 2003; Wellman *et al.*, 2008). D'un autre côté, de nombreuses tâches aversives d'évitement aboutissent au contraire à une augmentation durable des quantités de SP après apprentissage (Smith *et al.*, 1974, 1980; Smith et Lapp, 1986). Dans les apprentissages d'évitement, les rongeurs apprennent à modifier leur comportement afin d'éviter le choc électrique, alors qu'ils n'ont aucune possibilité de s'y soustraire dans les tâches de conditionnement de peur. Nous pourrions donc supposer que cet effet opposé sur le SP dans ces deux types de tâches serait lié à cette possibilité d'éviter, ou non, le choc. Le NAc ayant été décrit, notamment dans des études précoces, comme étant à l'interface entre le système limbique et le système moteur (Mogenson *et al.*, 1980), il se pourrait que ces différences dans les quantités de SP soient liées à une plus grande implication du NAc dans les tâches d'évitement, et donc aux probables interactions pendant le SP entre l'HPC et le NAc qui pourraient être nécessaires à la consolidation de ces apprentissages d'évitement.

Généralement, les effets du SP sur le conditionnement de peur au contexte sont attribués à la connexion entre l'HPC et l'amygdale. Il a cependant été montré que les variations de cohérence thêta pendant le SP, dans un large réseau impliquant l'HPC, l'amygdale et le CPFm, pouvaient prédire la consolidation dépendante du sommeil d'un conditionnement de peur (Popa *et al.*, 2010). Or, ces structures projettent toutes les trois vers le NAc dans lequel l'activité thêta en SP est également observable dans nos enregistrements. L'HPC ventral en particulier, possède des neurones projetant spécifiquement sur le NAc, le CPFm et l'amygdale, mais aussi des neurones projetant simultanément sur ces trois structures (Cicocchi *et al.*, 2015). Or, lors de l'extinction du conditionnement de peur, les réponses évoquées entre l'HPC ventral et le CPFm sont potentialisées chez le rat (Hugues *et al.*, 2006), ce qui pourrait donc également être le cas des synapses situées entre l'HPC et le NAc. D'autre part, un protocole de stimulation à basse fréquence (induisant généralement une LTD) dans l'HPC altère la consolidation de cette extinction mais aussi le rétablissement des quantités de SP à des niveaux comparables à ceux enregistrés avant le conditionnement de peur (Deschaux *et al.*, 2010). Cependant, il a été montré à plusieurs reprises, chez les rongeurs comme chez l'humain, que le NAc est impliqué dans ce type d'apprentissage (Westbrook *et al.*, 1997; Levita *et al.*, 2002; Rodriguez-Romaguera *et al.*, 2012; Pohlack *et al.*, 2012). Il est donc

possible que certaines découvertes ou hypothèses quant au rôle de la connexion HPC-amygdale durant le SP dans le conditionnement émotionnel aversif soient en partie liées à des effets sur la connexion HPC-NAc. En plus d'une transmission synaptique accrue entre l'HPC et le NAc durant le SP que nous avons mise en évidence, les neurones de l'amygdale et du NAc pourraient aussi partager la propriété d'être particulièrement actifs pendant cet état. Les données du groupe de Pennartz dans le striatum ventral semblent indiquer une fréquence de décharge supérieure en SP par rapport aux périodes contrôles d'éveil calme et de SL (Lansink *et al.*, 2009, Table S2). Cependant, à notre connaissance, aucune comparaison systématique de la fréquence moyenne d'activité des neurones du striatum ventral entre l'éveil actif et le SP n'a été publiée à ce jour. En revanche, des données acquises sur un grand nombre de neurones de l'amygdale suggèrent une augmentation claire du taux de décharge en SP, supérieur à celui enregistré en SL, lui-même supérieur à la fréquence moyenne de décharge observée à l'éveil (Gabrielle Girardeau, communication personnelle). Il se pourrait donc, qu'en plus des interactions nécessaires entre l'HPC et le CPFm, et entre l'HPC et l'amygdale, les interactions entre l'HPC et le NAc, notamment au cours du SP, soient importantes pour la consolidation des apprentissages émotionnels.

## *11.6. Sommeil paradoxal, système dopaminergique mésolimbique et mémoire.*

Nos données, comme celle de la littérature (Maloney *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2002; Dahan *et al.*, 2007; Renouard *et al.*, 2015), semblent indiquer que la boucle HPC-NAc-VTA, que nous avons évoqué dans l'introduction (Lisman et Grace, 2005), est particulièrement active durant le SP. Pour autant, la prise en compte globale du fonctionnement de cette boucle au cours du cycle veille-sommeil et les implications comportementales d'une activité accrue de ce réseau pendant le SP restent encore à déterminer. Les neurones dopaminergiques de la VTA répondent aussi bien aux stimuli conditionnels et inconditionnels aversifs, que lors de la prise de récompense alimentaire ou de l'exposition à des stimuli conditionnels positifs. En revanche, les stimuli aversifs induisent généralement une dépression du taux de décharge des neurones dopaminergiques contrairement à l'augmentation constatée lors de l'obtention d'une récompense. Cependant, dans les deux cas, on constate une élévation de la concentration en dopamine dans les structures cibles de la VTA quel que soit la nature du stimulus, pourvu qu'il soit suffisamment saillant. La principale différence réside dans la durée de ces

augmentations qui sont très rapides pour des stimuli positifs alors qu'elles sont beaucoup plus lentes lorsque le stimulus est de nature aversive (pour revue, voir Schultz, 2007). Malgré cette libération plus lente associée aux stimuli aversifs, des travaux récents démontrent l'implication de ce neuromodulateur dans le conditionnement de peur (Joshua *et al.*, 2008; Fadok *et al.*, 2009; Matsumoto et Hikosaka, 2009; Zweifel *et al.*, 2011). Il est donc possible que l'activité de la VTA durant le SP joue un rôle important dans la consolidation mnésique des apprentissages aussi bien aversifs qu'appétitifs. Les neurones de la VTA pourraient en effet être responsables de l'augmentation de la transmission synaptique que nous avons constatée entre l'HPC et le NAc. Une étude récente suggère que les neurones de la VTA répondant sélectivement à certains stimuli alimentaires, montreraient, au cours du SL, des signes de réactivations de motifs de décharges. Ces réactivations n'ont été observées qu'au cours du SL suivant l'exécution d'une tâche impliquant ces stimuli alimentaires spécifiques (Valdès *et al.*, 2015). La réactivation du système dopaminergique mésolimbique pendant le SP pourrait ainsi faciliter la consolidation d'informations préalablement réactivées durant le SL, notamment entre l'HPC et le NAc (Pennartz *et al.*, 2004; Lansink *et al.*, 2008, 2009, 2012).

### *II.7. Les neuromodulateurs possiblement impliqués dans la régulation de la transmission synaptique au cours du cycle veille-sommeil.*

Comme mentionné ci-dessus, la libération accrue de dopamine pendant le SP, liée à une augmentation des décharges en bouffées de la VTA, pourrait être impliquée dans l'augmentation de la transmission synaptique entre l'HPC et le NAc (Floresco *et al.*, 2003; Dahan *et al.*, 2007). En effet, l'activation des récepteurs D1 du NAc potentialise les réponses évoquées par des stimulations hippocampiques (Goto et Grace, 2005a). D'un autre côté, l'hormone de concentration en mélanine (MCH) pourrait aussi être impliquée dans l'augmentation de transmission synaptique entre l'HPC et le NAc au cours du SP. Les neurones contenant de la MCH sont particulièrement actifs pendant le SP (Hassani *et al.*, 2009) et auraient potentiellement une influence causale dans l'induction du SP (Jego *et al.*, 2013). De manière surprenante, plusieurs études examinant la distribution des récepteurs MCH de type 1 dans le cerveau ont conclu que ces récepteurs sont spécialement abondants dans l'HPC et dans le NAc (Lembo *et al.*, 1999; Saito *et al.*, 2001; Able *et al.*, 2009). Cette

distribution particulière ainsi que l'activité préférentielle des neurones MCH au cours du SP pourraient donc suggérer un rôle de la MCH dans la régulation de la transmission HPC-NAc pendant le SP. La MCH pourrait donc faciliter la transmission glutamatergique entre l'HPC et le NAc durant le SP car plusieurs études montrent que ce neuromodulateur est en effet essentiel pour la transmission synaptique glutamatergique, au moins au niveau hippocampique (Pachoud *et al.*, 2010; Le Barillier *et al.*, 2015).

En ce qui concerne la synapse SC-CA1, la diminution de la transmission synaptique au cours du SP est généralement attribuée au fort tonus cholinergique, supérieur à celui de l'éveil, observé pour la première fois dans l'HPC par Kametani et Kawamura (1990). En revanche, l'absence de différence entre éveil et SP observée à la synapse HPC-CPFm pourrait s'expliquer par l'absence de ce pic de libération d'acétylcholine dans le cortex durant le SP (Marrosu *et al.*, 1995). Même si l'effet de dépression de la transmission synaptique liée à l'acétylcholine a été rapidement considéré comme un mécanisme général à tout le cerveau (Hasselmo, 1999), ces travaux doivent être reconsidérés car ils ont été obtenus, en général, avec de fortes concentrations de carbachol, un agoniste cholinergique faiblement dégradé par la cholinestérase. Des travaux plus récents montrent au contraire que l'acétylcholine à faible concentration ( $\mu\text{M}$ ) exerce une action synaptique facilitatrice qui est sans doute la conséquence de l'activation des récepteurs muscariniques pairs (Kuczewski *et al.*, 2005; Wester et Contreras, 2013). Il est donc possible que, à l'inverse du phénomène constaté au sein du circuit tri-synaptique hippocampique, la baisse du tonus cholinergique dans le cortex préfrontal durant le SL aboutisse paradoxalement à une baisse de la transmission synaptique entre l'HPC et le CPFm. L'orexine, ou hypocretine, pourrait aussi jouer un rôle dans les modulations de transmission synaptique de la voie SC-CA1. En effet, il a été montré que l'application d'orexine exogène *in vitro* diminuait la transmission à cette synapse d'environ 30% (Perin *et al.*, 2014). Cependant, la période de ces variations serait plutôt circadienne et ce neuropeptide n'aurait donc que peu d'effet au sein d'un seul épisode d'éveil ou de sommeil (Perin *et al.*, 2014). Enfin, d'autres neuromodulateurs dont la concentration varie au cours du cycle veille-sommeil comme le cortisol ou l'adénosine pourraient également intervenir dans ces modifications de la transmission synaptique par une action sur des récepteurs présynaptiques (notamment les récepteurs A1 et A2A de l'adénosine). Il est donc vraisemblable que les modulations observées soient influencées par les variations conjointes de concentration de plusieurs neuromodulateurs dans le milieu extracellulaire.

## II.8. *Eveil, SL et SP : Evolution à la hausse ou à la baisse ? Convergences et contradictions.*

Ces dernières années, notamment sous l'impulsion de la SHY proposée par Tononi et Cirelli (2003), de nombreux travaux ont tenté d'attribuer le rôle de « *downscaling* » synaptique à un état de vigilance ou à un mécanisme particulier. Nos résultats semblent en revanche pointer vers des variations spécifiques de la synapse considérée. Nous allons donc discuter à présent ces résultats dans l'ordre suivant : 1°) La diminution de la transmission synaptique constatée au niveau Fx-CPFm au cours du SL, 2°) L'augmentation de cette transmission au cours du SL sur la voie SC-CA1, 3°) La réduction drastique et rapide de la transmission synaptique au cours du SP sur la même synapse, et 4°) L'absence de modulation significative constatée dans les autres cas, notamment à l'éveil. Pour ce faire, nous allons nous appuyer sur un certain nombre de travaux que nous avons regroupé sous forme d'un tableau, non-exhaustif, permettant de mieux discerner les similarités et les antagonismes propres à cette littérature (**Figure 12**).

La diminution de la transmission synaptique constatée sur la voie reliant l'HPC au CPFm au cours du SL constitue notre résultat le plus en accord avec les travaux réalisés par le groupe de Tononi (Vyazovskiy *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2010; Olcese *et al.*, 2010; Huber *et al.*, 2013). Une diminution de l'activité des neurones du CPF au cours du SL a également été observée par Watson et collaborateurs (2016), mais seulement pour les neurones ayant initialement un fort taux de décharge. Un modèle computationnel simulant le réseau des collatérales récurrentes de CA3, élaboré par Lubenov et Siapas (2008), donne par ailleurs cette même tendance. Cependant, ils appuient ces résultats par des observations, pour le moins criticables, de PPSEc par des stimulations de la fimbria et un enregistrement au niveau de CA3. En effet, ces enregistrements n'ont été réalisés que chez un seul rat, et leur interprétation est quant à elle tout aussi critiquable. En effet, la figure présentant l'évolution de la transmission synaptique pendant une phase de sommeil montre une évolution en dents de scie, sans que l'on sache si l'animal est en SL ou en SP. D'autre part, afin d'illustrer la potentialisation de cette voie ayant lieu pendant l'éveil actif, ils ont permis à ce rat (dont on ne sait même pas si il a été maintenu en privation hydrique) de courir sur un tapis roulant afin d'obtenir de l'eau pendant 90 minutes. Cependant, il aurait été souhaitable de disposer des données actimétriques, ou mieux, du ratio  $\theta/\delta$  du rat pendant cette session.

Article	Modèle	Aire/Synapse	Observations	Commentaires
Luboven et Siapas, 2008	<i>In silico</i> /Rats	Connexions récurrentes de l'aire CA3	Bouffées de neurones synchronisées durant le SL → force synaptique par STDP ( <i>In Silico</i> ). Éveil → force synaptique et Sommeil → force synaptique	Données PPSec collectées chez 1 rat. Evolution en dents de scie pendant le sommeil (SL et/ou SP ?). Session RUN de 90 min sur un tapis montre ↗ des réponses, sans contrôler pour ↘ de locomotion et/ou ratio theta/delta
Vyzovskiy et al., 2008	Rats	Cortex cérébral gauche	Éveil → GluA1, CamKII-P, Ser831-P, Ser845-P Sommeil → GluA1, CamKII-P, Ser831-P, Ser845-P	Groupe sacrifié en milieu de phase sombre (>75% Éveil) Groupe sacrifié en milieu de phase claire (>75% Sommeil)
		HPC gauche	Éveil → GluA1, CamKII-P, Ser831-P, Ser845-P, NR2A, GSK3-P Sommeil → GluA1, CamKII-P, Ser831-P, Ser845-P, NR2A, GSK3-P	Idem, effet de l'heure contrôlé par groupe privé de sommeil sacrifié à la même heure, moins de résultats significatifs
		Synapse Fronto-Frontale (corticale, controlat.)	PPSec ↗ après 4h d'éveil PPSec ↘ après 4h de sommeil	Mesures discontinues (0 et 10-4h). Périodes mêlant éveil et sommeil. Non contrôlé pour variations circadiennes et aucune distinction SL/SP
Liu et al., 2010	Rats/Souris	Cortex frontal	mEPSC ↗ chez animaux privées de sommeil ou > 65% d'éveil mEPSC ↘ durant récupération du sommeil	Etats de vigilance non "purs" (éveil+sommeil), aucune distinction entre SL et SP
Olcese et al., 2010	<i>In silico</i>	Circuit cortico-thalamique	Éveil ↗ force synaptique SL → force synaptique grâce aux OL	Modélisation seulement <i>in silico</i> . Modèle basé sur alternance d'éveil et de SL, aucune mention du SP
Chauvette et al., 2012	Chats	lemnisque median vers S1	PPSec ↗ après un épisode de SL Reproduction <i>in vitro</i> des motifs électriques du SL + hyperpolarisation provoque également une LTP	Pas de rôle apparent pour le SP dans les phénomènes sur ↗ des PPSec. Sur cette voie les PPSec les plus grands sont toutefois constatés lors du SP. ↗ des PPSec <i>in vitro</i> dépendante des récepteurs AMPA et NMDA.
Grosmark et al., 2012	Rats	CA1 (cellules pyramidales)	FD ↗ tout au long des épisodes de SL FD ↘ ↘ très fortement pendant le SP	
Huber et al., 2013	Humains	Aire motrice supplémentaire gauche	Éveil ↗ Réponses EEG évoquées par TMS SL → Réponses EEG évoquées par TMS	Impossible de dissocier effets liés aux neuromodulateurs ou un déficit d'inhibition. Aucune mention du SP
Yang et al., 2014	Souris	M1	SL ↗ épines dendritiques après un apprentissage SL protège épines dendritiques spécifiques de l'apprentissage	Pas d'effet de la privation de SP sur cette création d'épines dendritiques
Durkin et Aton, 2016	Souris	V1	SL ↗ Orientation Specific Response Potentiation (OSRP) SP ↗ OSRP Éveil → OSRP	
Miyawaki et Diba, 2016	Rats	CA1 (cellules pyramidales)	FD ↗ tout au long des épisodes de SL FD ↘ ↘ très fortement pendant le SP Variations circadiennes de la FD	↘ de la FD durant le SP est prédite par les fuseaux et les SW-R de l'épisode de SL précédent. La ↘ de la FD entre deux épisodes de SL est aussi fonction de la durée de SP intercalée et de la puissance du theta.
Ravassard et al., 2016	Rats	SC-CA1	Privation de SP → LTP (10Hz) et apprentissage Rebond de SP → LTP (10Hz) et apprentissage	Interprétation alternative des résultats serait que la privation de SP sature la LTP alors que le rebond de SP désature le réseau
Watson et al., 2016	Rats	Cortex frontal (cellules pyramidales)	Fréquence de Décharge (FD) ↗ à l'Éveil (pour neurones à forte FD) FD → durant le SP (pour neurones à forte FD) FD → durant le SP (pour tous les neurones) FD ↗ durant les micro-éveils (pour neurones à faible FD)	Selon cet article, les effets des états de vigilances dépendent de la FD des neurones. Le sommeil tend donc globalement à homogénéiser les FD des neurones du cortex frontal. Découpage en bouts d'éveil ou de sommeil selon critères de durée relativement arbitraires.
De Vivo et al., 2017	Souris	couche 2 de S1 et M1	Interface Axone-Epine des synapses moyennes/peites → sommeil Interface Axone-Epine des synapses les plus grandes reste stable ↘ de GluR1 durant le Sommeil <i>via</i> interaction Homer1a/mGluR5 Adenosine favorise adressage de Homer1a à la synapse	Analyse réalisée en microscopie électronique, synapses possédant vésicules-tubules → taille avec le sommeil. Pas de distinction SL/SP
Diering et al., 2017	Souris	Proscéphale / couche 5 de M1	Noradrenaline bloque l'adressage de Homer1a et donc → GluA1	Pas de distinction SL/SP

**Figure 12: Evolution à la hausse ou à la baisse des connexions durant le sommeil?** Ce tableau présente sous forme de résumé un certain nombre de travaux récents portant sur l'évolution de la transmission synaptique, ou de paramètres associés, au cours du cycle veille/sommeil.

En effet, il est fort possible qu'au bout de quelques minutes, le rat ait obtenu toute l'eau qu'il souhaitait, et il paraît même hautement improbable que ce rat ait continué à courir pendant 90 minutes sur ce tapis roulant. De ce fait, la baisse probable de l'activité locomotrice, entraînant une diminution du rapport  $\theta/\delta$ , peut à elle seule suffire à expliquer l'augmentation des PPSEc tout au long de cette session «*RUN*». De plus, l'ensemble des travaux cités précédemment contient également une autre étude computationnelle (Olcese *et al.*, 2010), qui ne s'appuie, elle, sur aucune donnée expérimentale. L'article de Vyazovskiy et collaborateurs (2008) est le seul de ce sous-groupe à avoir effectué des travaux mesurant véritablement la transmission synaptique, en stimulant des rats au niveau du cortex frontal et en enregistrant les potentiels évoqués au niveau du cortex frontal controlatéral, à 4h d'intervalle après des périodes d'éveil ou de sommeil. Ces différents travaux semblent donc en accord avec la baisse des PPSEc que nous avons constaté au cours du SL sur la voie Fx-CPFm. En prenant en compte ce dernier article ainsi que celui de Watson et collaborateurs (2016), il est donc possible que la diminution de la transmission synaptique au cours du SL soit une spécificité du cortex frontal. En revanche, l'article de Vyazovskiy et collaborateurs (2008) n'est pas exempt de critique. Il existe en effet, dans l'étude en PPSEc, un décalage d'environ 12h entre le groupe éveil et le groupe sommeil. L'augmentation des PPSEc ainsi constatée après une période d'éveil (contenant tout de même un peu de sommeil dans l'intervalle de 4h séparant les mesures) pourrait très bien être due à des variations circadiennes (voir par exemple Miyawaki et Diba, 2016; Perin *et al.*, 2014) ayant lieu en sens inverse durant la phase claire. Dans l'autre partie de l'étude, réalisée cette fois en *western-blot*, les auteurs ont tenté de pallier ce biais en maintenant des rats éveillés durant la phase claire et en sacrifiant les deux groupes à la même heure. Ils ont alors obtenu une augmentation de nombreux marqueurs de LTP au cours de la phase d'éveil, et une diminution de ces mêmes marqueurs après une phase de sommeil (GluA1, CamKII-P, Ser<sub>331</sub>-P entre autres). Ces résultats ont été obtenus à partir d'homogénats du cortex cérébral gauche, confirmant ainsi les résultats électrophysiologiques au niveau de la synapse cortico-corticale frontale, mais également à partir d'homogénats réalisés à partir de l'HPC gauche. Cependant, dans cette étude, il est impossible de distinguer les effets liés au SL de ceux liés au SP, et ces données ne viennent donc pas en contradiction directe avec nos résultats montrant une augmentation de la transmission au cours du SL sur la synapse SC-CA1. D'autre part, au vu de la variabilité constatée au sein de l'HPC, sur différentes synapses, en termes de modifications de la transmission synaptique par les états de vigilance (Winson et Abzug, 1977; Leung, 1980), nous pouvons nous demander si le résultat

obtenu dans l'HPC par Vyazovskiy et collaborateurs (2008) est généralisable à l'ensemble des synapses de cette structure.

