



HAL
open science

Émotions et sommeil paradoxal : étude comportementale, fonctionnelle et anatomique chez la souris

Marius Rosier

► **To cite this version:**

Marius Rosier. Émotions et sommeil paradoxal : étude comportementale, fonctionnelle et anatomique chez la souris. Neurosciences. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSE1016 . tel-01556233

HAL Id: tel-01556233

<https://theses.hal.science/tel-01556233>

Submitted on 4 Jul 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 NNT : 2017LYSE1016

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale 476
Neurosciences et Cognition

Spécialité de doctorat : Neurosciences

Soutenue publiquement le 02/02/2017, par :
Marius Rosier

Emotions et Sommeil Paradoxal : étude comportementale, fonctionnelle et anatomique chez la souris

Devant le jury composé de :

BAL, Thierry Directeur de Recherche, Université Paris Sud **Examineur**
DESMEDT, Aline Maître de Conférence, Neurocentre Magendie **Rapporteure**
FABRE, Véronique Chargée de Recherche, Institut de biologie Paris Seine **Rapporteure**
GERVAIS, Rémi Professeur des Universités, Centre de Recherche en Neurosciences de
Lyon **Examineur**
POPA, Daniela Chargée de Recherche, Institut de Biologie de l'Ecole Normale Supérieure
Examinatrice
RAVEL, Nadine Directrice de Recherche, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon
Examinatrice
SALIN, Paul Directeur de Recherche, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon
Directeur de thèse

A mon petit Papa, qui m'a encouragé jusqu'au bout...

RESUME

Le sommeil est un état de vigilance présent chez la plupart des espèces animales et supportant de nombreuses fonctions. Une des fonctions du sommeil les plus discutées est son rôle dans la régulation des émotions. Le sommeil paradoxal (SP), un des deux stades de sommeil chez les mammifères, a été étroitement associé à cette régulation. Il a été proposé que cette régulation dépende de la consolidation de la mémoire émotionnelle, et d'un processus associé de diminution du tonus émotionnel. Dans ce contexte, la thèse s'intéresse au rôle des premières heures de SP post-apprentissage dans la consolidation à très long terme de la mémoire de peur. Pour cela, nous avons effectué un conditionnement de peur contextuel chez la souris suivi de 6h de privation spécifique de SP, et testé la mémoire récente (24 heures) et ancienne (30 jours) des animaux. Notre analyse du comportement révèle une atteinte spécifique des performances mnésiques des animaux privés de SP lors du rappel de la mémoire ancienne, pointant pour la première fois un rôle du SP post-apprentissage dans la consolidation à très long terme de la mémoire.

Nous avons également réalisé une étude immunohistochimique visant à évaluer l'activité cérébrale des animaux lors du rappel. Pour cela, nous avons analysé l'expression du gène d'expression précoce *Egr1* (*zif268*) dans de nombreuses régions cérébrales impliquées dans ce type de mémoire. Nos résultats révèlent une importance majeure du SP post-apprentissage dans la mise en place du processus de réorganisation systémique observé lors de la consolidation à très long terme.

Nous avons ainsi montré que les premières heures de SP post-apprentissage peuvent être cruciales dans la régulation à très long terme d'une mémoire de la peur. Nous avons également montré que le SP contribuerait à une induction précoce de la réorganisation à long terme des réseaux mnésiques, et notamment dans la diminution d'activité des régions cérébrales en charge de l'expression des émotions. Ces résultats amènent à proposer un modèle selon lequel le SP pourrait jouer un rôle majeur dans la régulation émotionnelle dans les mécanismes pathophysiologiques d'atteintes de l'humeur comme la dépression majeure.

ABSTRACT

Sleep is a vigilance state observed in most of animal species, and the support of many functions. One identified function of sleep is its role in emotions regulation. Paradoxical sleep (PS, or Rapid Eye Movement Sleep), one of the two sleep stages, has been more closely linked to emotion regulation. It has been proposed that PS plays a key role in emotional memory consolidation, notably by reducing the emotional tone associated to memory. In this thesis, we tested this PS role by focusing on the first few hours of post-learning PS in the remote consolidation of fear memory in mice. We performed a contextual fear conditioning followed by 6 hours of PS deprivation, and evaluated the memory of the animals at recent (24 hours) and remote (30 days) delays. Our behavioral analysis reveals a specific alteration of memory performances when animals were tested at remote delays, revealing for the first time a role of post-learning PS in remote memory consolidation.

We then performed an immunohistochemistry analysis of brain activation during memory recall by measuring the expression of the immediate early gene *zif268* in numerous structures involved in emotional memory processing. Our results reveal a major role of post-learning PS in initializing systemic reorganization processes taking place during remote memory consolidation.

Thus we showed that the first few hours of post-learning PS can be crucial in the remote regulation of fear memory. We also showed that this function of PS would be due to an early induction of remote reorganization of memory networks, notably by the reduction of neuronal activity in brain regions involved in the expression of emotions. These results suggest a model by which PS could play a major role in emotion regulation and in pathophysiological mechanisms of mood disorder such as major depression.

I. Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	8
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	13
I. Le sommeil	13
A. Les différentes phases de sommeil et leur caractérisation.....	13
A. Mécanismes à l'origine des différents états de vigilance et de leur alternance	16
II. Les émotions.....	20
A. L'iceberg des émotions : quelle est la part du conscient et de l'inconscient ?.....	20
1. L'ours dans la forêt.....	20
2. Le modèle de l'évaluation cognitive ou <i>appraisal</i>	21
3. La part de l'inconscient en émotion et cognition.....	23
B. Biologie des émotions	26
1. A la découverte du cerveau des émotions: évolution des modèles	26
2. La peur et l'anxiété : les moteurs de la survie conservés au cours de l'évolution.....	36
1. Régulations par le sommeil paradoxal	47
C. Mécanismes pathopsychologiques des troubles de l'humeur: exemple de la dépression majeure	58
1. Causes du développement d'une dépression majeure.....	59
2. Caractérisation neurobiologique de la dépression majeure	60
III. La mémoire.....	68
A. Définition et classification de la mémoire.....	68
B. L'apprentissage associatif de conditionnement à la peur	71
1. Définition.....	71
2. Substrats neurobiologiques du conditionnement de peur	74
C. La consolidation mnésique.....	84
1. La théorie standard de la consolidation	86
2. La théorie des traces multiples	89
3. La théorie de la transformation	90
4. Rôle du sommeil dans la consolidation mnésique	92
 CHAPITRE I : Etude de l'influence des premières heures de sommeil paradoxal post-apprentissage sur la consolidation à très long terme d'une mémoire de peur contextuelle chez la souris.....	100
I. Article.....	100
II. Résultats supplémentaires non présentés dans l'article	151
A. Consolidation de la mémoire à long terme récente (24h)	151