Au contraire, plusieurs études semblent montrer une augmentation de la transmission synaptique au cours du SL, comme nous l'avons observé au niveau de la synapse SC-CA1. Nous avons par exemple mentionné plus haut l'article de Chauvette et collaborateurs (2012), montrant, au niveau d'une voie thalamo-corticale chez le chat, une potentialisation des réponses synaptiques après les premiers épisodes de SL. De façon remarquable, les auteurs proposent un mécanisme de cette potentialisation par le SL. Ils ont en effet montré, *in vitro*, que seule la combinaison du motif de décharge neuronal présent pendant le SL, combiné à des hyperpolarisations régulières dues aux OL suffisait à provoquer une potentialisation durable des réponses synaptiques, selon une voie dépendante des récepteurs NMDA (Chauvette *et al.*, 2012). En utilisant un autre paradigme expérimental, au sein de l'aire visuelle primaire (V1) chez la souris, Durkin et Aton (2016) ont étudié le phénomène d'« *Orientation-Specific Response Potentiation* » ([OSRP] ou potentialisation des réponses à une orientation spécifique) dont les mécanismes font de cette OSRP une forme de LTP propre au système visuel (Cooke et Bear, 2010). Les auteurs ont alors montré que l'OSRP, représentée ici par le taux de décharges des neurones potentialisés de V1, diminuait au cours des épisodes d'éveil, mais augmentait, au contraire, aussi bien en SL qu'en SP (Durkin et Aton, 2016). Au niveau de l'aire motrice primaire (M1), il a également été montré que le SL favorisait la création et le maintien d'épines dendritiques spécifiques d'un apprentissage ayant lieu lors de l'éveil précédent (Yang *et al.*, 2014). Enfin, deux articles portant sur des enregistrements unitaires au niveau de l'aire CA1 semblent converger avec l'augmentation de la transmission synaptique que nous avons observée au cours du SL. En effet, ces deux articles montrent une augmentation de la fréquence de décharge (FD) des cellules pyramidales de CA1 au cours des épisodes de SL (Grosmark *et al.*, 2012; Myawaki et Diba, 2016).

L'autre point de convergence entre nos résultats et ces deux articles concerne la diminution importante et rapide des PPSEc que nous avons observée sur la voie SC-CA1 au cours des épisodes de SP. En effet, ces deux articles montrent une diminution de la FD des cellules pyramidales de CA1 entre le début et la fin des épisodes de SP (Grosmark *et al.*, 2012; Myawaki et Diba, 2016). Une diminution de la fréquence de décharge des cellules pyramidales au cours du SP a également été récemment observée au niveau du cortex préfrontal (Watson *et al.*, 2016). Même si nous observons cette tendance au niveau de la voie

Fx-CPFm, cette diminution n'est pas significative dans nos résultats alors qu'elle l'est au niveau de la voie Fx-NAc. Notre travail confirme donc les données constatées dans CA1 par une mesure réelle de la transmission synaptique au niveau des collatérales de Schaffer, alors que ces deux articles, mesurant la fréquence de décharge des neurones, n'apportent que des preuves indirectes de ces modifications. De plus, la cinétique que nous proposons de cette décroissance est plus précise, dans la mesure où nous avons constaté que la baisse de la transmission synaptique sur la voie SC-CA1 n'était effective qu'au cours du premier tiers des épisodes de SP. Ce « downscaling » en SP a également été observé au niveau de l'aire V1 *via* le phénomène d'OSRP que nous avons abordé précédemment dans l'article de Durkin et Aton (2016). En revanche, Chauvette et collaborateurs (2012) n'observent pas d'effet du SP dans les modifications de transmission synaptique sur la synapse thalamo-corticale qu'ils ont étudiée. Une autre étude récente de notre équipe tend à montrer le rôle particulièrement important du SP sur les modifications de la transmission synaptique de la voie SC-CA1 et l'apprentissage. Ravassard et collaborateurs (2016) ont montré qu'une privation douce et sélective de SP pendant 4h suffisait à diminuer l'amplitude d'une LTP *in vitro* induite par stimulation haute fréquence (100Hz), ou à abolir la LTP induite par une stimulation à 10Hz, par rapport aux rats contrôles. Au contraire, les rats ayant subi un rebond de SP juste avant leur sacrifice montraient des amplitudes de LTP supérieures aux rats contrôles. De plus les performances mnésiques des rats ayant subi un rebond de SP étaient meilleures que celle des rats témoins, alors que ces performances étaient diminuées après une privation spécifique de SP. Dans la discussion de l'article, notre équipe postule que le SP permettrait une LTP au niveau de la voie SC-CA1, en avançant notamment de précédents résultats montrant une diminution de l'expression de Zif268 (un IEG impliqué dans la LTP) après une privation de SP (Ribeiro *et al.*, 1999, 2002 ; Ravassard *et al.*, 2015). Au contraire, nos résultats montrant la diminution rapide de la transmission synaptique de cette voie au cours du SP nous permettent d'avancer une explication alternative. Il se pourrait en effet que la privation de SP entraîne une saturation des synapses hippocampiques rendant plus difficile l'induction d'une LTP subséquente. La privation de SP entraînerait donc un phénomène similaire à une occlusion de LTP (décrite dans la **partie III.1**), ce qui pourrait expliquer nombre de ses effets délétères sur l'apprentissage (voir **partie IV**). Au contraire, les animaux ayant subi un rebond de SP auraient déjà subi un phénomène « *LTD-like* » au cours de ce rebond et la LTP serait par conséquent facilitée chez ces animaux. Quant à l'expression de Zif-268 constatée après le rebond, l'article de Yilmaz-Rastoder et collaborateurs (2011) décrit une tendance à l'augmentation de cet IEG dans l'HPC après l'induction d'une LTD, même si cette tendance

n'est pas significative. Il existe donc un doute raisonnable laissant imaginer que l'expression de Zif-268 après un rebond de SP puisse être liée à des phénomènes de type LTD.

Enfin, nous nous devons ici de discuter de l'absence de modification de la transmission synaptique que nous avons constatée au cours des épisodes d'éveil. En effet, la plupart des travaux traitant cette question, notamment ceux du groupe de Tononi, suggèrent une augmentation nette de la transmission synaptique au cours de l'éveil (Vyazovskiy *et al.*, 2008; Lubenov et Siapas, 2008; Liu *et al.*, 2010; Olcese *et al.*, 2010; Huber *et al.*, 2013). Il se pourrait, d'une part, que certaines des variations observées dans les études *in vivo* soit plutôt de nature circadiennes (Perin *et al.*, 2014; Miyawaki et Diba, 2016). D'autre part, il est également possible, étant donné la corrélation positive que nous avons montrée entre les ondes delta et la transmission synaptique dans la voie SC-CA1, que les données obtenues en fin d'épisodes d'éveil correspondent à des périodes où le ratio theta/delta est plus faible. Ce phénomène contribuerait automatiquement à majorer les réponses synaptiques obtenues comme l'ont également montré d'autres articles (Schall *et al.*, 2008; Schall et Dickson, 2010). En appliquant ce raisonnement sur nos données, il est également possible que notre propre délimitation des épisodes d'éveil, de SL et de micro-éveil, contribue à masquer des modifications potentielles au cours de l'éveil. Nous allons donc aborder ce problème dans la partie suivante, traitant notamment de quelques analyses nécessaires à effectuer sur nos données.

### III. Perspectives

#### III.1. Perspectives Analytiques

##### *Dynamique et hétérogénéité des états de vigilance.*

Au sein de l'HPC, nous avons observé une diminution de la transmission synaptique lors du SP par rapport à l'éveil. Cependant, Leung (1980) avait observé sur un rat que les potentiels évoqués moyennés à la synapse SC-CA1 étaient certes plus faibles en SP qu'en éveil calme, mais que ces potentiels moyennés étaient néanmoins plus élevés en SP que lorsque les rats marchaient (éveil actif). Comme nous l'avons mentionné dans nos résultats, nous devons donc dissocier nos périodes d'éveil actif, où le thêta est prédominant, de nos périodes d'éveil calme, caractérisées par la présence importante d'ondes delta et une faible activité musculaire (Crochet et Petersen, 2006; Fujisawa et Buzsaki, 2011).

Comme l'éveil, le SL n'est pas non plus un état homogène. En effet, la catégorie dite de « *non-REM sleep* » comprend, chez l'humain, le stade I, correspondant à l'endormissement et caractérisé par la présence de quelques OL, le stade II, marqué par la présence de fuseaux thalamo-corticaux, et le stade III défini par la présence régulière d'OL de grande amplitude. Cette augmentation progressive de la puissance des OL lorsque l'animal passe de l'endormissement au sommeil profond pourrait expliquer l'augmentation de la transmission synaptique au cours des épisodes de SL (Grosmark *et al.*, 2012; Chauvette *et al.*, 2012), ainsi que la corrélation positive entre la puissance des ondes delta et les réponses évoquées à la synapse SC-CA1 (partie **Résultats**). Nous avons en effet montré que ces réponses synaptiques augmentent au cours des épisodes de SL, notamment au début de ceux-ci. Les états de vigilance, tout comme les oscillations cérébrales, sont des états dynamiques non périodiques obéissant à des règles d'auto-organisation en système critique (Comte *et al.*, 2006). De ce fait, les changements d'états, notamment l'endormissement, sont des phénomènes très progressifs n'ayant pas de limites objectives. Les changements entre états sont donc fréquents, et, au sein même du SL, il est fréquent que des micro-éveils viennent perturber la dynamique de l'épisode en cours. Par conséquent, il est théoriquement possible de fragmenter ces épisodes de SL en plusieurs sous-épisodes, dont la dynamique est elle-même hautement variable.

Il est également possible d'adopter une démarche inverse, c'est-à-dire de regrouper plusieurs épisodes de SL dans des « périodes » de SL, correspondant à l'aggrégation de plusieurs épisodes entrecoupés de courtes périodes d'éveil. C'est la démarche qu'ont notamment utilisée Watson et collaborateurs (2016). Cette démarche est intéressante puisqu'elle permet justement d'observer une dynamique plus générale des périodes de SL, malgré l'hétérogénéité de ces périodes. Se pose alors le problème de la définition de ces « périodes » de SL ; par exemple, un éveil de deux minutes pendant lequel le rat effectue un toilettage puis se rendort est-il négligeable par rapport à une période prolongée de SL ? Là encore, se pose le problème d'établir des critères (arbitraires ou objectifs reposant sur plusieurs approches) pour la détermination de ces périodes. Pour leur étude, ces auteurs ont fixé la limite à une période d'éveil maximale de 45 secondes entre deux épisodes de SL, car ils ont constaté qu'au-delà de 45 secondes, la durée des périodes d'éveil semblait suivre une distribution différente (Brendon Watson, communication personnelle).

Le sommeil dit « intermédiaire » ou de « transition », à la transition des épisodes de SL et de SP n'a pas été encore abordé dans notre travail bien que cette question soit importante. Cet état, dont la présence a été discutée, est décrit chez les rongeurs par la présence d'oscillations thêta/alpha en concomitance avec les OL du SL. Cependant, ces transitions sont, dans la plupart des cas, difficiles à définir du fait de leur caractère lentement progressif et variable, des OL au thêta. Malgré ces difficultés, il serait toutefois intéressant d'examiner la transmission synaptique au sein de cet état, caractérisé comme différent du SL et du SP (Gottesman, 1996; Gervasoni *et al.*, 2004). En effet, ce sommeil de transition pourrait avoir un impact plus important que le SL ou le SP, notamment pour l'acquisition et l'extinction d'apprentissages aversifs (Datta, 2000; Mandile *et al.*, 2000; Ambrosini et Giuditta, 2001; Datta et O'Malley, 2013).

De la même manière, nous avons constaté la présence, au sein des épisodes de SP, de bouffées de thêta phasiques, et ceci sur tous nos sites d'enregistrement (**Figure 1** de la deuxième étude). Ces bouffées phasiques de thêta rapide, probablement en relation avec les ondes PGO (ou *p-waves*) et les mouvements oculaires rapides du SP, n'avaient été décrites jusqu'à présent qu'au niveau hippocampique, et plus récemment dans l'amygdale (Sano *et al.*, 1973; Sakai *et al.*, 1973; Karashima *et al.*, 2005; Montgomery *et al.*, 2008; Karashima *et al.*, 2010). Malgré leurs durées réduites, ces épisodes de thêta phasiques sont caractérisés par une forte synchronie thêta entre l'HPC et l'amygdale (Karashima *et al.*, 2010) ainsi qu'au sein de l'HPC comme nous l'avons mentionné plus haut (Montgomery *et al.*, 2008). Ces bouffées

sont également responsables du deuxième pic de cohérence, autour de 11Hz, observé pendant le SP entre l'HPC d'une part, et le CPFm ainsi que le NAc d'autre part (**Figure 1** de la deuxième étude). Cependant, les corrélations négatives relativement élevées observées entre le thêta du SP dans CA3 et l'amplitude des PSE à la synapse SC-CA1 (**Figures 7 et S1** de la deuxième étude), pourraient indiquer que, malgré une cohérence importante, ces bouffées seraient associées à une transmission synaptique diminuée à la synapse SC-CA1. Il serait donc judicieux de détecter ces bouffées phasiques et de comparer les réponses synaptiques de cet état transitoire avec celles obtenues pendant le thêta tonique du SP. La diminution éventuellement observées des réponses SC-CA1 en parallèle de ces bouffées de thêta phasique pourraient potentiellement être induites par une activité plus importante des neurones cholinergiques du septum, eux-mêmes susceptibles d'induire ces bouffées (Zhang *et al.*, 2010).

Nous l'avons donc vu, de nombreux sous-états sont individualisables au sein des trois grandes catégories que nous avons étudiées ici (éveil, SL et SP). Les changements entre ces sous-états sont cependant progressifs et très dynamiques, rendant leurs délimitations difficiles, mais possibles. Il nous faudra donc, dans les mois qui viennent, affiner notre analyse de la transmission synaptique à ces sous-états de vigilance.

### *Quelles sont les caractéristiques des oscillations spontanées enregistrées dans nos régions d'intérêt au cours du sommeil ?*

Nous avons, dans les analyses que nous avons présentées dans nos résultats, donné la priorité aux analyses des réponses évoquées. Effectivement, la majorité de nos données et de nos analyses sont relativement récentes et nous n'avons pas pour l'instant effectué de statistiques sur les oscillations spontanées (Transformé de Fourier, Cohérence, *etc.*). La comparaison plus systématique des oscillations spontanées entre régions et états de vigilance sera donc effectuée pour la rédaction de l'article à soumettre. Un des premiers problèmes, lorsque l'on s'intéresse aux oscillations enregistrées dans nos différentes aires, est de savoir si elles ont réellement un impact au niveau de nos régions d'intérêt. En effet, nous ne pouvons pour l'instant exclure que certaines oscillations observées soit liées à des phénomènes de conduction volumique. Cette conduction volumique correspond à la transmission passive d'une oscillation électrique à travers un milieu, biologique ou non, qui ne dépend que de l'impédance du matériau que cette oscillation traverse. Par opposition, le cerveau peut transmettre des oscillations, comme un rythme gamma par exemple, par voie synaptique, et ce

rythme pourra également être modifié, voire amplifié, par un second oscillateur neuronal à distance du premier. Cependant, il est important de garder à l'esprit qu'une oscillation conduite passivement par la simple conductivité du milieu peut tout autant influencer l'excitabilité des neurones qu'une oscillation générée localement. Dans les parties qui suivent nous allons donc évoquer quelques pistes permettant de confirmer l'impact des oscillations enregistrées, puis, nous expliquerons quelles sont les différentes raisons qui rendent pertinente l'analyse de ces oscillations spontanées.

### *Le thêta phasique du SP est-il présent dans le NAc et le CPF ?*

La conduction volumique pourrait par exemple être impliquée dans le cas des bouffées de thêta phasique décrites plus haut, que nous avons observées dans nos trois régions. Etant donné que l'HPC est la structure par laquelle l'oscillation thêta est massivement diffusée au reste du cerveau, notamment pendant le SP chez nos rats, il est probable que les bouffées phasiques observées dans les autres structures soient liées aux oscillations hippocampiques. Cependant, sur de nombreux enregistrements, ces bouffées sont plus visibles dans le NAc et le CPFm, qu'au niveau de notre électrode dans CA1. Etant donné les différences oscillatoires entre les sous-régions hippocampiques, et même entre différentes couches d'une sous-région, il est possible que notre électrode dans CA1 ne soit pas placée à l'endroit optimal pour enregistrer ces bouffées phasiques. En effet, il apparaît qu'au sein de l'HPC dorsal, ces bouffées phasiques ont une puissance maximale dans le gyrus denté (Montgomery *et al.*, 2008). D'un point de vue analytique, nous pourrions effectuer des corrélations croisées entre les enveloppes du signal thêta enregistré dans les trois régions, afin de d'obtenir une estimation de la directionnalité de ces signaux (Adhikari *et al.*, 2010b). Si un délai constant est observé entre plusieurs échantillons de SP et plusieurs rats, il est vraisemblable que ces bouffées phasiques soient transmises par des voies synaptiques. Nous essaierons dans un premier temps de caractériser ces bouffées sur les enregistrements différentiels permis par notre implantation. Enfin, la meilleure preuve de l'impact fonctionnel du thêta phasique dans le NAc et le CPFm consisterait à descendre plusieurs électrodes d'impédances élevées dans ces deux régions afin de vérifier qu'une activité unitaire ou multi-unitaire est modulée par la phase de ces bouffées (Sirota *et al.*, 2008).

### *Quelle est l'implication des oscillations spontanées sur les réponses Fornix-NAc ?*

Si la modulation de l'activité unitaire par les oscillations (phénomène de « *phase-locking* ») est le meilleur moyen de déterminer l'impact fonctionnel d'une oscillation sur les neurones,

nous pourrions également penser que si l'amplitude ou la pente de nos réponses sont modulées par la phase ou la puissance d'une oscillation, c'est que celle-ci a au moins un impact fonctionnel sur la transmission synaptique entre deux régions. L'analyse des corrélations entre puissance instantanée des oscillations, et les réponses évoquées dans le NAc et le CPFm nous donnera un premier indice quant à l'influence des oscillations sur la transmission entre l'HPC et ces deux dernières aires. Etant donné les modulations inverses des réponses SC-CA1 et Fx-NAc au cours du SP, il est possible que nos corrélations, notamment dans la bande thêta, soient inversées. D'autre part, la transmission synaptique n'étant pas significativement modulée entre l'éveil et le SL à la synapse Fx-NAc, il est vraisemblable que nous ne retrouvions pas les corrélations entre l'amplitude du delta et les réponses évoquées à cette synapse. De plus, nos enregistrements nous permettent de corrélérer l'amplitude des réponses aux oscillations enregistrées dans nos trois structures. Or, le NAc intègre les signaux en provenance du CPFm et de l'HPC (Goto et Grace, 2005a; Belujon et Grace, 2008) ce qui pourrait aboutir à une influence différente des rythmes enregistrés dans les trois régions.