1.	Le sommeil de transition joue-t-il un rôle dans la consolidation ?	151
2.	Modification de l'intensité du stimulus aversif.....	153
B.	Expériences comportementales complémentaires.....	155
1.	Importance des conditions environnementales d'élevage	155
2.	Evaluation de l'anxiété des animaux au cours du rappel.....	159
CHAPITRE II : Etude de l'activité glutamatergique dans le cortex préfrontal médian chez un modèle murin de dépression : le modèle H/Rouen		167
I.	Contexte de l'étude.....	167
II.	Matériel et Méthodes	169
III.	Résultats et discussion	172
A.	Etude <i>in vitro</i> de la transmission glutamatergique	172
1.	Identification et localisation des neurones enregistrés	172
2.	Transmission synaptique médiée par l'activation des récepteurs AMPA en condition basale. 173	
3.	Récepteurs AMPA perméables au Ca ²⁺	179
B.	Expression de la sous-unité GluA1	182
C.	Discussion méthodologique	184
1.	Utilisation du modèle de dépression H/Rouen	184
2.	Enregistrements électrophysiologiques <i>in vitro</i>	185
D.	Conclusions de l'étude.....	186
DISCUSSION GENERALE		188
I.	Discussion méthodologique.....	188
A.	Privation automatique de SP	188
B.	Conditionnement contextuel à la peur de premier plan.....	191
C.	Utilisation de la protéine EGr1 (Zif268) comme marqueur d'activité.....	192
D.	Utilisation de tests comportementaux après le rappel.....	194
II.	Interprétation fonctionnelle.....	195
A.	Influence de la privation de SP sur la consolidation à long terme récente (24 heures) et ancienne (30 jours).....	196
1.	Etudes comportementales	196
2.	Sommeil post-apprentissage et consolidation mnésique	198
3.	Effet de la privation de SP sur l'activité cérébrale lors du rappel	201
4.	Conclusion et perspectives.....	211

Abbréviations

5-HT : sérotonine

ACh : acétylcholine

ACt : axe corticotrope

AD : antidépresseur

AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate

Amy : amygdale

BLA : noyau basolatéral de l'amygdale

BDNF : *Brain Derived Neurotrophic Factor*

CCA : cortex cingulaire antérieur

CE : noyau central de l'amygdale

CEl : partie latérale du noyau central de l'amygdale

CEm : partie médiane du noyau central de l'amygdale

CER : cortex entorhinal

CL : cellule de lieu

COF : cortex orbitofrontal

CP : conditionnement à la peur

CPc : conditionnement à la peur contextuel

CPF : cortex préfrontal

CPFm : cortex préfrontal médian

CPi : conditionnement à la peur indicé

DA : dopamine

dHPC : hippocampe dorsal

DM : dépression majeure

DR : noyau du raphé dorsal

EEG : électroencéphalogramme

EMG : électromyogramme

Ev : éveil

GABA : acide γ -aminobutyrique

GD : gyrus dentelé

HPC : hippocampe

IEG : gène d'expression précoce

IL : cortex infralimbique

IRMf : imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

ISRS : inhibiteurs sélectifs de la capture de la sérotonine

ITC : cellules intercalées

LA : noyau latéral de l'amygdale

LC : *locus caeruleus*

LDT : tegmentum latéro-dorsal (*locus caeruleus*,)

LPT : tegmentum pontique latéral

LTM : lobe temporal médian

LTP : potentialisation à long terme

MD : thalamus médiodorsal

NA : noradrénaline

PAG : substance grise périaqueducale

PB : prosencéphal basal

PGO : vagues ponto-géniculo-occipitales

PL : cortex prélimbique

PPT : noyau pédonculopontin

PSD : privés de sommeil paradoxal

PVN : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus

PVT : noyau paraventriculaire du thalamus

Re : noyau reuniens du thalamus

RSC : cortex rétrosplénial

SFSR : *sleep to forget sleep to remember*

SL : sommeil lent

SLD : noyau sublatérodorsal

SNA : système nerveux autonome

SNS : système nerveux sympathique

SP : sommeil paradoxal

SSPT : syndrome de stress post-traumatique

ST : sommeil de transition

SW-R : *sharp-wave ripple*

TMN : noyau tuberomamillaire

vHPC : hippocampe ventral

vIPAG : partie ventro-latérale de la substance grise périaqueducale

VLPO : noyau pré-optique ventro-latéral de l'hypothalamus

VO : cortex orbitofrontal ventral

INTRODUCTION GENERALE

"Les hommes se trompent quand ils se croient libres ; cette opinion consiste en cela seul qu'ils sont conscients de leurs actions et ignorants des causes par lesquelles ils sont déterminés."

Baruch Spinoza

" [...] la tristesse peut protéger dans les bonnes circonstances, par exemple, quand elle aide à s'adapter à la perte de quelqu'un. A long terme, toutefois, elle est néfaste par cumul et peut dans ce cas devenir un cancer de l'âme."