#### *Quelle est l'implication des oscillations spontanées sur les réponses Fornix-CPFm ?*

Contrairement à la synapse SC-CA1, la transmission synaptique entre l'HPC et le CPFm diminue lors du SL. Il est donc probable que la corrélation entre la bande delta (ou les oscillations lentes) et les réponses évoquées dans le CPFm soit négative. Etant donné l'alternance d'états dépolarisés et hyperpolarisés pendant le SL (« *up-states* » et « *down-states* »), la phase des OL devrait également avoir un impact sur la communication entre l'HPC et le CPFm. Dans l'HPC de rat anesthésié, les réponses évoquées à la synapse SC-CA1 sont majorées dans la phase descendante des OL (Schall *et al.*, 2008). Il sera donc intéressant de voir si ces résultats sont généralisables aux autres synapses chez le rat non-anesthésié. Un point crucial restant à élucider est l'apparente contradiction entre cette diminution des réponses Fx-CPFm pendant le SL et l'importance attribuée à cette connexion pour les processus de réactivation et de consolidation dépendants du sommeil (Wierzynski *et al.*, 2009; Benchenane *et al.*, 2010, Rasch et Born, 2013). Nous pouvons d'un côté émettre l'hypothèse que la transmission synaptique entre l'HPC et le CPFm ne soit augmentée que lors d'épisodes particuliers, très probablement durant les SW-R et les fuseaux du SL. En effet, Wierzynski et collaborateurs (2009) ont montré au niveau unitaire que les interactions entre neurones de l'aire CA1 et du CPFm étaient limitées à des périodes discrètes et peu fréquentes, et que ces interactions limitées étaient proportionnelles à l'intensité des bouffées de PA dans CA1, en liaison avec les SW-R. De ce fait, l'amplitude des réponses à la synapse Fx-CPFm sera

vraisemblablement modulée par l'amplitude instantanée des hautes fréquences dans l'HPC. Cette sélectivité dans les interactions HPC-CPFm serait alors avantageuse puisqu'elle permettrait de réduire les interférences provenant d'entrées synaptiques peu pertinentes (issues de l'HPC ou d'autres afférences) au profit des entrées synaptiques les plus « importantes » à transférer vers le néocortex, vraisemblablement réactivées lors des SW-R les plus intenses. Ces interactions seraient par ailleurs favorisées par la coordination entre les OL, les fuseaux et ces SW-R (Maingret *et al.*, 2016). La corrélation entre la puissance des hautes-fréquences dans l'HPC et les réponses évoquées dans le CPFm pourrait donc s'avérer particulièrement intéressante.

### *III.2. Perspectives Expérimentales*

A la suite de ces différentes analyses qu'il nous faudra mener pour achever ce travail, nous souhaitons, pour finir, décrire quelques pistes expérimentales qui pourraient prolonger ce travail de thèse.

#### *Quels neuromodulateurs sont responsables des variations de transmission synaptiques au cours du cycle veille-sommeil ?*

Nous souhaiterions connaître, par une étude pharmacologique, l'origine de l'augmentation de transmission synaptique entre l'HPC et le NAc durant le SP. Comme expliqué plus haut, nous pensons que la dopamine ou la MCH pourraient être des candidats intéressants pour cette modulation observée pendant le SP. Nous avons donc procédé dernièrement à des injections systémiques de différentes substances pharmacologiques sur des rats chez lesquels les réponses synaptiques avaient pu se maintenir au cours des jours. Lors de ces expériences préliminaires, nous avons donc injecté par voie intra-péritonéale, soit du SCH-23390 (antagoniste D1 - 0,3mg/kg), soit de l'halopéridol (antagoniste D2 - 1mg/kg), soit du SNAP-7941 (antagoniste des récepteurs MCH de type 1 - 10mg/kg), soit une solution saline. Les données issues des jours où les rats ont été injectés avec ces substances pharmacologiques n'ont pas encore été analysées. Nous comparerons chez ces rats les ratios entre les réponses moyennes enregistrées en éveil, SL et SP. Par exemple, si l'augmentation de transmission synaptique est dépendante des récepteurs D1, nous nous attendons à observer une diminution

du ratio des réponses SP/éveil par rapport au jour où les rats ont reçu une injection de solution saline. Ces expériences pourraient donc nous fournir un premier indice quant à la modulation de la transmission synaptique observée dans le NAc pendant le SP.

### *Quels sont les effets de la privation de sommeil sur l'homéostasie synaptique ?*

Si le sommeil possède réellement un effet homéostatique sur la transmission synaptique, la privation de sommeil devrait normalement induire des modifications cumulatives de la transmission synaptique évoluant en parallèle avec la pression de sommeil croissante. Ainsi, Tononi et collaborateurs ont montré qu'une privation de sommeil totale entraînait une augmentation des réponses synaptiques au niveau du cortex frontal (Vyazovskiy *et al.*, 2008). D'après la SHY, cette augmentation devrait être visible dans le reste du cerveau également (Tononi et Cirelli, 2014). Nos enregistrements rendent ces hypothèses relativement faciles à tester et c'est une des pistes expérimentales que nous envisageons pour les mois à venir. Cependant, d'après nos résultats, nous nous attendons à des effets plus complexes que ceux décrits par le groupe de Tononi, sans qu'il soit évident de faire des prédictions précises à l'heure actuelle. Si nous considérons les résultats obtenus à la synapse SC-CA1, il pourrait être plus pertinent d'effectuer des privations spécifiques de SP. En effet, la transmission synaptique étant rapidement diminuée au cours de ces épisodes de SP, l'absence prolongée de cet état pourrait conduire à une potentialisation de la synapse SC-CA1. Cela pourrait expliquer pourquoi notre équipe a récemment montré *in vitro* que la privation de SP entraîne un déficit d'induction de la LTP à cette synapse (Ravassard *et al.*, 2016). Ce résultat pourrait éventuellement être lié à un phénomène d'occlusion de la LTP sur des voies déjà nettement potentialisées par la privation de SP, comme nous l'avons déjà expliqué plus haut. A l'inverse, lors de l'hypersomnie de SP induite par l'arrêt de cette privation, la transmission synaptique dans l'éveil suivant le « rebond » de SP devrait être nettement diminuée par rapport à l'éveil précédant la fin de privation. Ce mécanisme pourrait lui aussi expliquer la facilitation de la LTP *in vitro* observée après un rebond de SP (Ravassard *et al.*, 2016). Cette expérience pourrait donc montrer que le rôle putatif du sommeil dans l'homéostasie synaptique s'effectuerait préférentiellement par l'intermédiaire du SP, au moins au niveau de la synapse SC-CA1.

### *L'induction exogène de LTP aura-t-elle une influence sur l'homéostasie synaptique ?*

Enfin, comme nous l'avons mentionné dans nos objectifs, il serait particulièrement intéressant de comparer les modifications de transmission synaptique constatées lors du

sommeil basal de l'animal, avec les modifications qui auraient lieu après une augmentation artificielle de l'efficacité synaptique pendant l'éveil, c'est à dire après l'induction d'une LTP. Nous avons d'ores et déjà commencé à induire, avec succès, des LTP *in vivo* chez nos rats par un protocole de stimulation à haute fréquence (6 trains, espacés d'une minute, de 6 bouffées thêta composées de 4 pulses à 400Hz). De manière générale, si l'on considère encore une fois les hypothèses proposées par la SHY, un modèle computationnel semble montrer que, plus les poids synaptiques nets s'accroissent dans les réseaux corticaux à l'éveil, plus les OL sont amples pendant le sommeil qui suit. Ces OL entraîneraient ensuite une diminution nette de la transmission synaptique. Au fur et à mesure de la diminution des poids synaptiques, les OL diminueraient elles aussi en amplitude de façon exponentielle (Olcese *et al.*, 2010). Même si nos données enregistrées à la synapse SC-CA1 durant le sommeil basal semblent être en désaccord avec ces mécanismes, il pourrait être intéressant de manipuler de façon artificielle l'efficacité d'une synapse durant l'éveil afin d'observer l'effet potentiel sur l'augmentation des OL et la normalisation supposée de l'efficacité synaptique dans le sommeil qui suit. Ainsi, l'induction d'une LTP à la synapse SC-CA1 durant l'éveil devrait aboutir à une plus grande amplitude des OL locales lors du sommeil qui suit. De même, selon ce modèle, la diminution supposée de la transmission synaptique après une période de SL suivant l'induction d'une LTP devrait être supérieure à la diminution observée en condition basale. Au vu de nos résultats sur la synapse SC-CA1, il se pourrait que ce soit plutôt la diminution de transmission synaptique au cours du SP qui soit affectée par l'augmentation des poids synaptiques à l'éveil. Accessoirement, il a été montré *in vitro* que l'induction d'une LTP à la synapse SC-CA1 provoque, dans CA3 et CA1, la génération de complexes très ressemblants aux SW-R observés *in vivo* (Behrens *et al.*, 2005). D'autre part, il a également été montré que l'apprentissage entraîne une augmentation du nombre de SW-R lors du sommeil qui suit cet apprentissage et que ce phénomène est homéostatique et dépendant des récepteurs NMDA (Eschenko *et al.*, 2008; Girardeau *et al.*, 2014). En revanche, une relation directe entre l'induction d'une LTP et l'augmentation du nombre de SW-R chez l'animal vivant et libre de ses mouvements n'a pour l'instant jamais été démontrée à notre connaissance. L'impact de cette LTP et des SW-R qui suivraient sur l'évolution de la transmission synaptique entre l'HPC et le CPFm au cours du sommeil suivant serait également intéressant à examiner. Par exemple, la relation entre la diminution d'occurrences des SW-R et l'évolution de la transmission synaptique pourrait nous renseigner sur la relation entre ces deux paramètres. Miyawaki et Diba (2016) ont déjà commencé à dégager des corrélations entre la quantité de fuseaux et de SW-R, et la diminution du taux de décharge des cellules pyramidales de CA1

lors du SP subséquent. Nous pourrions également tenter d'induire une LTP à la synapse Fx-CPFm, qui peut elle aussi être potentialisée (Mulder *et al.*, 1997) et ainsi éventuellement en déduire un mécanisme homéostatique spécifique au cortex frontal/préfrontal. De manière générale, la modification des poids synaptiques nets par induction exogène de LTP pourrait apporter de nouvelles données expérimentales permettant de confirmer, ou d'infirmer un rôle du sommeil et de ses oscillations associées dans un mécanisme global d'homéostasie synaptique.

### *L'apprentissage influe-t-il sur les modifications de transmission synaptique au cours du sommeil ?*

Nous avons mentionné, dans notre partie « Objectifs » de l'introduction, que nous avons prévu de comparer la modulation de transmission synaptique au cours du sommeil basal avec celle qui surviendrait après un apprentissage. Cependant, devant nos difficultés techniques à conserver des réponses stables durant de longues périodes (plusieurs jours) au début de ce projet, nous nous sommes d'abord focalisés sur les modifications de transmission en sommeil basal. Du fait des différentes modifications que nous avons observées lors du SP, et de l'implication préférentielle de cet état de vigilance dans la mémoire émotionnelle, nous pensons que le conditionnement de peur au contexte pourrait nous permettre d'observer des modulations de la transmission synaptique au cours du sommeil suivant plus importantes que celles que nous avons décrites lors du sommeil basal. Etant donné que l'augmentation de la transmission synaptique au cours du SP entre l'HPC et le NAc était jusqu'alors inconnue, et que la diminution de transmission synaptique à la synapse SC-CA1 pendant cet état n'a pas non plus fait l'objet d'investigations comportementales précises, il est difficile de prédire comment ces modulations seront influencées par l'apprentissage. Il se pourrait donc que le conditionnement de peur au contexte entraîne une plus grande hausse de la transmission synaptique lors du SP à la synapse Fx-NAc. Il est aussi possible que l'augmentation de la transmission synaptique à la synapse SC-CA1 lors du SL soit plus importante qu'en condition basale. Le SP pourrait venir compenser de manière homéostatique ce mécanisme par une plus grande baisse de la transmission synaptique. Il sera également intéressant d'observer si les oscillations spontanées et la cohérence entre nos différentes régions sont influencées par cet apprentissage et par l'extinction de ce comportement de peur. En accord avec Popa et collaborateurs (2010), nous pensons observer une plus grande cohérence entre nos différentes régions pendant le SP post-apprentissage. D'autre part, nous pourrions probablement observer

une augmentation des bouffées de thêta phasique dans nos trois régions après l'extinction de ce conditionnement de peur (Datta et O'Malley, 2013).

Enfin, la photostimulation optogénétique doit naturellement être abordée dans ces perspectives. Nous avons utilisé dans notre étude une stimulation électrique du Fx afin d'étudier la transmission entre l'HPC d'une part, et le NAc ainsi que le CPFm d'autre part. Cependant le Fx est un faisceau de fibres très volumineux par lequel passe de nombreuses voies d'afférences différentes. Il serait donc judicieux, pour des études ultérieures, d'utiliser les outils optogénétiques qui nous permettraient d'être beaucoup plus spécifiques dans l'étude de nos connexions. Chez le rat pour lequel les lignées génétiquement modifiées sont pour l'heure relativement rares, nous pourrions utiliser des vecteurs viraux dont l'expression est contrôlée par des promoteurs ubiquitaires (synapsine par exemple). Nous pourrions ainsi injecter ces vecteurs viraux dans l'HPC au niveau de la zone CA1 ventral/Subiculum ventral et placer une fibre optique au-dessus du NAc et/ou du CPFm. L'injection d'un virus contenant le gène codant pour la channelrhodopsine pourrait ainsi nous permettre d'enregistrer des réponses synaptiques excitatrices induites par de brèves stimulations optogénétiques, spécifiques des afférences hippocampiques (Ramirez *et al.*, 2013). Ce procédé nous assurerait une plus grande spécificité des voies étudiées. D'autre part, l'utilisation de vecteurs viraux contenant l'archéorhodopsine pourrait nous permettre d'inhiber spécifiquement ces connexions pendant certains états de vigilance, et ainsi mesurer l'effet de cette inhibition sur l'évolution de la transmission synaptique ou le comportement. Ce procédé, appliqué par transfection dans l'HPC et stimulation lumineuse inhibitrice dans le NAc pendant les épisodes de SP, serait le meilleur moyen de démontrer l'importance de la transmission HPC-NAc au cours du SP dans différentes tâches d'apprentissage.

#### IV. Conclusion générale.

Le travail que nous avons achevé en première année de thèse a comparé, pour la première fois au sein d'un même dispositif contrôlé, l'impact de tâches comportementales différentes faisant appel à la MR, ou à la mémoire de travail impliquant différents degrés d'oubli. Nos résultats montrent un impact différent de ces processus cognitifs distincts sur les paramètres du sommeil. La tâche de MR a plus d'impact sur les paramètres du SP, dont la durée de celui-ci (mais seulement de façon transitoire), et la durée des bouffées de thêta phasique. D'après notre deuxième étude, montrant une diminution de la transmission synaptique de la voie SC-CA1 au cours du SP, il se pourrait que le SP permette un meilleur apprentissage en « nettoyant » les synapses, et donc, en préparant les potentialisations nécessaires à l'apprentissage du jour suivant. En revanche, les performances dans la tâche de mémoire de travail impliquant l'oubli semblent, elles, être plus dépendantes du SL et des ondes delta. L'augmentation de transmission constatée sur la voie SC-CA1 au cours du SL pourrait paraître en contradiction avec la SHY, visant à expliquer le rôle du SL par un « *downscaling* » synaptique supprimant les interférences. Cependant, au vu des différences de modulation entre les synapses que nous avons constatées dans la deuxième étude, il est possible que ce « *downscaling* » ait lieu sur une autre synapse, comme celle reliant la voie perforante au gyrus denté. Cette dernière structure apparaît en effet comme déterminante dans la gestion des interférences en mémoire de travail (Joseph *et al.*, 2015). Pour continuer sur ces contrastes entre structures, les données recueillies au cours de la deuxième partie de notre thèse nous auront permises de confirmer que le sommeil exerce bien une influence différente sur la transmission synaptique selon le type de synapse considéré. Ainsi, l'augmentation de SP dans la tâche de MR pourrait tout aussi bien être liée à un transfert d'informations entre l'HPC et le NAc, tout aussi important pour les apprentissages spatiaux (voir **Introduction**). Les modulations constatées confirment également les rôles fondamentalement différents des deux états de sommeil principaux sur la transmission synaptique. Il paraît donc logique que des types d'apprentissages différents entraînent des modifications différentes de la structure et des caractéristiques du sommeil. Ces résultats, dans leur ensemble, contribuent donc à expliquer l'hétérogénéité des données de la littérature portant sur l'implication du sommeil sur la mémoire, bien souvent obtenues avec des types d'apprentissage différents. Bien que l'influence du sommeil et des oscillations associées sur les interactions entre les neurones de différentes aires commencent à faire l'objet d'une littérature bourgeonnante, nos données

concernant l'évolution de la transmission synaptique entre différentes régions cérébrales viendront, nous l'espérons, compléter ces connaissances. Alors que les résultats obtenus à la synapse SC-CA1 sont relativement conformes aux prédictions issues des travaux examinant des neurones unitaires, ce n'est pas le cas pour les deux autres synapses que nous avons étudiées. Les recherches futures devront donc s'attacher à mieux comprendre en quoi les interactions entre neurones distants au cours du sommeil dépendent des modulations de la transmission synaptique. Enfin, il apparaît qu'une investigation plus spécifique de la transmission synaptique dans le réseau limbique, et plus particulièrement de l'HPC vers les structures sous-corticales, pourrait nous permettre de préciser le rôle du SP dans la consolidation à long terme de la mémoire, au-delà des nombreuses spéculations théoriques coexistant ces dernières années. À terme, une meilleure compréhension de la régulation de la transmission synaptique au cours du sommeil pourra permettre d'envisager de nouvelles approches thérapeutiques pour les nombreuses pathologies dans lesquelles des liens importants entre sommeil et dysfonctionnement mnésiques ont été constatés; comme c'est par exemple le cas pour le syndrome de stress post-traumatique, la dépression majeure et la maladie d'Alzheimer.

# **Références bibliographiques**

- Abbott LF, Regehr WG.** Synaptic computation. *Nature* 431: 796–803, 2004.
- Able SL, Ivarsson M, Fish RL, Clarke TL, McCourt C, Duckworth JM, Napier C, Katugampola SD.** Localisation of melanin-concentrating hormone receptor 1 in rat brain and evidence that sleep parameters are not altered despite high central receptor occupancy. *European Journal of Pharmacology* 616: 101–106, 2009.
- Abraham WC, Bear MF.** Metaplasticity: The plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19: 126–130, 1996.
- Adhikari A, Sigurdsson T, Topiwala MA, Gordon JA.** Cross-correlation of instantaneous amplitudes of field potential oscillations: A straightforward method to estimate the directionality and lag between brain areas. *Journal of Neuroscience Methods* 191: 191–200, 2010a.
- Adhikari A, Topiwala MA, Gordon JA.** Synchronized Activity between the Ventral Hippocampus and the Medial Prefrontal Cortex during Anxiety. *Neuron* 65: 257–269, 2010b.
- Amaral DG, Dolorfo C, Alvarez-Royo P.** Organization of CA1 projections to the subiculum: A PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1: 415–435, 1991.
- Ambrosini MV, Giuditta A.** Learning and sleep: the sequential hypothesis. *Sleep Med Rev* 5: 477–490, 2001.
- Anderson MC, Hanslmayr S.** Neural mechanisms of motivated forgetting. *Trends in Cognitive Sciences* 18: 279–292, 2014.
- Annett LE, McGregor A, Robbins TW.** The effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on spatial learning and extinction in the rat. *Behavioural Brain Research* 31: 231–242, 1989.
- Barnes C, Jung M, Mcnaughton B, Korol D, Andreasson K, Worley P.** Ltp Saturation and Spatial-Learning Disruption - Effects of Task Variables and Saturation Levels. *J Neurosci* 14: 5793–5806, 1994.
- Barrett TR, Ekstrand BR.** Effect of sleep on memory: III. Controlling for time-of-day effects. *Journal of Experimental Psychology* 96: 321–327, 1972.
- Barria A, Muller D, Derkach V, Griffith LC, Soderling TR.** Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 276: 2042–2045, 1997.
- Battaglia FP, Benchenane K, Sirota A, Pennartz CMA, Wiener SI.** The hippocampus: hub of brain network communication for memory. *Trends in Cognitive Sciences* 15: 310–318, 2011.
- Beatty WW, Shavalia DA.** Rat spatial memory: Resistance to retroactive interference at long retention intervals. *Animal Learning & Behavior* 8: 550–552, 1980.
- Behrens CJ, van den Boom LP, de Hoz L, Friedman A, Heinemann U.** Induction of sharp wave-ripple complexes in vitro and reorganization of hippocampal networks. *Nat Neurosci* 8: 1560–1567, 2005.

**Belujon P, Grace AA.** Critical Role of the Prefrontal Cortex in the Regulation of Hippocampus–Accumbens Information Flow. *J Neurosci* 28: 9797–9805, 2008.