Antonio Damasio

Etre en mesure d'exercer un contrôle conscient sur nos émotions est une tâche extrêmement difficile que peu d'entre nous parviennent à réaliser, et pour cause : les émotions sont des processus inconscients guidant les comportements dans un objectif de survie. Comme le faisait justement remarquer Baruch Spinoza, nous sommes bien souvent ignorants de ces processus inconscients qui nous guident. Nous avons une perception consciente de notre état émotionnel, mais les causes externes et internes de nos joies, de nos peurs ou de nos colères nous sont bien souvent inaccessibles. Comme beaucoup de phénomènes biologiques, le caractère bénéfique des émotions est dépendant de leur juste mesure : pas assez de peur et vous ne vous souciez pas du camion roulant vers vous à toute vitesse. Trop de peur et vous resterez immobilisés même lorsqu'il est à l'arrêt. Une juste mesure est nécessaire à un comportement adapté, et toute juste mesure est issue d'une régulation qui permet l'adaptation. Chez les mammifères, il semblerait que les phénomènes régulateurs des émotions soient liés au sommeil. C'est une expérience qui a pu arriver à chacun d'entre nous au moins une fois : un manque de sommeil peut entraîner des réactions émotionnelles disproportionnées. Cette régulation peut également s'observer au niveau cérébral : un manque de sommeil semble entraîner une augmentation d'activité dans les aires cérébrales en charge de l'expression des émotions (Yoo et al., 2007). Cependant, le sommeil n'est pas un phénomène uniforme. On peut ainsi distinguer deux phases de sommeil chez les mammifères : le sommeil lent et le sommeil paradoxal (SP, Saper et al., 2010). Le sommeil lent est caractérisé par une activité cérébrale dominée par des oscillations de faible fréquence observables à l'électroencéphalogramme associées à un faible tonus

musculaire. Le SP est lui caractérisé par des oscillations de plus haute fréquence associées à une atonie musculaire totale. Les caractéristiques différentes de ces deux stades de sommeil suggèrent des fonctions également différentes, et la régulation des émotions a en ce sens plus étroitement été reliée au SP. L'hypothèse d'un lien entre émotions et SP implique que des troubles de SP seraient observés de manière concomitante avec des troubles émotionnels. C'est de manière intéressante ce qui est observé dans de nombreux troubles psychiatriques tels que la dépression majeure. Ainsi, l'étude de ces maladies, et notamment des causes de leur développement, pourrait grandement améliorer la compréhension des liens entre SP et émotions. Ce lien entre régulation des émotions et SP provient également d'études s'intéressant à un aspect particulier des émotions : la consolidation des mémoires émotionnelles. La mémoire est un ensemble de processus permettant le stockage des informations en vue de leur utilisation future. Cet aspect de stockage des informations implique l'intervention de processus visant à stabiliser dans le temps les supports biologiques de la mémoire, regroupés sous le terme de "processus de consolidation". Si les émotions jouent un rôle fondamental au moment de l'acquisition d'une mémoire en renforçant l'apprentissage, il semblerait que la réponse émotionnelle corporelle diminue avec le temps, ce qui permet de ne pas ressentir intensément la tristesse associée à un événement plusieurs années après. Ce phénomène éviterait à long terme le cumul d'émotions négatives que Damasio décrit comme "un cancer de l'âme" dans son livre *Spinoza avait raison*. Une réorganisation des réseaux cérébraux supportant la mémoire est observée au cours du temps. Ce phénomène, appelé "réorganisation systémique", a été proposé comme étant le substrat biologique de la transformation à long terme de la mémoire, impliquant par exemple la perte de précision des souvenirs. Le sommeil, et en particulier le SP, aurait alors une double fonction : d'une part renforcer la mémoire par des processus de consolidation, et d'autre part diminuer le tonus émotionnel associé à l'évènement. Cette hypothèse a notamment été formulée sous l'appellation "*Sleep to Forget, Sleep to Remember*" (Goldstein and Walker, 2014; Walker and van der Helm, 2009).