**Benchenane K, Peyrache A, Khamassi M, Tierney PL, Gioanni Y, Battaglia FP, Wiener SI.** Coherent Theta Oscillations and Reorganization of Spike Timing in the Hippocampal-Prefrontal Network upon Learning. *Neuron* 66: 921–936, 2010.

**Bienenstock E, Cooper L, Munro P.** Theory for the Development of Neuron Selectivity - Orientation Specificity and Binocular Interaction in Visual-Cortex. *J Neurosci* 2: 32–48, 1982.

**Binder S, Rawohl J, Born J, Marshall L.** Transcranial slow oscillation stimulation during NREM sleep enhances acquisition of the radial maze task and modulates cortical network activity in rats. *Front Behav Neurosci* 7: 220, 2014.

**Bjork RA, LaBerge D, Legrand R.** The modification of short-term memory through instructions to forget. *Psychon Sci* 10: 55–56, 1968.

**Blaaha CD, Yang CR, Floresco SB, Barr AM, Phillips AG.** Stimulation of the ventral subiculum of the hippocampus evokes glutamate receptor-mediated changes in dopamine efflux in the rat nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 9: 902–911, 1997.

**Blanchard CD, Blanchard RJ.** Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 81: 281–290, 1972.

**Bliss T, Lomo T.** Long-Lasting Potentiation of Synaptic Transmission in Dentate Area of Anesthetized Rabbit Following Stimulation of Perforant Path. *J Physiol-London* 232: 331–356, 1973.

**Boeijinga PH, Mulder AB, Pennartz CMA, Manshanden I, da Silva FHL.** Responses of the nucleus accumbens following fornix/fimbria stimulation in the rat. Identification and long-term potentiation of mono- and polysynaptic pathways. *Neuroscience* 53: 1049–1058, 1993.

**Boeijinga PH, Pennartz CM, Lopes da Silva FH.** Paired-pulse facilitation in the nucleus accumbens following stimulation of subicular inputs in the rat. *Neuroscience* 35: 301–311, 1990.

**Boissard R, Gervasoni D, Schmidt MH, Barbagli B, Fort P, Luppi PH.** The rat ponto-medullary network responsible for paradoxical sleep onset and maintenance: a combined microinjection and functional neuroanatomical study. *Eur J Neurosci* 16: 1959–1973, 2002.

**Borbely AA, Achermann P.** Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms* 14: 557–568, 1999.

**Bouton ME.** Context and retrieval in extinction and in other examples of interference in simple associative learning. In: *Current topics in animal learning: Brain, emotion, and cognition*, p. 25–53. Edited by Dachowski L, Flaherty CF. Hillsdale, NJ, US: Lawrence Erlbaum Associates, Inc, 1991.

- Bouton ME.** Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychological Bulletin* 114: 80–99, 1993.
- Bouton ME, Bolles RC.** Conditioned fear assessed by freezing and by the suppression of three different baselines. *Animal Learning & Behavior* 8: 429–434, 1980.
- Boyce R, Glasgow SD, Williams S, Adamantidis A.** Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Science* 352: 812–816, 2016.
- Buchegger J, Fritsch R, Meier-Koll A, Riehle H.** Does Trampolining and Anaerobic Physical Fitness Affect Sleep? *Perceptual and Motor Skills* 73: 243–252, 1991.
- Buzsáki G.** Hippocampal sharp waves: Their origin and significance. *Brain Research* 398: 242–252, 1986.
- Buzsáki G.** Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus* 25: 1073–1188, 2015.
- Buzsáki G, Leung L, Vanderwolf C.** Cellular Bases of Hippocampal Eeg in the Behaving Rat. *Brain Res Rev* 6: 139–171, 1983.
- Cantero JL, Atienza M, Stickgold R, Kahana MJ, Madsen JR, Kocsis B.** Sleep-Dependent  $\theta$  Oscillations in the Human Hippocampus and Neocortex. *J Neurosci* 23: 10897–10903, 2003.
- Castaldo V, Krynicki V, Goldstein J.** Sleep Stages and Verbal Memory. *Perceptual and Motor Skills* 39: 1023–1030, 1974.
- Cavada C, Llamas A, Reinoso-Suárez F.** Allocortical afferent connections of the prefrontal cortex in the cat. *Brain Res* 260: 117–120, 1983.
- Chauvette S, Seigneur J, Timofeev I.** Sleep Oscillations in the Thalamocortical System Induce Long-Term Neuronal Plasticity. *Neuron* 75: 1105–1113, 2012.
- Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M.** Narcolepsy in orexin Knockout Mice: Molecular Genetics of Sleep Regulation. *Cell* 98: 437–451, 1999.
- Chernik DA.** Effect of Rem Sleep Deprivation on Learning and Recall by Humans. *Perceptual and Motor Skills* 34: 283–294, 1972.
- Ciocchi S, Passecker J, Malagon-Vina H, Mikus N, Klausberger T.** Selective information routing by ventral hippocampal CA1 projection neurons. *Science* 348: 560–563, 2015.
- Clemens Z, Fabó D, Halász P.** Twenty-four hours retention of visuospatial memory correlates with the number of parietal sleep spindles. *Neuroscience Letters* 403: 52–56, 2006.
- Clément O, Sapin E, Bérod A, Fort P, Luppi P-H.** Evidence that neurons of the sublaterodorsal tegmental nucleus triggering paradoxical (REM) sleep are glutamatergic. *Sleep* 34: 419–423, 2011.

**Cohen JS, Reid S, Chew K.** Effects of varying trial distribution, intra- and extramaze cues, and amount of reward on proactive interference in the radial maze. *Animal Learning & Behavior* 22: 134–142, 1994.

**Cohen MX, Axmacher N, Lenartz D, Elger CE, Sturm V, Schlaepfer TE.** Nuclei Accumbens Phase Synchrony Predicts Decision-Making Reversals Following Negative Feedback. *J Neurosci* 29: 7591–7598, 2009.

**Colgin LL.** Oscillations and hippocampal–prefrontal synchrony. *Current Opinion in Neurobiology* 21: 467–474, 2011.

**Colgin LL, Denninger T, Fyhn M, Hafting T, Bonnevie T, Jensen O, Moser M-B, Moser EI.** Frequency of gamma oscillations routes flow of information in the hippocampus. *Nature* 462: 353–U119, 2009.

**Comte JC, Ravassard P, Salin PA.** Sleep dynamics: A self-organized critical system. *Phys Rev E* 73: 056127, 2006.

**Cooke SF, Bear MF.** Visual Experience Induces Long-Term Potentiation in the Primary Visual Cortex. *J Neurosci* 30: 16304–16313, 2010.

**Cooper LN, Bear MF.** OPINION The BCM theory of synapse modification at 30: interaction of theory with experiment. *Nat Rev Neurosci* 13: 798–810, 2012.

**Corbit LH, Balleine BW.** The Role of the Hippocampus in Instrumental Conditioning. *J Neurosci* 20: 4233–4239, 2000.

**Corbit LH, Balleine BW.** The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research* 146: 145–157, 2003.

**Cox R, Hofman WF, Talamini LM.** Involvement of spindles in memory consolidation is slow wave sleep-specific. *Learn Mem* 19: 264–267, 2012.

**Crick F, Mitchison G.** The function of dream sleep. *Nature* 304: 111–114, 1983.

**Crick F, Mitchison G.** Rem-Sleep and Neural Nets. *Behav Brain Res* 69: 147–155, 1995.

**Crochet S, Petersen CCH.** Correlating whisker behavior with membrane potential in barrel cortex of awake mice. *Nat Neurosci* 9: 608–610, 2006.

**Cummings JA, Mulkey RM, Nicoll RA, Malenka RC.** Ca<sup>2+</sup> signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. *Neuron* 16: 825–833, 1996.

**Dahan L, Astier B, Vautrelle N, Urbain N, Kocsis B, Chouvet G.** Prominent burst firing of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area during paradoxical sleep. *Neuropsychopharmacology* 32: 1232–1241, 2007.

**Dang-Vu TT, Schabus M, Desseilles M, Sterpenich V, Bonjean M, Maquet P.** Functional Neuroimaging Insights into the Physiology of Human Sleep. *Sleep* 33: 1589–1603, 2010.

- Datta S.** Avoidance task training potentiates phasic pontine-wave density in the rat: A mechanism for sleep-dependent plasticity. *J Neurosci* 20: 8607–8613, 2000.
- Datta S, Li G, Auerbach S.** Activation of phasic pontine-wave generator in the rat: a mechanism for expression of plasticity-related genes and proteins in the dorsal hippocampus and amygdala. *European Journal of Neuroscience* 27: 1876–1892, 2008.
- Datta S, O'Malley MW.** Fear Extinction Memory Consolidation Requires Potentiation of Pontine-Wave Activity during REM Sleep. *J Neurosci* 33: 4561–4569, 2013.
- Datta S, Siwek DF.** Single cell activity patterns of pedunculo-pontine tegmentum neurons across the sleep-wake cycle in the freely moving rats. *J Neurosci Res* 70: 611–621, 2002.
- Davidson TJ, Kloosterman F, Wilson MA.** Hippocampal Replay of Extended Experience. *Neuron* 63: 497–507, 2009.
- De Jaeger X, Courtney J, Brus M, Artinian J, Villain H, Bacquie E, Roulet P.** Characterization of spatial memory reconsolidation. *Learn Mem* 21: 316–324, 2014.
- De Koninck J, Prévost F, Lortie-Lussier M.** Vertical inversion of the visual field and REM sleep mentation. *Journal of Sleep Research* 5: 16–20, 1996.
- De Vivo L de, Bellesi M, Marshall W, Bushong EA, Ellisman MH, Tononi G, Cirelli C.** Ultrastructural evidence for synaptic scaling across the wake/sleep cycle. *Science* 355: 507–510, 2017.
- DeCoteau WE, Thorn C, Gibson DJ, Courtemanche R, Mitra P, Kubota Y, Graybiel AM.** Learning-related coordination of striatal and hippocampal theta rhythms during acquisition of a procedural maze task. *PNAS* 104: 5644–5649, 2007.
- DeFrance JF, Yoshihara H.** Fimbria input to the nucleus accumbens septi. *Brain Research* 90: 159–163, 1975.
- Deschaux O, Thevenet A, Spennato G, Arnaud C, Moreau JL, Garcia R.** Low-frequency stimulation of the hippocampus following fear extinction impairs both restoration of rapid eye movement sleep and retrieval of extinction memory. *Neuroscience* 170: 92–98, 2010.
- Destrade C, Hennevin E, Leconte P, Soumireu-Mourat B.** Relationship between paradoxical sleep and time-dependent improvement of performance in BALB/c mice. *Neuroscience Letters* 7: 239–244, 1978.
- Diba K, Buzsáki G.** Forward and reverse hippocampal place-cell sequences during ripples. *Nat Neurosci* 10: 1241–1242, 2007.
- Diekelmann S, Born J.** The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci* 11: 114–126, 2010.
- Diering GH, Nirujogi RS, Roth RH, Worley PF, Pandey A, Huganir RL.** Homer1a drives homeostatic scaling-down of excitatory synapses during sleep. *Science* 355: 511–515, 2017.

**Dobrunz LE, Stevens CF.** Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron* 18: 995–1008, 1997.

**Dong Z, Bai Y, Wu X, Li H, Gong B, Howland JG, Huang Y, He W, Li T, Wang YT.** Hippocampal long-term depression mediates spatial reversal learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology* 64: 65–73, 2013.

**Dudek S, Bear M.** Homosynaptic Long-Term Depression in Area Ca1 of Hippocampus and Effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 4363–4367, 1992.

**Durkin J, Aton SJ.** Sleep-Dependent Potentiation in the Visual System Is at Odds with the Synaptic Homeostasis Hypothesis. *Sleep* 39: 155–159, 2016.

**Dzirasa K, Ribeiro S, Costa R, Santos LM, Lin S-C, Grosmark A, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG, Nicolelis MAL.** Dopaminergic Control of Sleep–Wake States. *J Neurosci* 26: 10577–10589, 2006.

**Eriksson J, Vogel EK, Lansner A, Bergstrom F, Nyberg L.** Neurocognitive Architecture of Working Memory. *Neuron* 88: 33–46, 2015.

**Eschenko O, Moelle M, Born J, Sara SJ.** Elevated sleep spindle density after learning or after retrieval in rats. *J Neurosci* 26: 12914–12920, 2006.

**Eschenko O, Ramadan W, Mölle M, Born J, Sara SJ.** Sustained increase in hippocampal sharp-wave ripple activity during slow-wave sleep after learning. *Learn Mem* 15: 222–228, 2008.

**Fadok JP, Dickerson TMK, Palmiter RD.** Dopamine Is Necessary for Cue-Dependent Fear Conditioning. *J Neurosci* 29: 11089–11097, 2009.

**Farber J, Marks G, Roffwarg H.** Rapid Eye-Movement Sleep Pgo-Type Waves Are Present in the Dorsal Pons. *Science* 209: 615–617, 1980.

**Ferretti V, Roulet P, Sargolini F, Rinaldi A, Perri V, Fabbro MD, Costantini VJA, Annesse V, Scesa G, Stefano MED, Oliverio A, Mele A.** Ventral striatal plasticity and spatial memory. *PNAS* 107: 7945–7950, 2010.

**Fischer S, Hallschmid M, Elsner AL, Born J.** Sleep forms memory for finger skills. *PNAS* 99: 11987–11991, 2002.

**Fishbein W.** Disruptive Effects of Rapid Eye Movement Sleep Deprivation on Long-Term Memory. *Physiol Behav* 6: 279-, 1971.

**Fishbein W, Kastaniotis C, Chattman D.** Paradoxical sleep: Prolonged augmentation following learning. *Brain Research* 79: 61–75, 1974.

**Floresco SB, Todd CL, Grace AA.** Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *J Neurosci* 21: 4915–4922, 2001.

**Floresco SB, West AR, Ash B, Moore H, Grace AA.** Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci* 6: 968–973, 2003.

**Fogel SM, Smith CT, Beninger RJ.** Evidence for 2-stage models of sleep and memory: Learning-dependent changes in spindles and theta in rats. *Brain Research Bulletin* 79: 445–451, 2009.

**Fort P, Bassetti CL, Luppi P-H.** Alternating vigilance states: new insights regarding neuronal networks and mechanisms. *European Journal of Neuroscience* 29: 1741–1753, 2009.

**Fowler M, Sullivan M, Ekstrand B.** Sleep and Memory. *Science* 179: 302–304, 1973.

**Fox SE.** Membrane potential and impedance changes in hippocampal pyramidal cells during theta rhythm. *Exp Brain Res* 77: 283–294, 1989.

**Fraize N, Hamieh AM, Joseph MA, Touret M, Parmentier R, Salin PA, Malleret G.** Differential changes in hippocampal CaMKII and GluA1 activity after memory training involving different levels of adaptive forgetting. *Learn Mem* 24: 86–94, 2017.

**Frank MG.** Why I Am Not SHY: A Reply to Tononi and Cirelli. *Neural Plasticity* 2013: e394946, 2013.

**Frankland PW, Bontempi B.** The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6: 119–130, 2005.

**French RM.** Catastrophic forgetting in connectionist networks. *Trends Cogn Sci (Regul Ed)* 3: 128–135, 1999.

**French SJ, Hailstone JC, Totterdell S.** Basolateral amygdala efferents to the ventral subiculum preferentially innervate pyramidal cell dendritic spines. *Brain Research* 981: 160–167, 2003.

**Frey U, Schroeder H, Matthies H.** Dopaminergic Antagonists Prevent Long-Term Maintenance of Posttetanic Ltp in the Ca1 Region of Rat Hippocampal Slices. *Brain Res* 522: 69–75, 1990.

**de Frias CM, Annerbrink K, Westberg L, Eriksson E, Adolfsson R, Nilsson LG.** COMT gene polymorphism is associated with declarative memory in adulthood and old age. *Behav Genet* 34: 533–539, 2004.

**Fries P.** A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends in Cognitive Sciences* 9: 474–480, 2005.

**Fries P.** Neuronal Gamma-Band Synchronization as a Fundamental Process in Cortical Computation. *Annual Review of Neuroscience* 32: 209–224, 2009.

**Fujisawa S, Buzsáki G.** A 4 Hz Oscillation Adaptively Synchronizes Prefrontal, VTA, and Hippocampal Activities. *Neuron* 72: 153–165, 2011.

**Gais S, Albouy G, Boly M, Dang-Vu TT, Darsaud A, Desseilles M, Rauchs G, Schabus M, Sterpenich V, Vandewalle G, Maquet P, Peigneux P.** Sleep transforms the cerebral trace of declarative memories. *PNAS* 104: 18778–18783, 2007.

**Gais S, Molle M, Helms K, Born J.** Learning-dependent increases in sleep spindle density. *J Neurosci* 22: 6830–6834, 2002.

**Gallistel CR, Matzel LD.** The neuroscience of learning: beyond the Hebbian synapse. *Annu Rev Psychol* 64: 169–200, 2013.

**Galopin T, Fort P, Eggermann E, Cauli B, Luppi PH, Rossier J, Audinat E, Muhlethaler M, Serafin M.** Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature* 404: 992–995, 2000.

**Gervasoni D, Lin SC, Ribeiro S, Soares ES, Pantoja J, Nicolelis M a. L.** Global forebrain dynamics predict rat behavioral states and their transitions. *J Neurosci* 24: 11137–11147, 2004.

**Girardeau G, Benchenane K, Wiener SI, Buzsáki G, Zugaro MB.** Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat Neurosci* 12: 1222–1223, 2009.

**Girardeau G, Cei A, Zugaro M.** Learning-Induced Plasticity Regulates Hippocampal Sharp Wave-Ripple Drive. *J Neurosci* 34: 5176–5183, 2014.

**Giuditta A, Ambrosini M, Montagnese P, Mandile P, Cotugno M, Zucconi G, Vescia S.** The Sequential Hypothesis of the Function of Sleep. *Behav Brain Res* 69: 157–166, 1995.

**Godden DR, Baddeley AD.** Context-Dependent Memory in Two Natural Environments: On Land and Underwater. *British Journal of Psychology* 66: 325–331, 1975.

**Goldstein AN, Walker MP.** The Role of Sleep in Emotional Brain Function. In: *Annual Review of Clinical Psychology, Vol 10*, p. 679–708. Edited by Cannon TD, Widiger T. Palo Alto: Annual Reviews, 2014.

**Goto Y, Grace AA.** Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. *Nat Neurosci* 8: 805–812, 2005a.

**Goto Y, Grace AA.** Dopamine-dependent interactions between limbic and prefrontal cortical plasticity in the nucleus accumbens: Disruption by cocaine sensitization. *Neuron* 47: 255–266, 2005b.

**Gottesmann C.** The Transition from Slow-wave Sleep to Paradoxical Sleep: Evolving Facts and Concepts of the Neurophysiological Processes Underlying the Intermediate Stage of Sleep. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 20: 367–387, 1996.

**Goutagny R, Luppi P-H, Salvert D, Lapray D, Gervasoni D, Fort P.** Role of the dorsal paragigantocellular reticular nucleus in paradoxical (rapid eye movement) sleep generation: a combined electrophysiological and anatomical study in the rat. *Neuroscience* 152: 849–857, 2008.

**Green EJ, McNaughton BL, Barnes CA.** Role of the medial septum and hippocampal theta rhythm in exploration-related synaptic efficacy changes in rat fascia dentata. *Brain Research* 529: 102–108, 1990.

**Groenewegen HJ, Room P, Witter MP, Lohman AHM.** Cortical afferents of the nucleus accumbens in the cat, studied with anterograde and retrograde transport techniques. *Neuroscience* 7: 977–996, 1982.

**Grosmark AD, Mizuseki K, Pastalkova E, Diba K, Buzsáki G.** REM Sleep Reorganizes Hippocampal Excitability. *Neuron* 75: 1001–1007, 2012.

**Gruart A, Muñoz MD, Delgado-García JM.** Involvement of the CA3–CA1 Synapse in the Acquisition of Associative Learning in Behaving Mice. *J Neurosci* 26: 1077–1087, 2006.

**Gupta A, Wang Y, Markram H.** Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science* 287: 273–278, 2000.

**Hahn TTG, Sakmann B, Mehta MR.** Phase-locking of hippocampal interneurons' membrane potential to neocortical up-down states. *Nat Neurosci* 9: 1359–1361, 2006.

**Hahn TTG, Sakmann B, Mehta MR.** Differential responses of hippocampal subfields to cortical up–down states. *PNAS* 104: 5169–5174, 2007.

**Hanlon EC, Faraguna U, Vyazovskiy VV, Tononi G, Cirelli C.** Effects of Skilled Training on Sleep Slow Wave Activity and Cortical Gene Expression in the Rat. *Sleep* 32: 719–729, 2009.