Objectifs de la thèse

Jusqu'à présent, il n'y a pas eu d'étude chez l'animal sur le rôle du sommeil dans la consolidation à long terme, et donc de la "réorganisation systémique", des informations en mémoire. Des études s'intéressant au rôle du sommeil sur la consolidation mnésique à court terme (ne dépassant pas 24h, voire quelques jours) ont été réalisées, mais aucune ne se sont réellement intéressées au rôle du sommeil sur le devenir de la trace mnésique à très long terme (généralement testé vers 30 jours chez l'animal). La première partie de cette thèse s'est intéressée à cette question autour des trois premiers objectifs présentés ici. Par ailleurs, un corolaire de l'hypothèse *Sleep to Forget Sleep to Remember* est que des troubles du SP seraient observés de manière conjointe à des troubles des émotions, comme observé dans la dépression majeure. Cette hypothèse propose notamment que la dépression majeure pourrait être liée à une mauvaise consolidation de la mémoire émotionnelle au cours du SP (Goldstein and Walker, 2014). Une hypothèse émergente concernant les mécanismes neurobiologiques de la dépression majeure est que celle-ci pourrait être due à une altération de la transmission glutamatergique, notamment dans le cortex préfrontal médian (CPFm). Ces deux hypothèses sont intéressantes à mettre en relation car le CPFm est impliqué dans la consolidation de la mémoire émotionnelle, notamment au cours du SP (Genzel et al., 2015). Le quatrième objectif de cette thèse était par conséquent d'identifier les liens potentiels entre SP, dépression et transmission glutamatergique dans le CPFm. Nous avons débuté l'approche de cette question en étudiant la transmission glutamatergique dans le CPFm d'un modèle murin de dépression.

OBJECTIF 1 : Déterminer si une privation courte et non stressante du SP post-apprentissage entraîne un déficit lors du rappel d'une mémoire ancienne de peur contextuelle chez la souris.

Plusieurs études suggèrent un rôle important du SP post-apprentissage (entre 4h et 6h) dans la consolidation d'une mémoire de la peur contextuelle testée 24h après le conditionnement (Boyce et al., 2016; Popa et al., 2010; Ravassard et al., 2016). Peu d'études se sont intéressées au rôle du sommeil dans la consolidation à très long terme de la mémoire, et celles qui ont été publiées ont caractérisé le rôle du sommeil total (Sterpenich et al., 2009). Nous proposons donc ici d'étudier l'effet d'une privation spécifique de SP pendant les 6 heures suivant un conditionnement contextuel à la peur lors de rappels à 24

heures ou à 30 jours. L'utilisation d'une méthode de privation automatique et non stressante développée au laboratoire permet d'éliminer l'effet d'un stress potentiel engendré par la méthode de privation.

OBJECTIF 2 : Déterminer l'effet d'une privation courte et non stressante de SP post-apprentissage sur la réorganisation systémique observée lors du rappel d'une mémoire ancienne de peur contextuelle.

De nombreuses études révèlent une réorganisation sur le long terme des réseaux neuronaux responsables du rappel de la mémoire de la peur (Frankland et al., 2004; Goshen et al., 2011; Kim and Fanselow, 1992; Wheeler et al., 2013). Une seule étude chez l'Homme suggère que le sommeil total aurait une fonction dans cette modification des réseaux (Sterpenich et al., 2009). Si beaucoup d'hypothèses existent sur les mécanismes responsables de cette réorganisation systémique, aucune étude n'a testé chez l'animal le rôle que le sommeil, et à plus forte raison le SP, pourrait avoir. Nous avons testé ici l'effet d'une privation spécifique de SP pendant les 6 heures suivant un CPc sur l'activité de nombreuses régions cérébrales lors du rappel à 24h ou à 30 jours, évaluée au travers de la quantification de l'expression du gène d'expression précoce *egr1* (*zif268*).