**Hanriot L, Camargo N, Courau AC, Leger L, Luppi PH, Peyron C.** Characterization of the melanin-concentrating hormone neurons activated during paradoxical sleep hypersomnia in rats. *J Comp Neurol* 505: 147–157, 2007.

**Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T.** Genetic Ablation of Orexin Neurons in Mice Results in Narcolepsy, Hypophagia, and Obesity. *Neuron* 30: 345–354, 2001.

**Hassani OK, Lee MG, Jones BE.** Melanin-concentrating hormone neurons discharge in a reciprocal manner to orexin neurons across the sleep–wake cycle. *PNAS* 106: 2418–2422, 2009.

**Hasselmo ME.** Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences* 3: 351–359, 1999.

**Hebb DO.** *The organization of behavior. A neuropsychological theory.* New York: John Wiley, 1949.

**Hellman K, Abel T.** Fear Conditioning Increases NREM Sleep. *Behav Neurosci* 121: 310–323, 2007.

**Hennevin E, Hars B, Maho C, Bloch V.** Processing of Learned Information in Paradoxical Sleep - Relevance for Memory. *Behav Brain Res* 69: 125–135, 1995.

**Hennevin E, Leconte P, Bloch V.** Paradoxical Sleep Increase Triggered by Learning, Extinction and Relearning of a Response Based on a Positive Reinforcement. *Brain Res* 70: 43–54, 1974.

**Holz J, Piosczyk H, Feige B, Spiegelhalder K, Baglioni C, Riemann D, Nissen C.** EEG sigma and slow-wave activity during NREM sleep correlate with overnight declarative and procedural memory consolidation. *Journal of Sleep Research* 21: 612–619, 2012.

**Horne JA, McGrath MJ.** The consolidation hypothesis for REM sleep function: Stress and other confounding factors — A review. *Biological Psychology* 18: 165–184, 1984.

**Hrabetova S, Sacktor TC.** Bidirectional Regulation of Protein Kinase M $\zeta$  in the Maintenance of Long-Term Potentiation and Long-Term Depression. *J Neurosci* 16: 5324–5333, 1996.

**Huang Y-Y, Colino A, Selig DK, Malenka RC.** The Influence of Prior Synaptic Activity on the Induction of Long-Term Potentiation. *Science* 255: 730–733, 1992.

**Huang Z-L, Qu W-M, Eguchi N, Chen J-F, Schwarzschild MA, Fredholm BB, Urade Y, Hayaishi O.** Adenosine A<sub>2A</sub>, but not A<sub>1</sub>, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat Neurosci* 8: 858–859, 2005.

**Huber R, Ghilardi MF, Massimini M, Tononi G.** Local sleep and learning. *Nature* 430: 78–81, 2004.

**Huber R, Mäki H, Rosanova M, Casarotto S, Canali P, Casali AG, Tononi G, Massimini M.** Human Cortical Excitability Increases with Time Awake. *Cereb Cortex* 23: 1–7, 2013.

**Hugues S, Chessel A, Lena I, Marsault R, Garcia R.** Prefrontal infusion of PD098059 immediately after fear extinction training blocks extinction-associated prefrontal synaptic plasticity and decreases prefrontal ERK2 phosphorylation. *Synapse* 60: 280–287, 2006.

**Hutchison IC, Rathore S.** The role of REM sleep theta activity in emotional memory. *Front Psychol* 6: 1439, 2015.

**Igarashi KM, Lu L, Colgin LL, Moser M-B, Moser EI.** Coordination of entorhinal-hippocampal ensemble activity during associative learning. *Nature* 510: 143–+, 2014.

**J. Freeman W, Patel HH.** Extraneuronal potential fields evoked in septal region of cat by stimulation of fornix. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 24: 444–457, 1968.

**Jay TM, Glowinski J, Thierry A-M.** Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain Research* 505: 337–340, 1989.

**Jay TM, Witter MP.** 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, 1991.

**Jego S, Glasgow SD, Herrera CG, Ekstrand M, Reed SJ, Boyce R, Friedman J, Burdakov D, Adamantidis AR.** Optogenetic identification of a rapid eye movement sleep modulatory circuit in the hypothalamus. *Nat Neurosci* 16: 1637–1643, 2013.

**Jenkins JG, Dallenbach KM.** Obliviscence during sleep and waking. *Am J Psychol* 35: 605–612, 1924.

**Jin XW, Shearman LP, Weaver DR, Zylka MJ, De Vries GJ, Reppert SM.** A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell* 96: 57–68, 1999.

**Jones MW, Wilson MA.** Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biol* 3: 2187–2199, 2005.

**Joseph MA, Fraize N, Ansoud-Lerouge J, Sapin E, Peyron C, Arthaud S, Libourel P-A, Parmentier R, Salin PA, Malleret G.** Differential Involvement of the Dentate Gyrus in Adaptive Forgetting in the Rat. *PLoS ONE* 10: e0142065, 2015.

**Joshua M, Adler A, Mitelman R, Vaadia E, Bergman H.** Midbrain Dopaminergic Neurons and Striatal Cholinergic Interneurons Encode the Difference between Reward and Aversive Events at Different Epochs of Probabilistic Classical Conditioning Trials. *J Neurosci* 28: 11673–11684, 2008.

**Jouvet M.** Paradoxical Sleep--a Study of Its Nature and Mechanisms. *Progress in brain research* 18: 20–62, 1965.

**Jurado-Parras M, Sanchez-Campusano R, Castellanos NP, del-Pozo F, Gruart A, Delgado-Garcia JM.** Differential Contribution of Hippocampal Circuits to Appetitive and Consummatory Behaviors during Operant Conditioning of Behaving Mice. *J Neurosci* 33: 2293–2304, 2013.

**Kametani H, Kawamura H.** Alterations in acetylcholine release in the rat hippocampus during sleep-wakefulness detected by intracerebral dialysis. *Life Sciences* 47: 421–426, 1990.

**Kameyama K, Lee H-K, Bear MF, Huganir RL.** Involvement of a Postsynaptic Protein Kinase A Substrate in the Expression of Homosynaptic Long-Term Depression. *Neuron* 21: 1163–1175, 1998.

**Kandel ER, Tauc L.** Heterosynaptic facilitation in neurones of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. *J Physiol* 181: 1–27, 1965.

**Karashima A, Katayama N, Nakao M.** Enhancement of Synchronization Between Hippocampal and Amygdala Theta Waves Associated With Pontine Wave Density. *Journal of Neurophysiology* 103: 2318–2325, 2010.

**Karashima A, Nakao M, Katayama N, Honda K.** Instantaneous acceleration and amplification of hippocampal theta wave coincident with phasic pontine activities during REM sleep. *Brain Research* 1051: 50–56, 2005.

**Katz B, Miledi R.** The role of calcium in neuromuscular facilitation. *J Physiol* 195: 481–492, 1968.

**Kemp A, Manahan-Vaughan D.** Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 8192–8197, 2004.

**Keppel G, Underwood BJ.** Proactive inhibition in short-term retention of single items. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 1: 153–161, 1962.

**Kim J, Fanselow M.** Modality-Specific Retrograde-Amnesia of Fear. *Science* 256: 675–677, 1992.

**Kirkwood A, Bear MF.** Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. *J Neurosci* 14: 3404–3412, 1994.

**Knecht S, Breitenstein C, Bushuven S, Wailke S, Kamping S, Floel A, Zwitterlood P, Ringelstein EB.** Levodopa: Faster and better word learning in normal humans. *Ann Neurol* 56: 20–26, 2004.

**Krenzer M, Anaclet C, Vetrivelan R, Wang N, Vong L, Lowell BB, Fuller PM, Lu J.** Brainstem and Spinal Cord Circuitry Regulating REM Sleep and Muscle Atonia. *PLOS ONE* 6: e24998, 2011.

**Kuczewski N, Aztiria E, Gautam D, Wess J, Domenici L.** Acetylcholine modulates cortical synaptic transmission via different muscarinic receptors, as studied with receptor knockout mice. *J Physiol-London* 566: 907–919, 2005.

**Lahl O, Wispel C, Willigens B, Pietrowsky R.** An ultra short episode of sleep is sufficient to promote declarative memory performance. *Journal of Sleep Research* 17: 3–10, 2008.

**Langella M, Colarieti L, Ambrosini MV, Giuditta A.** The sequential hypothesis of sleep function. IV. A correlative analysis of sleep variables in learning and nonlearning rats. *Physiology & Behavior* 51: 227–238, 1992.

**Lansink CS, Goltstein PM, Lankelma JV, Joosten RNJMA, McNaughton BL, Pennartz CMA.** Preferential Reactivation of Motivationally Relevant Information in the Ventral Striatum. *J Neurosci* 28: 6372–6382, 2008.

**Lansink CS, Goltstein PM, Lankelma JV, McNaughton BL, Pennartz CMA.** Hippocampus Leads Ventral Striatum in Replay of Place-Reward Information. *PLoS Biol* 7: e1000173, 2009.

**Lansink CS, Jackson JC, Lankelma JV, Ito R, Robbins TW, Everitt BJ, Pennartz CMA.** Reward Cues in Space: Commonalities and Differences in Neural Coding by Hippocampal and Ventral Striatal Ensembles. *J Neurosci* 32: 12444–12459, 2012.

**Lara-Carrasco J, Nielsen TA, Solomonova E, Levrier K, Popova A.** Overnight emotional adaptation to negative stimuli is altered by REM sleep deprivation and is correlated with intervening dream emotions. *Journal of Sleep Research* 18: 178–187, 2009.

**Laroche S, Jay TM, Thierry A-M.** Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neuroscience Letters* 114: 184–190, 1990.

**Laureys S, Peigneux P, Phillips C, Fuchs S, Degueldre C, Aerts J, Del Fiore G, Petiau C, Luxen A, Van dr Linden M, Cleeremans A, Smith C, Maquet P.** Experience-dependent changes in cerebral functional connectivity during human rapid eye movement sleep. *Neuroscience* 105: 521–525, 2001.

**de Lavilléon G, Lacroix MM, Rondi-Reig L, Benchenane K.** Explicit memory creation during sleep demonstrates a causal role of place cells in navigation. *Nat Neurosci* 18: 493–495, 2015.

**Lavoie AM, Mizumori SJY.** Spatial, movement- and reward-sensitive discharge by medial ventral striatum neurons of rats. *Brain Research* 638: 157–168, 1994.

**Lazarus M, Chen J-F, Urade Y, Huang Z-L.** Role of the basal ganglia in the control of sleep and wakefulness. *Current Opinion in Neurobiology* 23: 780–785, 2013.

**Lazarus M, Shen H-Y, Cherasse Y, Qu W-M, Huang Z-L, Bass CE, Winsky-Sommerer R, Semba K, Fredholm BB, Boison D, Hayaishi O, Urade Y, Chen J-F.** Arousal Effect of Caffeine Depends on Adenosine A(2A) Receptors in the Shell of the Nucleus Accumbens. *J Neurosci* 31: 10067–10075, 2011.

**Le Barillier L, Leger L, Luppi P-H, Fort P, Malleret G, Salin P-A.** Genetic deletion of melanin-concentrating hormone neurons impairs hippocampal short-term synaptic plasticity and hippocampal-dependent forms of short-term memory. *Hippocampus* 25: 1361–1373, 2015.

**Leconte P, Bloch V.** Deficit of Retention of Conditioning After Deprivation of Paradoxical Sleep of Rat. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances De L'Académie Des Sciences Série D* 271: 226-, 1970.

**LeDoux JE.** Brain mechanisms of emotion and emotional learning. *Current opinion in neurobiology* 2: 191–7, 1992.

**Lee AK, Wilson MA.** Memory of Sequential Experience in the Hippocampus during Slow Wave Sleep. *Neuron* 36: 1183–1194, 2002.

**Lee HK, Barbarosie M, Kameyama K, Bear MF, Huganir RL.** Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* 405: 955–959, 2000.

**Lee I, Hunsaker MR, Kesner RP.** The role of hippocampal subregions in detecting spatial novelty. *Behav Neurosci* 119: 145–153, 2005.

**Legault G, Delay S, Madore A.** Identification of a rapid eye movement sleep window for learning of the win-shift radial arm maze task for male Sprague-Dawley rats. *J Sleep Res* 19: 508–515, 2010.

**Legault M, Rompré PP, Wise RA.** Chemical stimulation of the ventral hippocampus elevates nucleus accumbens dopamine by activating dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *J Neurosci* 20: 1635–1642, 2000.

**Lembo PMC, Grazzini E, Cao J, Hubatsch DA, Pelletier M, Hoffert C, St-Onge S, Pou C, Labrecque J, Groblewski T, O'Donnell D, Payza K, Ahmad S, Walker P.** The

receptor for the orexigenic peptide melanin-concentrating hormone is a G-protein-coupled receptor. *Nat Cell Biol* 1: 267–271, 1999.

**Léna I, Parrot S, Deschaux O, Muffat-Joly S, Sauvinet V, Renaud B, Suaud-Chagny M-F, Gottesmann C.** Variations in extracellular levels of dopamine, noradrenaline, glutamate, and aspartate across the sleep--wake cycle in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of freely moving rats. *J Neurosci Res* 81: 891–899, 2005.

**Leung L.** Behavior-dependent evoked potentials in the hippocampal CA1 region of the rat. I. Correlation with behavior and egg. *Brain Research* 198: 95–117, 1980.

**Leung L-WS, Yim CY.** Intracellular records of theta rhythm in hippocampal CA1 cells of the rat. *Brain Research* 367: 323–327, 1986.

**Levita L, Dalley JW, Robbins TW.** Disruption of Pavlovian contextual conditioning by excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core. *Behavioral Neuroscience* 116: 539–552, 2002.

**Lief HI, Fetkewicz J.** Retractors of False Memories: The Evolution of Pseudo-Memories. *J Psychiatry & L* 23: 411, 1995.

**Lisman J.** A Mechanism for the Hebb and the Anti-Hebb Processes Underlying Learning and Memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86: 9574–9578, 1989.

**Lisman JE, Grace AA.** The Hippocampal-VTA Loop: Controlling the Entry of Information into Long-Term Memory. *Neuron* 46: 703–713, 2005.

**Liu Z-W, Faraguna U, Cirelli C, Tononi G, Gao X-B.** Direct Evidence for Wake-Related Increases and Sleep-Related Decreases in Synaptic Strength in Rodent Cortex. *J Neurosci* 30: 8671–8675, 2010.

**Ljungberg T, Apicella P, Schultz W.** Responses of Monkey Dopamine Neurons During Learning of Behavioral Reactions. *J Neurophysiol* 67: 145–163, 1992.

**Lledo P, Hjelmstad G, Mukherji S, Soderling T, Malenka R, Nicoll R.** 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, 1995.

**Loess H.** Short-term memory and item similarity. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 7: 87–92, 1968.

**Loess H, Waugh NC.** Short-term memory and intertrial interval. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 6: 455–460, 1967.

**Lopes da Silva FH, Arnolds DE, Neijt HC.** A functional link between the limbic cortex and ventral striatum: physiology of the subiculum accumbens pathway. *Exp Brain Res* 55: 205–214, 1984.

**Louie K, Wilson MA.** Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron* 29: 145–156, 2001.

**Lu J, Bjorkum AA, Xu M, Gaus SE, Shiromani PJ, Saper CB.** Selective Activation of the Extended Ventrolateral Preoptic Nucleus during Rapid Eye Movement Sleep. *J Neurosci* 22: 4568–4576, 2002.

**Lu J, Greco MA, Shiromani P, Saper CB.** Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *J Neurosci* 20: 3830–3842, 2000.

**Lu J, Sherman D, Devor M, Saper CB.** A putative flip–flop switch for control of REM sleep. *Nature* 441: 589–594, 2006.

**Lubenov EV, Siapas AG.** Decoupling through Synchrony in Neuronal Circuits with Propagation Delays. *Neuron* 58: 118–131, 2008.

**Lucero MA.** Lengthening of REM sleep duration consecutive to learning in the rat. *Brain Research* 20: 319–322, 1970.

**Luppi P-H, Clement O, Fort P.** Paradoxical (REM) sleep genesis by the brainstem is under hypothalamic control. *Curr Opin Neurobiol* 23: 786–792, 2013.

**Maingret N, Girardeau G, Todorova R, Goutierre M, Zugaro M.** Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci* 19: 959–964, 2016.

**Maki WS, Brokofsky S, Berg B.** Spatial memory in rats: Resistance to retroactive interference. *Animal Learning & Behavior* 7: 25–30, 1979.

**Malenka R, Kauer J, Perkel D, Mauk M, Kelly P, Nicoll R, Waxham M.** An Essential Role for Postsynaptic Calmodulin and Protein-Kinase Activity in Long-Term Potentiation. *Nature* 340: 554–557, 1989.

**Malenka RC, Nicoll RA.** NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends in Neurosciences* 16: 521–527, 1993.

**Malinow R, Schulman H, Tsien RW.** Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science* 245: 862–867, 1989.

**Maloney KJ, Mainville L, Jones BE.** c-Fos expression in dopaminergic and GABAergic neurons of the ventral mesencephalic tegmentum after paradoxical sleep deprivation and recovery. *Eur J Neurosci* 15: 774–778, 2002.

**Manahan-Vaughan D, Braunewell K-H.** Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *PNAS* 96: 8739–8744, 1999.

**Mandile P, Vescia S, Montagnese P, Piscopo S, Cotugno M, Giuditta A.** Post-trial sleep sequences including transition sleep are involved in avoidance learning of adult rats. *Behav Brain Res* 112: 23–31, 2000.

**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.** Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat Neurosci* 3: 831–836, 2000.

**Marr D.** Simple memory: a theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 262: 23–81, 1971.

**Marrosu F, Portas C, Mascia MS, Casu MA, Fà M, Giagheddu M, Imperato A, Gessa GL.** Microdialysis measurement of cortical and hippocampal acetylcholine release during sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain Research* 671: 329–332, 1995.

**Marshall L, Born J.** The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences* 11: 442–450, 2007.

**Marshall L, Helgadottir H, Moelle M, Born J.** Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* 444: 610–613, 2006.

**Marshall L, Kirov R, Brade J, Moelle M, Born J.** Transcranial Electrical Currents to Probe EEG Brain Rhythms and Memory Consolidation during Sleep in Humans. *PLoS One* 6: e16905, 2011.

**Martin SJ, Grimwood PD, Morris RGM.** Synaptic Plasticity and Memory: An Evaluation of the Hypothesis. *Annual Review of Neuroscience* 23: 649–711, 2000.

**Matsumoto M, Hikosaka O.** Two types of dopamine neuron distinctly convey positive and negative motivational signals. *Nature* 459: 837–U4, 2009.

**Matthews RT, Coker O, Winder DG.** A novel mouse brain slice preparation of the hippocampo–accumbens pathway. *Journal of Neuroscience Methods* 137: 49–60, 2004.

**McCloskey M, Cohen NJ.** Catastrophic Interference in Connectionist Networks: The Sequential Learning Problem. In: *Psychology of Learning and Motivation*. Edited by Bower GH. Academic Press, p. 109–165. 1989.

**McGeoch JA.** Forgetting and the law of disuse. *Psychological Review* 39: 352–370, 1932.

**McGrath MJ, Cohen DB.** REM sleep facilitation of adaptive waking behavior: A review of the literature. *Psychological Bulletin* 85: 24–57, 1978.

**Meier-Koll A, Bussmann B, Schmidt C, Neuschwander D.** Walking through a Maze Alters the Architecture of Sleep. *Perceptual and Motor Skills* 88: 1141–1159, 1999.

**Mele A, Avena M, Roulet P, De Leonibus E, Mandillo S, Sargolini F, Coccorello R, Oliverio A.** Nucleus accumbens dopamine receptors in the consolidation of spatial memory. *Behav Pharmacol* 15: 423–431, 2004.

**Mishkin M.** Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature* 273: 297–298, 1978.

**Missaire M, Fraize N, Joseph MA, Hamieh AM, Parmentier R, Marighetto A, Salin PA, Malleret G.** Long-term effects of interference on short-term memory performance in the rat. *PLoS ONE* 12: e0173834, 2017.

**Miyauchi S, Misaki M, Kan S, Fukunaga T, Koike T.** Human brain activity time-locked to rapid eye movements during REM sleep. *Exp Brain Res* 192: 657–667, 2009.

**Miyawaki H, Diba K.** Regulation of Hippocampal Firing by Network Oscillations during Sleep. *Current Biology* 26: 893–902, 2016.

**Mochizuki T, Crocker A, McCormack S, Yanagisawa M, Sakurai T, Scammell TE.** Behavioral State Instability in Orexin Knock-Out Mice. *J Neurosci* 24: 6291–6300, 2004.

**Mogenson G, Jones D, Yim C.** From Motivation to Action - Functional Interface Between the Limbic System and the Motor System. *Prog Neurobiol* 14: 69–97, 1980.

**Mölle M, Eschenko O, Gais S, Sara SJ, Born J.** The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *European Journal of Neuroscience* 29: 1071–1081, 2009.

**Mölle M, Marshall L, Gais S, Born J.** Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations. *PNAS* 101: 13963–13968, 2004.

**Montgomery SM, Sirota A, Buzsáki G.** Theta and Gamma Coordination of Hippocampal Networks during Waking and Rapid Eye Movement Sleep. *J Neurosci* 28: 6731–6741, 2008.

**Morishita W, Connor JH, Xia H, Quinlan EM, Shenolikar S, Malenka RC.** Regulation of Synaptic Strength by Protein Phosphatase 1. *Neuron* 32: 1133–1148, 2001.

**Morris R, Anderson E, Lynch G, Baudry M.** Selective Impairment of Learning and Blockade of Long-Term Potentiation. *Nature* 319: 774–776, 1986.

**Moser EI, Krobot KA, Moser M-B, Morris RGM.** Impaired Spatial Learning after Saturation of Long-Term Potentiation. *Science* 281: 2038–2042, 1998.

**Mrsic-Flogel TD, Hofer SB, Ohki K, Reid RC, Bonhoeffer T, Hübener M.** Homeostatic regulation of eye-specific responses in visual cortex during ocular dominance plasticity. *Neuron* 54: 961–972, 2007.

**Mulder AB, Arts MPM, daSilva FHL.** Short- and long-term plasticity of the hippocampus to nucleus accumbens and prefrontal cortex pathways in the rat, in vivo. *Eur J Neurosci* 9: 1603–1611, 1997.

**Mulkey RM, Malenka RC.** Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9: 967–975, 1992.

**Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY, Malinow R.** Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511: 348–352, 2014.

**Nadel L, Moscovitch M.** Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7: 217–227, 1997.

**Ngo H-VV, Martinetz T, Born J, Mölle M.** Auditory Closed-Loop Stimulation of the Sleep Slow Oscillation Enhances Memory. *Neuron* 78: 545–553, 2013.

**Nicholls RE, Alarcon JM, Malleret G, Carroll RC, Grody M, Vronskaya S, Kandel ER.** Transgenic Mice Lacking NMDAR-Dependent LTD Exhibit Deficits in Behavioral Flexibility. *Neuron* 58: 104–117, 2008.

**Nicoll R, Malenka R.** Contrasting Properties of 2 Forms of Long-Term Potentiation in the Hippocampus. *Nature* 377: 115–118, 1995.

**Nicoll RA, Kauer JA, Malenka RC.** The current excitement in long term potentiation. *Neuron* 1: 97–103, 1988.

**Nicoll RA, Schmitz D.** Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nat Rev Neurosci* 6: 863–876, 2005.

**Nowak L, Bregestovski P, Ascher P, Herbet A, Prochiantz A.** Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature* 307: 462–465, 1984.

**O'Donnell P, Grace A.** Synaptic-Interactions Among Excitatory Afferents to Nucleus-Accumbens Neurons - Hippocampal Gating of Prefrontal Cortical Input. *J Neurosci* 15: 3622–3639, 1995.

**Olcese U, Esser SK, Tononi G.** Sleep and Synaptic Renormalization: A Computational Study. *J Neurophysiol* 104: 3476–3493, 2010.

**Olton DS, Samuelson RJ.** Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 2: 97–116, 1976.

**Pachoud B, Adamantidis A, Ravassard P, Luppi P-H, Grisar T, Lakaye B, Salin P-A.** Major Impairments of Glutamatergic Transmission and Long-Term Synaptic Plasticity in the Hippocampus of Mice Lacking the Melanin-Concentrating Hormone Receptor-1. *J Neurophysiol* 104: 1417–1425, 2010.

**Parker ES, Cahill L, McGaugh JL.** A Case of Unusual Autobiographical Remembering. *Neurocase* 12: 35–49, 2006.

**Pavlidis C, Winson J.** Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 9: 2907–2918, 1989.

**Pearlman CA.** Effect of rapid eye movement (dreaming) sleep deprivation on retention of avoidance learning in rats. Rep No 563. *Report (U.S. Naval Submarine Medical Center)*, 1969.

**Peigneux P, Laureys S, Fuchs S, Collette F, Perrin F, Reggers J, Phillips C, Degueldre C, Del Fiore G, Aerts J, Luxen A, Maquet P.** Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? *Neuron* 44: 535–545, 2004.

**Pennartz CMA, Lee E, Verheul J, Lipa P, Barnes CA, McNaughton BL.** The ventral striatum in off-line processing: Ensemble reactivation during sleep and modulation by hippocampal ripples. *J Neurosci* 24: 6446–6456, 2004.

**Perin M, Longordo F, Massonnet C, Welker E, Lüthi A.** Diurnal inhibition of NMDA-EPSCs at rat hippocampal mossy fibre synapses through orexin-2 receptors. *J Physiol (Lond)* 592: 4277–4295, 2014.

**Phillips R, Ledoux J.** Differential Contribution of Amygdala and Hippocampus to Cued and Contextual Fear Conditioning. *Behav Neurosci* 106: 274–285, 1992.

**Plihal W, Born J.** Effects of Early and Late Nocturnal Sleep on Declarative and Procedural Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience* 9: 534–547, 1997.

**Plihal W, Born J.** Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory. *Psychophysiology* 36: 571–582, 1999.

**Pohlack ST, Nees F, Ruttorf M, Schad LR, Flor H.** Activation of the ventral striatum during aversive contextual conditioning in humans. *Biological Psychology* 91: 74–80, 2012.

**Popa D, Duvarci S, Popescu AT, Léna C, Paré D.** Coherent amygdalocortical theta promotes fear memory consolidation during paradoxical sleep. *PNAS* 107: 6516–6519, 2010.

**Qiu M-H, Vetrivelan R, Fuller PM, Lu J.** Basal ganglia control of sleep-wake behavior and cortical activation. *Eur J Neurosci* 31: 499–507, 2010.

**Raisman G, Cowan WM, Powell TPS.** An Experimental Analysis of the Efferent Projection of the Hippocampus. *Brain* 89: 83–108, 1966.

**Ramadan W, Eschenko O, Sara SJ.** Hippocampal Sharp Wave/Ripples during Sleep for Consolidation of Associative Memory. *PLOS ONE* 4: e6697, 2009.

**Ramirez S, Liu X, Lin P-A, Suh J, Pignatelli M, Redondo RL, Ryan TJ, Tonegawa S.** Creating a False Memory in the Hippocampus. *Science* 341: 387–391, 2013.

**Ramón y Cajal S.** Histologie du système nerveux de l’homme et des vertébrés. Site de la Bibliothèque Nationale de France:<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k62147775>, 1909

**Rasch B, Born J.** About Sleep’s Role in Memory. *Physiological Reviews* 93: 681–766, 2013.

**Rasch B, Buechel C, Gais S, Born J.** Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. *Science* 315: 1426–1429, 2007.

**Rasmusson DD.** The role of acetylcholine in cortical synaptic plasticity. *Behav Brain Res* 115: 205–218, 2000.

**Ravassard P, Hamieh AM, Joseph MA, Fraize N, Libourel P-A, Lebarillier L, Arthaud S, Meissirel C, Touret M, Malleret G, Salin P-A.** REM Sleep-Dependent Bidirectional Regulation of Hippocampal-Based Emotional Memory and LTP. *Cereb Cortex* 26: 1488–1500, 2016.

**Ravassard P, Hamieh AM, Malleret G, Salin P-A.** Paradoxical sleep: A vigilance state to gate long-term brain plasticity? *Neurobiol Learn Mem* 122: 4–10, 2015.

**Renouard L, Billwiller F, Ogawa K, Clément O, Camargo N, Abdelkarim M, Gay N, Scoté-Blachon C, Touré R, Libourel P-A, Ravassard P, Salvart D, Peyron C, Claustrat B, Léger L, Salin P, Malleret G, Fort P, Luppi P-H.** The supramammillary nucleus and the claustrum activate the cortex during REM sleep. *Science Advances* 1: e1400177, 2015.

**Ribeiro S, Goyal V, Mello CV, Pavlides C.** Brain Gene Expression During REM Sleep Depends on Prior Waking Experience. *Learn Mem* 6: 500–508, 1999.

**Ribeiro S, Mello CV, Velho T, Gardner TJ, Jarvis ED, Pavlides C.** Induction of hippocampal long-term potentiation during waking leads to increased extrahippocampal zif-268 expression during ensuing rapid-eye-movement sleep. *J Neurosci* 22: 10914–10923, 2002.

**Ribot T.** Les maladies de la mémoire (18<sup>ème</sup> édition - 1<sup>ère</sup> édition en 1881) Site de la Bibliothèque Nationale de France : <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k255891x>. 1906

**Roberts WA.** Foraging by rats on a radial maze: Learning, memory, and decision rules. In: *Learning and memory: The behavioral and biological substrates*. p. 7–23, 1992.

**Roberts WA.** Retroactive inhibition in rat spatial memory. *Animal Learning & Behavior* 9: 566–574, 1981.

**Roberts WA, Dale RHI.** Remembrance of places lasts: Proactive inhibition and patterns of choice in rat spatial memory. *Learning and Motivation* 12: 261–281, 1981.

**Robertson EM, Pascual-Leone A, Miall RC.** Current concepts in procedural consolidation. *Nat Rev Neurosci* 5: 576–582, 2004.

**Rodriguez-Romaguera J, Monte FHMD, Quirk GJ.** Deep brain stimulation of the ventral striatum enhances extinction of conditioned fear. *PNAS* 109: 8764–8769, 2012.

**Rosene DL, Van Hoesen GW.** Hippocampal efferents reach widespread areas of cerebral cortex and amygdala in the rhesus monkey. *Science* 198: 315–317, 1977.

**Rudell AP, Fox SE.** Hippocampal excitability related to the phase of the theta rhythm in urethanized rats. *Brain Research* 294: 350–353, 1984.

**Rudell AP, Fox SE, Ranck JB.** Hippocampal excitability phase-locked to the theta rhythm in walking rats. *Exp Neurol* 68: 87–96, 1980.

**Saito Y, Cheng M, Leslie FM, Civelli O.** Expression of the melanin-concentrating hormone (MCH) receptor mRNA in the rat brain. *J Comp Neurol* 435: 26–40, 2001.

**Sakai K.** Discharge properties of presumed cholinergic and noncholinergic laterodorsal tegmental neurons related to cortical activation in non-anesthetized mice. *Neuroscience* 224: 172–190, 2012.

**Sakai K.** Paradoxical (rapid eye movement) sleep-on neurons in the laterodorsal pontine tegmentum in mice. *Neuroscience* 310: 455–471, 2015.

**Sakai K, Sano K, Iwahara S.** Eye movements and hippocampal theta activity in cats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 34: 547–549, 1973.

**Salin PA, Scanziani M, Malenka RC, Nicoll RA.** Distinct short-term plasticity at two excitatory synapses in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 13304–13309, 1996.

**Sanford LD, Fang J, Tang X.** Sleep after differing amounts of conditioned fear training in BALB/cJ mice. *Behavioural Brain Research* 147: 193–202, 2003.

**Sanford LD, Silvestri AJ, Ross RJ, Morrison AR.** Influence of fear conditioning on elicited ponto-geniculo-occipital waves and rapid eye movement sleep. *Arch Ital Biol* 139: 169–183, 2001.

**Sano K, Iwahara S, Senba K, Sano A, Yamazaki S.** Eye movements and hippocampal theta activity in rats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 35: 621–625, 1973.

**Saper CB, Fuller PM, Pedersen NP, Lu J, Scammell TE.** Sleep State Switching. *Neuron* 68: 1023–1042, 2010.

**Saper CB, Scammell TE, Lu J.** Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 437: 1257–1263, 2005.

**Sapin E, Béroud A, Léger L, Herman PA, Luppi P-H, Peyron C.** A very large number of GABAergic neurons are activated in the tuberal hypothalamus during paradoxical (REM) sleep hypersomnia. *PLoS ONE* 5: e11766, 2010.

**Sapin E, Lapray D, Béroud A, Goutagny R, Léger L, Ravassard P, Clément O, Hanriot L, Fort P, Luppi P-H.** Localization of the Brainstem GABAergic Neurons Controlling Paradoxical (REM) Sleep. *PLOS ONE* 4: e4272, 2009.

**Sargolini F, Roulet P, Oliverio A, Mele A.** Effects of lesions to the glutamatergic afferents to the nucleus accumbens in the modulation of reactivity to spatial and non-spatial novelty in mice. *Neuroscience* 93: 855–867, 1999.

**Sargolini F, Roulet P, Oliverio A, Mele A.** Effects of intra-accumbens focal administrations of glutamate antagonists on object recognition memory in mice. *Behavioural Brain Research* 138: 153–163, 2003.

**Satoh S, Matsumura Hitoshi, Koike N, Tokunaga Yoshimitsu, Maeda T, Hayaishi O.** Region-dependent difference in the sleep-promoting potency of an adenosine A2A receptor agonist. *European Journal of Neuroscience* 11: 1587–1597, 1999.

**Scammell TE, Gerashchenko DY, Mochizuki T, McCarthy MT, Estabrooke IV, Sears CA, Saper CB, Urade Y, Hayaishi O.** An adenosine A2a agonist increases sleep and induces Fos in ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience* 107: 653–663, 2001.

**Schabus M, Gruber G, Parapatics S, Sauter C, Klösch G, Anderer P, Klimesch W, Saletu B, Zeitlhofer J.** Sleep Spindles and Their Significance for Declarative Memory Consolidation. *Sleep* 27: 1479–1485, 2004.

**Schacter GB, Yang CR, Innis NK, Mogenson GJ.** The role of the hippocampal-nucleus accumbens pathway in radial-arm maze performance. *Brain Research* 494: 339–349, 1989.

**Schall KP, Dickson CT.** Changes in hippocampal excitatory synaptic transmission during cholinergically induced theta and slow oscillation states. *Hippocampus* 20: 279–292, 2010.

**Schall KP, Kerber J, Dickson CT.** Rhythmic Constraints on Hippocampal Processing: State and Phase-Related Fluctuations of Synaptic Excitability During Theta and the Slow Oscillation. *Journal of Neurophysiology* 99: 888–899, 2008.

**Schmidt C, Peigneux P, Muto V, Schenkel M, Knoblauch V, Münch M, Quervain DJ-F de, Wirz-Justice A, Cajochen C.** Encoding Difficulty Promotes Postlearning Changes in Sleep Spindle Activity during Napping. *J Neurosci* 26: 8976–8982, 2006.

**Schultz W.** Behavioral dopamine signals. *Trends in Neurosciences* 30: 203–210, 2007.

**Segal M.** A correlation between hippocampal responses to interhemispheric stimulation, hippocampal slow rhythmic activity and behaviour. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 45: 409–411, 1978.

**Sejnowski I.** Statistical Constraints on Synaptic Plasticity. *J Theor Biol* 69: 385–389, 1977.

**Sesack SR, Grace AA.** Cortico-Basal Ganglia reward network: microcircuitry. *Neuropsychopharmacology* 35: 27–47, 2010.

**Shein-Idelson M, Ondracek JM, Liaw H-P, Reiter S, Laurent G.** Slow waves, sharp waves, ripples, and REM in sleeping dragons. *Science* 352: 590–595, 2016.

**Shen J, Kudrimoti HS, McNaughton BL, Barnes CA.** Reactivation of neuronal ensembles in hippocampal dentate gyrus during sleep after spatial experience. *J Sleep Res* 7 Suppl 1: 6–16, 1998.

**Sherin JE, Shiromani PJ, McCarley RW, Saper CB.** Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science* 271: 216–219, 1996.

**Siapas AG, Wilson MA.** Coordinated Interactions between Hippocampal Ripples and Cortical Spindles during Slow-Wave Sleep. *Neuron* 21: 1123–1128, 1998.

**Sigurdsson T, Stark KL, Karayiorgou M, Gogos JA, Gordon JA.** Impaired hippocampal–prefrontal synchrony in a genetic mouse model of schizophrenia. *Nature* 464: 763–767, 2010.

**Singer W, Engel AK, Kreiter AK, Munk MHJ, Neuenschwander S, Roelfsema PR.** Neuronal assemblies: necessity, signature and detectability. *Trends in Cognitive Sciences* 1: 252–261, 1997.

**Sirota A, Csicsvari J, Buhl D, Buzsáki G.** Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. *PNAS* 100: 2065–2069, 2003.

**Sirota A, Montgomery S, Fujisawa S, Isomura Y, Zugaro M, Buzsaki G.** Entrainment of Neocortical Neurons and Gamma Oscillations by the Hippocampal Theta Rhythm. *Neuron* 60: 683–697, 2008.

**Skaggs WE, McNaughton BL, Wilson MA, Barnes CA.** Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. *Hippocampus* 6: 149–172, 1996.

**Smith C.** Sleep states and memory processes. *Behavioural Brain Research* 69: 137–145, 1995.

**Smith C, Kelly G.** Paradoxical sleep deprivation applied two days after end of training retards learning. *Physiology & Behavior* 43: 213–216, 1988.

**Smith C, Kitahama K, Valatx J, Jouvet M.** Increased Paradoxical Sleep in Mice During Acquisition of a Shock Avoidance Task. *Brain Res* 77: 221–230, 1974.

**Smith C, Lapp L.** Prolonged Increases in Both Ps and Number of Rems Following a Shuttle Avoidance Task. *Physiol Behav* 36: 1053–1057, 1986.

**Smith C, Rose GM.** Evidence for a paradoxical sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiology & Behavior* 59: 93–97, 1996.

**Smith C, Tenn C, Annett R.** Some biochemical and behavioural aspects of the paradoxical sleep window. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie* 45: 115–124, 1991.

**Smith C, Young J, Young W.** Prolonged Increases in Paradoxical Sleep During and After Avoidance-Task Acquisition. *Sleep* 3: 67–81, 1980.

**Sprague JM, Meyer M.** An experimental study of the fornix in the rabbit. *J Anat* 84: 354–368, 1950.

**Squire LR.** The Legacy of Patient H.M. for Neuroscience. *Neuron* 61: 6–9, 2009.

**Staresina BP, Bergmann TO, Bonnefond M, van der Meij R, Jensen O, Deuker L, Elger CE, Axmacher N, Fell J.** Hierarchical nesting of slow oscillations, spindles and ripples in the human hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 18: 1679–1686, 2015.

**Steinfels GF, Heym J, Strecker RE, Jacobs BL.** Response of dopaminergic neurons in cat to auditory stimuli presented across the sleep-waking cycle. *Brain Research* 277: 150–154, 1983.

**Stent G.** Physiological Mechanism for Hebb's Postulate of Learning. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 997–1001, 1973.

**Steriade M, Nunez A, Amzica F.** A novel slow (<math>\delta</math> 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *J Neurosci* 13: 3252–3265, 1993.

**Sterpenich V, Albouy G, Darsaud A, Schmidt C, Vandewalle G, Vu TTD, Desseilles M, Phillips C, Degueldre C, Balteau E, Collette F, Luxen A, Maquet P.** Sleep Promotes the Neural Reorganization of Remote Emotional Memory. *J Neurosci* 29: 5143–5152, 2009.

**Stickgold R, Hobson JA, Fosse R, Fosse M.** Sleep, learning, and dreams: Off-line memory reprocessing. *Science* 294: 1052–1057, 2001.

**Strecker RE, Morairty S, Thakkar MM, Porkka-Heiskanen T, Basheer R, Dauphin LJ, Rainnie DG, Portas CM, Greene RW, McCarley RW.** Adenosinergic modulation of

basal forebrain and preoptic/anterior hypothalamic neuronal activity in the control of behavioral state. *Behavioural Brain Research* 115: 183–204, 2000.

**Swanson LW, Cowan WM.** An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol* 172: 49–84, 1977.

**Sweatt JD.** Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Current Opinion in Neurobiology* 14: 311–317, 2004.

**Taepavarapruk P, Floresco SB, Phillips AG.** Hyperlocomotion and increased dopamine efflux in the rat nucleus accumbens evoked by electrical stimulation of the ventral subiculum: role of ionotropic glutamate and dopamine D-1 receptors. *Psychopharmacology* 151: 242–251, 2000.

**Takahashi K, Lin J-S, Sakai K.** Characterization and mapping of sleep–waking specific neurons in the basal forebrain and preoptic hypothalamus in mice. *Neuroscience* 161: 269–292, 2009.

**Thomas GM, Huganir RL.** Mapk cascade signalling and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 5: 173–183, 2004.

**Thorndike EL.** *The Psychology of Learning*. 1914.

**Tierney PL, Thierry AM, Glowinski J, Deniau JM, Gioanni Y.** Dopamine modulates temporal dynamics of feedforward inhibition in rat prefrontal cortex in vivo. *Cereb Cortex* 18: 2251–2262, 2008.