OBJECTIF 3 : Déterminer si les premières heures de SP après un apprentissage émotionnel jouent un rôle dans la diminution à long terme de l'activité du réseau émotionnel : test de l'hypothèse Sleep to Forget, Sleep to Remember.

Bien que séduisante et possédant de nombreux arguments en sa faveur, l'hypothèse *Sleep to Forget, Sleep to Remember* a pour le moment été très peu testée. Les résultats des rares études qui ont testé cette hypothèse sont contradictoires, allant parfois dans le sens de l'hypothèse (van der Helm et al., 2011), ou à l'opposé (Deliens et al., 2013). Cette disparité des résultats provient certainement de la diversité des protocoles et d'un rôle du SP probablement plus complexe qu'énoncé dans l'hypothèse *Sleep to Forget Sleep to Remember*, dépendant notamment de l'intensité de l'émotion ainsi que du contexte d'apprentissage émotionnel. De nombreuses études utilisant des protocoles différents sont donc nécessaires pour affiner notre compréhension des liens entre SP et composante

émotionnelle de la mémoire. Nous avons testé l'influence d'une privation courte du SP post-apprentissage sur l'anxiété des animaux par des tests comportementaux réalisés immédiatement après le rappel à 30 jours d'une mémoire de peur contextuelle chez la souris.

OBJECTIF 4: Mise en évidence de modifications de la transmission glutamatergique dans le cortex préfrontal médian (CPFm) du modèle murin de dépression H/Rouen.

L'hypothèse d'un déficit de transmission glutamatergique dans le CPFm de patients dépressifs a émergé récemment, notamment suite à l'observation de l'effet antidépresseur de l'anesthésique kétamine (Duman and Aghajanian, 2012). Cet effet antidépresseur est remarquable car il est d'action rapide à l'inverse de celui des antidépresseurs classiques qui ont une action retardée de 2-3 semaines. Nous disposons dans notre laboratoire d'un modèle murin génétique de la dépression qui présente des troubles du SP similaires à ceux observés chez l'Homme (El Yacoubi et al., 2003; Popa et al., 2006), et constitue ainsi un outil adapté dans l'étude des liens entre SP et dépression. Nous avons étudié l'activité glutamatergique du CPFm des souris H/Rouen par des enregistrements électrophysiologiques *in vitro* en Patch-Clamp de neurones pyramidaux. Faute de temps, les résultats obtenus n'ont malheureusement pas pu être mis en lien avec les altérations du SP observées chez ces souris, thème central de cette thèse. Néanmoins, étant donné le lien étroit existant entre dépression et mémoire émotionnelle, je tenais à présenter les résultats de cette étude dans ce manuscrit.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. Le sommeil

Le sommeil est un état récurrent caractérisé notamment par une perte de conscience, une diminution de la réactivité sensorielle aux stimuli externes et une diminution du tonus musculaire et de la température corporelle. Il est généralement défini en opposition à l'état d'éveil, caractérisé par l'attention, la contemplation ou l'action. On retrouve cet état de sommeil chez la quasi-totalité des espèces animales, des insectes aux mammifères (Campbell and Tobler, 1984). Bien qu'on ait longtemps pensé que le sommeil représentait un état quiescent durant lequel le cerveau aurait été inactif, il est désormais reconnu que cet état de vigilance représente bien un processus actif impliquant la totalité du corps, différent d'une espèce à une autre.