**Tononi G, Cirelli C.** Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Research Bulletin* 62: 143–150, 2003.

**Tononi G, Cirelli C.** Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron* 81: 12–34, 2014.

**Tsien JZ, Huerta PT, Tonegawa S.** The Essential Role of Hippocampal CA1 NMDA Receptor–Dependent Synaptic Plasticity in Spatial Memory. *Cell* 87: 1327–1338, 1996.

**Tucker MA, Hirota Y, Wamsley EJ, Lau H, Chaklader A, Fishbein W.** A daytime nap containing solely non-REM sleep enhances declarative but not procedural memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 86: 241–247, 2006.

**Tulving E.** Episodic and semantic memory. In: *Organization of memory*. Oxford, England: Academic Press, p. xiii, 423, 1972.

**Tulving E.** Cue-Dependent Forgetting: When we forget something we once knew, it does not necessarily mean that the memory trace has been lost; it may only be inaccessible. *American Scientist* 62: 74–82, 1974.

**Tulving E.** Episodic memory: From mind to brain. *Annu Rev Psychol* 53: 1–25, 2002.

**Turrigiano GG, Nelson SB.** Thinking globally, acting locally: AMPA receptor turnover and synaptic strength. *Neuron* 21: 933–935, 1998.

**Turrigiano GG, Nelson SB.** Hebb and homeostasis in neuronal plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 10: 358–364, 2000.

**Turrigiano GG, Nelson SB.** Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5: 97–107, 2004.

**Valdés JL, McNaughton BL, Fellous J-M.** Offline reactivation of experience-dependent neuronal firing patterns in the rat ventral tegmental area. *Journal of Neurophysiology* 114: 1183–1195, 2015.

**Vanni-Mercier G, Sakai K, Lin JS, Jouvet M.** Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch Ital Biol* 127: 133–164, 1989.

**Varin C, Rancillac A, Geoffroy H, Arthaud S, Fort P, Gallopin T.** Glucose Induces Slow-Wave Sleep by Exciting the Sleep-Promoting Neurons in the Ventrolateral Preoptic Nucleus: A New Link between Sleep and Metabolism. *J Neurosci* 35: 9900–9911, 2015.

**Verleger R, Schuknecht S-V, Jaskowski P, Wagner U.** Changes in processing of masked stimuli across early- and late-night sleep: A study on behavior and brain potentials. *Brain Cogn* 68: 180–192, 2008.

**Verret L, Fort P, Gervasoni D, Léger L, Luppi P-H.** Localization of the neurons active during paradoxical (REM) sleep and projecting to the locus coeruleus noradrenergic neurons in the rat. *J Comp Neurol* 495: 573–586, 2006.

**Verret L, Goutagny R, Fort P, Cagnon L, Salvert D, Léger L, Boissard R, Salin P, Peyron C, Luppi P-H.** A role of melanin-concentrating hormone producing neurons in the central regulation of paradoxical sleep. *BMC Neuroscience* 4: 19, 2003.

**Vyazovskiy V, Borbély AA, Tobler I.** Fast track: Unilateral vibrissae stimulation during waking induces interhemispheric EEG asymmetry during subsequent sleep in the rat. *Journal of Sleep Research* 9: 367–371, 2000.

**Vyazovskiy VV, Cirelli C, Pfister-Genskow M, Faraguna U, Tononi G.** Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nat Neurosci* 11: 200–208, 2008.

**Wagner U, Fischer S, Born J.** Changes in Emotional Responses to Aversive Pictures Across Periods Rich in Slow-wave Sleep Versus Rapid Eye Movement Sleep. *Psychosomatic Medicine* 64: 627–634, 2002.

**Wagner U, Gais S, Born J.** Emotional memory formation is enhanced across sleep intervals with high amounts of rapid eye movement sleep. *Learn Mem* 8: 112–119, 2001.

**Wagner U, Hallschmid M, Verleger R, Born J.** Signs of REM sleep dependent enhancement of implicit face memory: a repetition priming study. *Biological Psychology* 62: 197–210, 2003.

**Watson BO, Levenstein D, Greene JP, Gelinás JN, Buzsáki G.** Network Homeostasis and State Dynamics of Neocortical Sleep. *Neuron* 90: 839–852, 2016.

- Weber F, Chung S, Beier KT, Xu M, Luo L, Dan Y.** Control of REM sleep by ventral medulla GABAergic neurons. *Nature* 526: 435–+, 2015.
- Weber F, Dan Y.** Circuit-based interrogation of sleep control. *Nature* 538: 51–59, 2016.
- Wehrle R, Kaufmann C, Wetter TC, Holsboer F, Auer DP, Pollmächer T, Czisch M.** Functional microstates within human REM sleep: first evidence from fMRI of a thalamocortical network specific for phasic REM periods. *European Journal of Neuroscience* 25: 863–871, 2007.
- Wellman LL, Yang L, Tang X, Sanford LD.** Contextual fear extinction ameliorates sleep disturbances found following fear conditioning in rats. *Sleep* 31: 1035–1042, 2008.
- Westbrook RF, Good AJ, Kiernan MJ.** Microinjection of Morphine Into the Nucleus Accumbens Impairs Contextual Learning in Rats. *Behavioral Neuroscience* 111: 996–1013, 1997.
- Wester JC, Contreras D.** Differential Modulation of Spontaneous and Evoked Thalamocortical Network Activity by Acetylcholine Level In Vitro. *J Neurosci* 33: 17951–17966, 2013.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF.** Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313: 1093–1097, 2006.
- Wierzynski CM, Lubenov EV, Gu M, Siapas AG.** State-Dependent Spike-Timing Relationships between Hippocampal and Prefrontal Circuits during Sleep. *Neuron* 61: 587–596, 2009.
- Wilson M, McNaughton B.** Dynamics of the Hippocampal Ensemble Code for Space (vol 261, Pg 1055, 1993). *Science* 264: 16–16, 1994.
- Winson J, Abzug C.** Gating of Neuronal Transmission in Hippocampus - Efficacy of Transmission Varies with Behavioral State. *Science* 196: 1223–1225, 1977.
- Winson J, Abzug C.** Dependence upon behavior of neuronal transmission from perforant pathway through entorhinal cortex. *Brain Research* 147: 422–427, 1978.
- Wixted JT.** The psychology and neuroscience of forgetting. *Annu Rev Psychol* 55: 235–269, 2004.
- Wolansky T, Clement EA, Peters SR, Palczak MA, Dickson CT.** Hippocampal Slow Oscillation: A Novel EEG State and Its Coordination with Ongoing Neocortical Activity. *J Neurosci* 26: 6213–6229, 2006.
- Wyble BP, Linster C, Hasselmo ME.** Size of CA1-Evoked Synaptic Potentials Is Related to Theta Rhythm Phase in Rat Hippocampus. *Journal of Neurophysiology* 83: 2138–2144, 2000.
- Yang G, Lai CSW, Cichon J, Ma L, Li W, Gan W-B.** Sleep promotes branch-specific formation of dendritic spines after learning. *Science* 344: 1173–1178, 2014.

**Yaroush R, Sullivan MJ, Ekstrand BR.** Effect of sleep on memory: II. Differential effect of the first and second half of the night. *Journal of Experimental Psychology* 88: 361–366, 1971.

**Yilmaz-Rastoder E, Miyamae T, Braun AE, Thiels E.** LTP- and LTD-inducing stimulations cause opposite changes in arc/arg3.1 mRNA level in hippocampal area CA1 in vivo. *Hippocampus* 21: 1290–1301, 2011.

**Yotsumoto Y, Sasaki Y, Chan P, Vasios CE, Bonmassar G, Ito N, Náñez Sr. JE, Shimojo S, Watanabe T.** Location-Specific Cortical Activation Changes during Sleep after Training for Perceptual Learning. *Current Biology* 19: 1278–1282, 2009.

**Zalutsky RA, Nicoll RA.** Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science* 248: 1619–1625, 1990.

**Zhang H, Lin S-C, Nicolelis MAL.** Spatiotemporal Coupling between Hippocampal Acetylcholine Release and Theta Oscillations In Vivo. *J Neurosci* 30: 13431–13440, 2010.

**Zucker RS, Regehr WG.** Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 64: 355–405, 2002.

**Zweifel LS, Fadok JP, Argilli E, Garelick MG, Jones GL, Dickerson TMK, Allen JM, Mizumori SJY, Bonci A, Palmiter RD.** Activation of dopamine neurons is critical for aversive conditioning and prevention of generalized anxiety. *Nat Neurosci* 14: 620-U112, 2011.

# Annexe

Brief Communication

# Anisomycin injection in area CA3 of the hippocampus impairs both short-term and long-term memories of contextual fear

Jessica Remaud,<sup>1,2,3</sup> Johnatan Ceccom,<sup>1,2,3</sup> Julien Carponcy,<sup>1,2</sup> Laura Dugué,<sup>1,2</sup> Gregory Menchon,<sup>1,2</sup> Stéphane Pech,<sup>1,2</sup> Helene Halley,<sup>1,2</sup> Bernard Francés,<sup>1,2</sup> and Lionel Dahan<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Université de Toulouse (UPS), Centre de Recherches sur la Cognition Animale, 31062 Toulouse, France; <sup>2</sup>Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Centre de Recherches sur la Cognition Animale, 31062 Toulouse, France

Protein synthesis is involved in the consolidation of short-term memory into long-term memory. Previous electrophysiological data concerning LTP in CA3 suggest that protein synthesis in that region might also be necessary for short-term memory. We tested this hypothesis by locally injecting the protein synthesis inhibitor anisomycin in hippocampal area CA1 or CA3 immediately after contextual fear conditioning. As previously shown, injections in CA1 impaired long-term memory but spared short-term memory. Conversely, injections in CA3 impaired both long-term and short-term memories. We conclude that early steps of experience-induced plasticity occurring in CA3 and underlying short-term memory require protein synthesis.

Memory formation is conventionally described by the succession of two steps. First comes a short-term memory that lasts a few hours and is independent of de novo protein synthesis; then comes a long-term memory, requiring the synthesis of new proteins (Davis and Squire 1984). Long-term potentiation (LTP) is a key mechanism for memory formation at the synaptic level (Bliss et al. 2006). Strikingly, LTP also displays a short-lived phase (termed early LTP) independent of protein synthesis, and a late LTP requiring de novo protein synthesis that lasts for months (Frey et al. 1993). Short-term memory is thus thought to rely on early LTP, while long-term memory formation would stand on late LTP (Kandel 2001). Importantly, the distinction between early and late LTP on the basis of the requirement for protein synthesis mainly relies on observations of LTP occurring at the Schaffer collateral synapses, corresponding to the CA3 pyramidal terminals onto area CA1 of the hippocampus (Malenka and Bear 2004). However, the mechanisms responsible for LTP can vary depending on the type of synapse considered. The properties of LTP occurring at the mossy fiber synapses, which are axon terminals given off by dentate gyrus granule cells and projecting to CA3 pyramidal neurons, are very different from the canonical LTP occurring at the Schaffer collaterals (Malenka and Bear 2004). In particular, some studies claim that LTP at mossy fiber synapses requires de novo protein synthesis from its initiation (Barea-Rodriguez et al. 2000; Hagena and Manahan-Vaughan 2013; but see Huang et al. 1994). Thus, protein synthesis seems to be required for LTP at the mossy fiber synapses, at least during its first hour. Given the putative aforementioned causal relationship between early LTP establishment and short-term memory formation, these observations indicate that protein synthesis should be required for the formation of any short-term memory relying

on the plasticity of the mossy fibers. Thus, the inhibition of protein synthesis in CA3 should impair short-term memory.

Contextual fear conditioning is a very common learning paradigm in which rodents have to quickly build a conjunctive representation of a context and to associate this context with an electric footshock. In this kind of declarative memory, the representation of the context is processed by the hippocampus while the amygdala is responsible for the association between the context and the aversive stimulus (Selden et al. 1991; Kim and Fanselow 1992; Phillips and LeDoux 1992; Barrientos et al. 2002). Hippocampal computational models and theories have emphasized a unique function in memory for each hippocampal subregion, with the CA3 area acting as an autoassociative memory network and the CA1 area as a critical output structure (Rolls and Treves 1996). Using local injections of lidocaine in dorsal CA1 or CA3, we previously showed that CA3 is necessary for the rapid elaboration of a unified representation of the context while CA1 is rather involved in the consolidation process of contextual memory (Daumas et al. 2005). Contextual fear conditioning can also be impaired by specific mutations interfering with plasticity at the Schaffer collateral synapses on CA1 (Rampon et al. 2000) or at the recurrent collaterals or mossy fiber synapses on CA3 pyramidal neurons (Otto et al. 2001; McHugh and Tonegawa 2009). This strongly suggests that contextual fear conditioning requires LTP in both subregions of the hippocampus. Local injections of protein synthesis inhibitors into the dorsal hippocampus have been shown to induce deficits in long-term, but not short-term, contextual fear memory (Igaz et al. 2002; Motanis and Maroun 2012). However, experiments assessing the role of the protein

<sup>3</sup>These authors contributed equally to this work.

<sup>4</sup>Corresponding author

E-mail [lionel.dahan@univ-tlse3.fr](mailto:lionel.dahan@univ-tlse3.fr)

Article is online at <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.033969.113>.

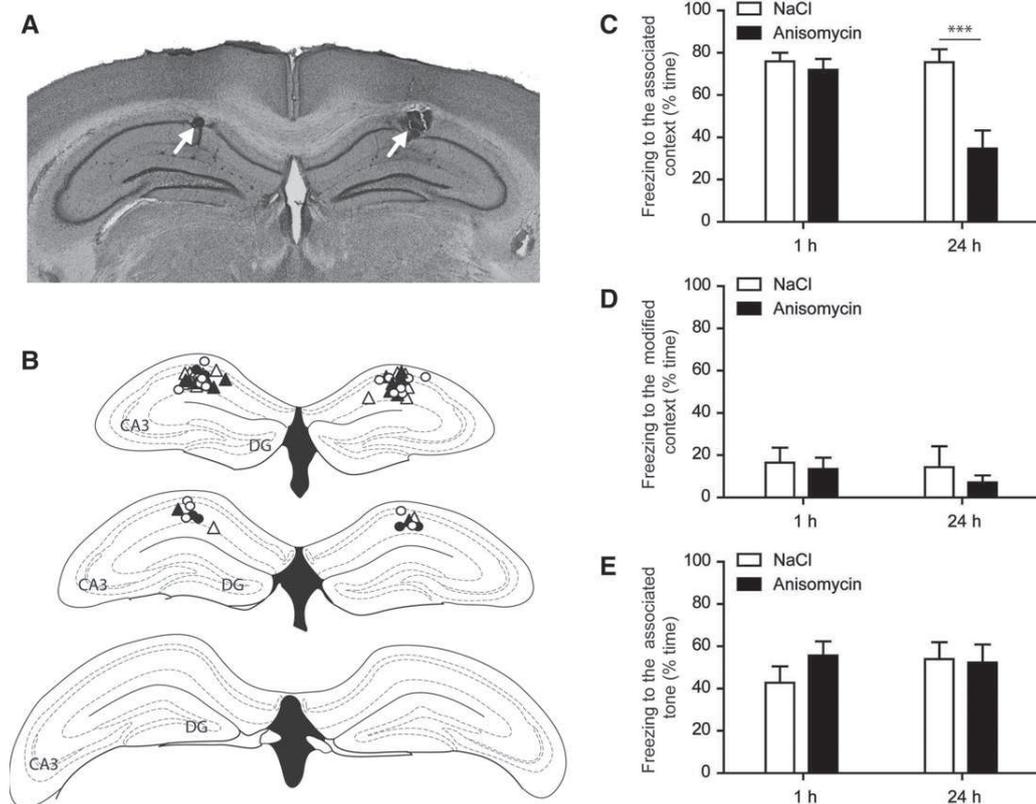
© 2014 Remaud et al. This article is distributed exclusively by Cold Spring Harbor Laboratory Press for the first 12 months after the full-issue publication date (see <http://learnmem.cshlp.org/site/misc/terms.xhtml>). After 12 months, it is available under a Creative Commons License (Attribution-NonCommercial 4.0 International), as described at <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

synthesis in the hippocampus mainly targeted the CA1 subregion. To our knowledge, the requirement for protein synthesis specifically in CA3 in contextual fear conditioning has never been assessed.

We hypothesized that, if protein synthesis is required for the early stages of mossy fiber LTP (Barea-Rodriguez et al. 2000; Hagena and Manahan-Vaughan 2013), then the inhibition of protein synthesis in CA3 should impair both short-term and long-term contextual fear memory. Conversely, since protein synthesis is not required for early LTP in CA1, its inhibition in this structure should only impair long-term memory.

Protein synthesis inhibitor anisomycin was injected bilaterally in dorsal CA3 immediately after a contextual fear conditioning (CFC) session, and short- or long-term memory was measured. The same experiment was performed in another group of mice with local injection taking place in CA1. Ten to 15 d before the conditioning, male C57BL/6J mice (10- to 16-wk old, obtained from Charles River) were implanted bilaterally with guide cannulae above CA1 or above CA3. Surgery for cannulae implantation and intracerebral anisomycin administration was performed as previously described in Artinian et al. (2008). The behavioral procedures for contextual fear conditioning and analysis of behavioral data were performed as described in Daumas et al. (2004). Briefly, contextual fear conditioning (performed using the Panlab s.l. Startfear 1.06 system) consisted of a single train-

ing session with two trials, consisting of a tone (85 dB, 30 sec) associated with an electric shock (0.7 mA, 2 sec), separated by an inter-trial interval (ITI) of 120 sec. Immediately after the training session, injectors were lowered through the guide cannulae and mice received 0.25  $\mu$ L of anisomycin (100  $\mu$ g/ $\mu$ L) per side at a rate of 0.1  $\mu$ L per minute. Contextual short-term or long-term memory was tested in different groups of mice, respectively, 1 h or 24 h after training by measuring the percentage of time spent freezing during the exposition to the context previously associated with the shock (4 min). Two hours later, mice were placed in a different context and the percentage of time spent freezing was measured (2 min) in order to evaluate nonspecific freezing and the degree of generalization of the fear to another context. Then, in that different context, the freezing induced by the presentation of the tone (2 min) was measured in order to test for cued fear conditioning that is supposed to depend on the amygdala and should not be disturbed by intra-hippocampal injections. Animal surgery and experimentation were approved by the French Animal Care and Use Committee (MP 02/02/02/06). All experiments were performed in accordance with the European Communities Council Directive (86/609/EEC). Data were analyzed using two way ANOVA (treatment: NaCl or anisomycin; testing time: 1 h or 24 h after conditioning). After examination of coronal sections, 33 mice were considered correctly injected bilaterally in CA1 (Fig. 1A,B). As expected, the effects of anisomycin



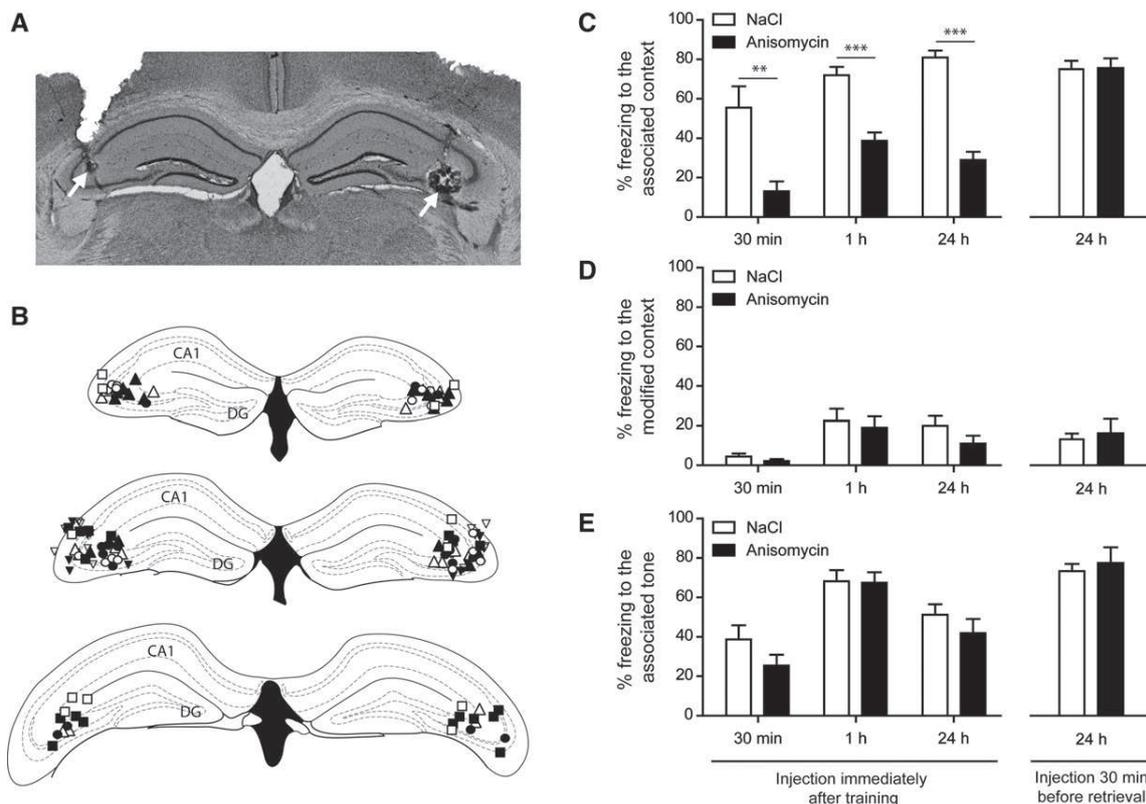
**Figure 1.** Anisomycin injection in the CA1 region of the hippocampus impairs long-term but not short-term contextual fear memory. (A) Representative picture showing the location of injection sites (white arrows) in CA1. (B) Injection sites in CA1 for mice tested for short-term (triangles) or long-term (circles) memory. Open shapes correspond to saline injections while full shapes correspond to anisomycin injections. (C) One hour or 24 h after training, the percentage of time spent freezing was measured while mice were exposed to the context associated with the shock. Anisomycin injection impaired long-term but not short-term memory. (D) Freezing response to the exposure to a different context. All groups presented very low freezing levels to this context. (E) Freezing response to the presentation of the tone previously associated to the shock. Anisomycin had no effect on the freezing related to the novel environment or to the tone. Sample size: NaCl/1 h: 10 mice; anisomycin/1 h: seven mice; NaCl/24 h: eight mice; anisomycin/24 h: eight mice. (\*\*\*)  $P < 0.001$  for anisomycin vs. NaCl according to a Bonferroni post hoc test.

injection in CA1 on the memory for the context were dependent on the testing time (treatment:  $F_{(1,29)} = 13.1, P < 0.002$ ; testing time:  $F_{(1,29)} = 8.1, P < 0.009$ ; interaction:  $F_{(1,29)} = 8.3, P < 0.008$ ) (Fig. 1C). Bonferroni post hoc tests revealed that anisomycin injection in CA1 impairs long-term memory ( $P < 0.001$  for anisomycin vs. NaCl 24 h after conditioning), but not short-term memory ( $P > 0.05$  for anisomycin vs. NaCl 1 h after conditioning). There was no effect of anisomycin injection in CA1 on freezing levels measured in a different context (treatment:  $F_{(1,29)} = 0.27, P = 0.61$ ; testing time:  $F_{(1,29)} = 0.79, P = 0.38$ ; interaction:  $F_{(1,29)} < 0.001, P = 0.98$ ) (Fig. 1D) or when the tone was presented (treatment:  $F_{(1,29)} = 0.61, P = 0.44$ ; testing time:  $F_{(1,29)} = 0.39, P = 0.54$ ; interaction:  $F_{(1,29)} = 0.98, P = 0.33$ ) (Fig. 1E), confirming a specific effect on contextual memory.

After examination of coronal sections, 39 mice were considered correctly injected bilaterally in CA3 (Fig. 2A,B). The effect of anisomycin injection in CA3 on the memory for the context was clear and significant, but this memory deficit was similar when tested 1 h or 24 h after conditioning (treatment:  $F_{(1,35)} = 89.3, P < 0.0001$ ; testing time:  $F_{(1,35)} = 0.0003, P = 0.99$ ; interaction:  $F_{(1,35)} = 5.42, P = 0.026$ ) (Fig. 2C). Bonferroni post hoc tests show that the injection of anisomycin in CA3 induced

a prominent deficit in both short-term and long-term memory ( $P < 0.001$  for anisomycin vs. NaCl 1 h and 24 h after conditioning) (Fig. 2C). There was no effect of the injection of anisomycin in CA3 on freezing levels measured in a different context (treatment:  $F_{(1,35)} = 1.35, P = 0.25$ ; testing time:  $F_{(1,35)} = 1.08, P = 0.31$ ; interaction:  $F_{(1,35)} = 0.15, P = 0.70$ ) (Fig. 2D) or when the tone was presented (treatment:  $F_{(1,35)} = 0.65, P = 0.42$ ; testing time:  $F_{(1,35)} = 12.33, P = 0.001$ ; interaction:  $F_{(1,35)} = 0.35, P = 0.56$ ) (Fig. 2E), confirming a specific effect on contextual memory.

In order to confirm that anisomycin injection in CA3 was able to impair short-term memory, we tested the animals at the earliest possible time point. We ran a similar experiment in which mice were injected with anisomycin in CA3 immediately after contextual fear conditioning and tested for contextual fear 30 min after the training session. After examination of coronal sections, 15 mice were included in this experiment. Animals treated with anisomycin exhibited less freezing to the context than animals treated with NaCl ( $t$ -test,  $P < 0.002$ ) (Fig. 2C). No difference was observed concerning freezing levels for a different context ( $t$ -test,  $P = 0.21$ ) (Fig. 2D) or for the associated tone ( $t$ -test,  $P = 0.15$ ) (Fig. 2E) when tested 2 h later. Altogether, these data show



**Figure 2.** Anisomycin injection in the CA3 region of the hippocampus impairs both long-term and short-term contextual memory but not retrieval. (A) Representative picture showing the location of injection sites (white arrows) in CA3. (B) Injection sites in CA3 for mice tested 30 min (squares), 1 h (circles), or 24 h (upward triangles) after training, downward triangles for injections 30 min before retrieval test after training. Open shapes correspond to saline injections while full shapes correspond to anisomycin injections. (C) Thirty minutes, 1 h, or 24 h after training, the percentage of time spent freezing was measured while mice were exposed to the context associated with the shock. The local injection of anisomycin in CA3 immediately after the training impaired both long-term and short-term memory but had no effect when the injection was done 30 min before the retrieval session at 24 h. (D) Freezing response to the exposure to a different context. All groups presented very low freezing levels to this context. (E) Freezing response to the presentation of the tone previously associated to the shock. Anisomycin had no effect on the freezing related to the novel environment or to the tone. Sample size: NaCl/30 min: six mice; anisomycin/30 min: nine mice; NaCl/1 h: 10 mice; anisomycin/1 h: nine mice; NaCl/24 h: 10 mice; anisomycin/24 h: 10 mice; NaCl/retrieval: seven mice; anisomycin/retrieval: seven mice. (\*\*) $P < 0.002$  and (\*\*\*) $P < 0.001$  for anisomycin vs. NaCl according to a Bonferroni post hoc test.

that anisomycin injection in CA3 impairs both short-term and long-term memories.

In order to determine if the freezing impairments observed at 30 and 60 min are due to a failure to form short-term memory or to disruption of retrieval, a separate group of mice was injected with anisomycin in CA3 30 min before retrieval at 24 h. After examination of coronal sections, 14 mice were included in this experiment (NaCl,  $n = 7$ ; anisomycin,  $n = 7$ ). In these conditions anisomycin did not alter the freezing ( $P = 0.93$  for the context,  $P = 0.71$  for the different context,  $P = 0.64$  for the tone). Thus, the injection of anisomycin in CA3 does not alter the retrieval of fear conditioning.

Here we show that anisomycin local injections in CA1 or CA3 do not affect contextual fear conditioning the same way. Injections in CA1 impaired long-term memory but had no effect on short-term memory. Conversely, the administration in CA3 impaired both short- and long-term memories. To our knowledge, this is the first study reporting an effect of protein synthesis inhibition in the hippocampus on short-term memory. This observation supports the idea that the early phase of synaptic plasticity occurring at mossy fiber terminals during contextual fear conditioning requires protein synthesis.

Control mice exhibited a prominent freezing behavior when placed in the context previously paired with the shock but not when placed in another context. Thus the freezing levels in the paired context specifically reflect memory of the context. Independent of the experimental conditions, the injection of anisomycin did not modify the freezing elicited by the tone previously paired with the shock. Similar results have been reported with different treatments interfering with the hippocampal function. This indicates that the hippocampus is involved in contextual memory while the freezing induced by the tone relies exclusively on an amygdala-dependent conditioning (Selden et al. 1991; Kim and Fanselow 1992; Phillips and LeDoux 1992; Daumas et al. 2004, 2005, 2009; Ceccom et al. 2013). This control experiment confirms that the local injections of anisomycin specifically blocked contextual memory while sparing other memory or cognitive systems.

Anisomycin injection in CA1 impaired long-term memory but not short-term memory. This result is consistent with previous studies using anisomycin local injections in the hippocampus that actually mainly targeted the CA1 area (Igaz et al. 2002; Motanis and Maroun 2012). The usual interpretation for these results is that short-term memory is due to protein synthesis-independent early LTP while protein synthesis-dependent late LTP supports long-term memory (Kandel 2001). Conversely, we demonstrated that anisomycin injected in the CA3 area impairs both short-term and long-term memory. Pyramidal cells of the CA3 area receive three main inputs: recurrent collaterals interconnecting CA3 neurons, temporo-amonic fibers arising from the entorhinal cortex, and mossy fibers coming from the dentate gyrus. Among these pathways, the mossy fibers are of particular interest when considering these results. On the one hand, the input of mossy fibers on CA3 plays a crucial role in contextual fear conditioning and is thought to participate in rapidly creating a conjunctive representation of a context (Otto et al. 2001; Daumas et al. 2004, 2009). On the other hand, protein synthesis inhibition blocks early LTP at mossy fibers while inhibiting only the late phase of the LTP occurring at the recurrent collaterals (Barea-Rodriguez et al. 2000; Calixto et al. 2003; Hagen and Manahan-Vaughan 2013). Thus, the most straightforward explanation for the effect of anisomycin on short-term memory is a blockade of the first stages of LTP at mossy fibers.

It is usually thought that new proteins necessary for LTP or memory are synthesized in the cell body of the neuron and then shipped to the synapse. Such a process seems too slow to account

for a role of protein synthesis in short-term memory. However, activity dependent translation of preexisting mRNA can occur locally in the dendrites (Job and Eberwine 2001; Steward and Schuman 2001) within 5 min to 30 min (Ouyang et al. 1999; Tsokas et al. 2005). This quick time course is consistent with the observed short-term memory impairment and might explain why systemic injections of anisomycin after the training, which might not be quick enough to block the translation of preexisting mRNA, do not impair short-term memory (Bourtchouladze et al. 1998). Noticeably, the spines of the mossy fiber–CA3 hippocampal synapses contain a particularly large number of polyribosomes, allowing local synthesis of proteins necessary to the maintenance of LTP (Chicurel et al. 1993) and early maintenance of LTP at mossy fibers has been shown to rely in part on local protein synthesis as well as transcription-dependent mechanism in the soma of presynaptic neurons (Calixto et al. 2003).

Although most of the conclusions that were based on the use of protein synthesis inhibitors have been subsequently confirmed by molecular and genetic approaches (Hernandez and Abel 2008), serious concerns have been raised about the side effects of anisomycin. Notably, anisomycin is able to dysregulate monoamine release (Canal et al. 2007) or to inhibit the neuronal activity itself (Namgung et al. 1995; Sharma et al. 2012). Conversely, other studies showed that anisomycin was able to specifically block synaptic plasticity without interfering with neuronal activity (Frey and Morris 1998; Barea-Rodriguez et al. 2000; Karpova et al. 2006; Hagen and Manahan-Vaughan 2013). The discrepancies between these studies can be explained by the different doses used. Sharma et al. (2012) observed a strong inhibition of neuronal activity and synaptic transmission when using 50  $\mu\text{g}$  of anisomycin per hemisphere (or higher doses), while Barea-Rodriguez et al. (2000) observed a complete suppression of synaptic plasticity at mossy fibers without any effect on synaptic transmission per se by injecting a lower dose (12  $\mu\text{g}/\text{side}$ ). In order to clarify this issue, Shires et al. (2012) recently tested the effect of different doses of anisomycin on synaptic transmission and plasticity. They showed that low doses (12 or 25  $\mu\text{g}/\text{side}$ ) did not suppress neuronal activity but prevented long-term potentiation while higher doses (62–500  $\mu\text{g}/\text{side}$ ) clearly reduced the neuronal activity. It thus seems clear that when used at the appropriate dose, anisomycin is able to specifically block protein synthesis. Considering these data, we cannot rule out a possible nonspecific effect of anisomycin. However, we used a low dose of anisomycin (25  $\mu\text{g}/\text{side}$ ) and observed a differential effect depending on the injection area (CA1 or CA3). A previous electrophysiological experiment using similar doses showed a similar differential effect on synaptic plasticity (early LTP was affected only in CA3, late LTP both in CA1 and CA3) without any impairment of the neuronal activity per se (Barea-Rodriguez et al. 2000; Shires et al. 2012; Hagen and Manahan-Vaughan 2013). Thus, it seems reasonable to consider that protein synthesis inhibition is responsible for the observed behavioral effects of anisomycin injections.

Given the behavioral results presented in this study and given available data concerning synaptic plasticity in the hippocampus (Barea-Rodriguez et al. 2000; Otto et al. 2001; Calixto et al. 2003), we propose that protein synthesis in CA3 is required for the rapid elaboration of a unified representation of the context which involves LTP at mossy fibers. If this unified representation of the context is not built in CA3, it cannot be passed on to CA1 and memory is impaired from its very first stages.

In conclusion, this study shows that the rapid elaboration of a unified representation of a context requires protein synthesis specifically in area CA3 of the hippocampus. To our knowledge, it seems likely that the required protein synthesis occurs at the mossy fiber synapse on CA3 pyramidal cells and participates in the first molecular events underlying LTP at this peculiar synapse.

However, we cannot completely exclude a possible nonspecific effect of anisomycin and additional work, identifying the proteins synthesized at the mossy fibers synapse following both LTP induction and contextual fear conditioning, is needed to strengthen this hypothesis.

## Acknowledgments

We thank Clayton Dickson for helpful feedback on the discussion.

## References

- Artinian J, McGauran AMT, De Jaeger X, Mouldous L, Frances B, Rouillet P. 2008. Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial memory consolidation but also reconsolidation. *Eur J Neurosci* **27**: 3009–3019.
- Barea-Rodriguez EJ, Rivera DT, Jaffe DB, Martinez JL. 2000. Protein synthesis inhibition blocks the induction of mossy fiber long-term potentiation in vivo. *J Neurosci* **20**: 8528–8532.
- Barrientos RM, O'Reilly RC, Rudy JW. 2002. Memory for context is impaired by injecting anisomycin into dorsal hippocampus following context exploration. *Behav Brain Res* **134**: 299–306.
- Bliss TV, Collingridge GL, Laroche S. 2006. Neuroscience. ZAP and ZIP, a story to forget. *Science* **313**: 1058–1059.
- Bourtchouladze R, Abel T, Berman N, Gordon R, Lapidus K, Kandel ER. 1998. Different training procedures recruit either one or two critical periods for contextual memory consolidation, each of which requires protein synthesis and PKA. *Learn Mem* **5**: 365–374.
- Calixto E, Thiels E, Klann E, Barrionuevo G. 2003. Early maintenance of hippocampal mossy fiber-long-term potentiation depends on protein and RNA synthesis and presynaptic granule cell integrity. *J Neurosci* **23**: 4842–4849.
- Canal CE, Chang Q, Gold PE. 2007. Amnesia produced by altered release of neurotransmitters after intraamygdala injections of a protein synthesis inhibitor. *Proc Natl Acad Sci* **104**: 12500–12505.
- Ceccom J, Bouhsira E, Halley H, Dumas S, Lassalle JM. 2013. Differential needs of zinc in the CA3 area of dorsal hippocampus for the consolidation of contextual fear and spatial memories. *Learn Mem* **20**: 348–351.
- Chicurel ME, Terrian DM, Potter H. 1993. mRNA at the synapse: analysis of a synaptosomal preparation enriched in hippocampal dendritic spines. *J Neurosci* **13**: 4054–4063.
- Daumas S, Halley H, Lassalle JM. 2004. Disruption of hippocampal CA3 network: effects on episodic-like memory processing in C57BL/6j mice. *Eur J Neurosci* **20**: 597–600.
- Daumas S, Halley H, Frances B, Lassalle JM. 2005. Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. *Learn Mem* **12**: 375–382.
- Daumas S, Ceccom J, Halley H, Frances B, Lassalle JM. 2009. Activation of metabotropic glutamate receptor type 2/3 supports the involvement of the hippocampal mossy fiber pathway on contextual fear memory consolidation. *Learn Mem* **16**: 504–507.
- Davis HP, Squire LR. 1984. Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull* **96**: 518–559.
- Frey U, Morris RG. 1998. Weak before strong: dissociating synaptic tagging and plasticity-factor accounts of late-LTP. *Neuropharmacology* **37**: 545–552.
- Frey U, Huang YY, Kandel ER. 1993. Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science* **260**: 1661–1664.
- Hagena H, Manahan-Vaughan D. 2013. Differentiation in the protein synthesis-dependency of persistent synaptic plasticity in mossy fiber and associational/commissural CA3 synapses in vivo. *Front Integr Neurosci* **7**: 10.
- Hernandez PJ, Abel T. 2008. The role of protein synthesis in memory consolidation: Progress amid decades of debate. *Neurobiol Learn Mem* **89**: 293–311.
- Huang YY, Li XC, Kandel ER. 1994. cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell* **79**: 69–79.
- Igaz LM, Vianna MR, Medina JH, Izquierdo I. 2002. Two time periods of hippocampal mRNA synthesis are required for memory consolidation of fear-motivated learning. *J Neurosci* **22**: 6781–6789.
- Job C, Eberwine J. 2001. Localization and translation of mRNA in dendrites and axons. *Nat Rev Neurosci* **2**: 889–898.
- Kandel ER. 2001. The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses. *Science* **294**: 1030–1038.
- Karpova A, Mikhaylova M, Thomas U, Knopfel T, Behnisch T. 2006. Involvement of protein synthesis and degradation in long-term potentiation of Schaffer collateral CA1 synapses. *J Neurosci* **26**: 4949–4955.
- Kim JJ, Fanselow MS. 1992. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* **256**: 675–677.
- Malenka RC, Bear MF. 2004. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* **44**: 5–21.
- McHugh TJ, Tonegawa S. 2009. CA3 NMDA receptors are required for the rapid formation of a salient contextual representation. *Hippocampus* **19**: 1153–1158.
- Motanis H, Maroun M. 2012. Differential involvement of protein synthesis and actin rearrangement in the reacquisition of contextual fear conditioning. *Hippocampus* **22**: 494–500.
- Namgung U, Valcourt E, Routtenberg A. 1995. Long-term potentiation in vivo in the intact mouse hippocampus. *Brain Res* **689**: 85–92.
- Otto C, Kovalchuk Y, Wolfer DP, Gass P, Martin M, Zuschratter W, Grone HJ, Kellendonk C, Tronche F, Maldonado R, et al. 2001. Impairment of mossy fiber long-term potentiation and associative learning in pituitary adenylate cyclase activating polypeptide type I receptor-deficient mice. *J Neurosci* **21**: 5520–5527.
- Ouyang Y, Rosenstein A, Kreiman G, Schuman EM, Kennedy MB. 1999. Tetanic stimulation leads to increased accumulation of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II via dendritic protein synthesis in hippocampal neurons. *J Neurosci* **19**: 7823–7833.
- Phillips RG, LeDoux JE. 1992. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* **106**: 274–285.
- 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* **3**: 238–244.
- Rolls ET, Treves A. 1996. The hippocampus and memory. In *Neural networks and brain function*, pp. 95–135. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Selden NR, Everitt BJ, Jarrard LE, Robbins TW. 1991. Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues. *Neuroscience* **42**: 335–350.
- Sharma AV, Nargang FE, Dickson CT. 2012. Neurosilence: profound suppression of neural activity following intracerebral administration of the protein synthesis inhibitor anisomycin. *J Neurosci* **32**: 2377–2387.
- Shires KL, Da Silva BM, Hawthorne JP, Morris RG, Martin SJ. 2012. Synaptic tagging and capture in the living rat. *Nat Commun* **3**: 1246.
- Steward O, Schuman EM. 2001. Protein synthesis at synaptic sites on dendrites. *Annu Rev Neurosci* **24**: 299–325.
- Tsokas P, Grace EA, Chan P, Ma T, Sealton SC, Iyengar R, Landau EM, Blitzler RD. 2005. Local protein synthesis mediates a rapid increase in dendritic elongation factor 1A after induction of late long-term potentiation. *J Neurosci* **25**: 5833–5843.

Received November 25, 2013; accepted in revised form April 8, 2014.