A. Les différentes phases de sommeil et leur caractérisation

Comme nous l'avons dit, le sommeil n'est pas un état homogène et on distingue chez les mammifères deux phases de sommeil qui diffèrent dans leurs caractéristiques physiologiques et biochimiques : le sommeil lent (SL) et le sommeil paradoxal (SP ou *Rapid Eye Movement Sleep (REM sleep)*). Chez l'Homme, le SL se subdivise en trois ou quatre stades que l'on peut regrouper en deux sous-catégories. Le sommeil lent léger (stades I et II) est caractérisé par une activité cérébrale dominée par des oscillations de basse fréquence ainsi que par des fuseaux de plus haute fréquence et de courte durée (*spindles* ; 10-14 Hz), et la présence de complexes K, des événements brefs de grande amplitude détectables à l'électroencéphalogramme (EEG). Le sommeil lent profond (stade III) ou sommeil à ondes lentes est caractérisé par une activité cérébrale dominée par des oscillations de faible fréquence de la bande delta (0,5-4Hz). Durant cette phase de sommeil, des événements transitoires appelés « *sharp wave-ripples* » (*SW-R*) peuvent être détectés au niveau de l'hippocampe, qui sont des pointes-ondes de 40 à 120 ms associées à des oscillations de haute fréquence (100-250 Hz). Chez le rongeur, modèle utilisé lors de cette thèse, un seul

stade de SL est généralement décrit, caractérisé par un faible tonus musculaire à l'électromyogramme (EMG) et une dominance des oscillations de basse fréquence de la bande delta associées à des *spindles* et des *SW-R* (figure 1B). Cependant, il existe une modulation de l'amplitude de ces oscillations lentes et de la présence des fuseaux qui laisse supposer que cet état n'est pas homogène chez le rongeur (Fernandez et al., 2016). Le SP tire son appellation française de l'association paradoxale d'une activité cérébrale similaire à celle de l'éveil et d'une atonie musculaire totale, exceptée au niveau de la face sur laquelle des légers spasmes musculaires (*twitches*) ainsi que des mouvements oculaires rapides sont détectables. L'activité cérébrale est dominée par des oscillations de faible amplitude et de plus haute fréquence de la bande thêta (4-10 Hz) parfois accompagnées d'oscillations de rythme gamma (40-100 Hz). On détecte également au cours du SP des événements phasiques de grande amplitude détectables en potentiel de champ local appelés vagues ponto-géniculo-occipitales (PGO). Ces PGO partent du tronc cérébral pour arriver au corps géniculé latéral du thalamus puis au cortex occipital. Enfin, un sommeil intermédiaire ou de transition (ST) peut être défini chez le rongeur, qui est caractérisé par la concomitance d'ondes appartenant aux bandes delta (plutôt caractéristique du SL) et thêta (plutôt caractéristique du SP). La succession de ces différents stades de sommeil suit trois règles : 1) après un épisode d'éveil (Ev) survient obligatoirement du SL, mais jamais du ST ou du SP (sauf cas pathologique), 2) un épisode de ST est obligatoirement suivi de SP ou d'Ev, et 3) un épisode de SP est obligatoirement suivi d'un épisode d'Ev, même si celui-ci est minime (« micro-éveils »). Ces règles amènent à quatre *patterns* possibles de succession des états de vigilance (figure 1A). De plus, l'occurrence des différentes phases de sommeil suit un rythme circadien qui répartit les quantités de sommeil de manière hétérogène, rendant par exemple chez l'Homme le début de nuit riche en SL profond et la fin de nuit riche en SP. Les rongeurs sont des animaux nocturnes et par conséquent dorment majoritairement durant la phase claire. On considère que les souris passent 60% et 6% de la phase claire respectivement en SL et SP, tandis que ces états de vigilance représentent respectivement 20% et 1% de la phase sombre (Yasnikov and Deboer, 2012). Les différents stades de sommeil peuvent également se différencier par leurs caractéristiques neuromodulatoires. En effet, le SL est caractérisé par une diminution du taux d'acétylcholine et de cortisol libérés, tandis que le SP est caractérisé par une augmentation de la concentration de ces neuromodulateurs,

accompagnée par une diminution des tonus adrénérurgique et sérotoninergique (Diekelmann and Born, 2010 ; figure 1D).

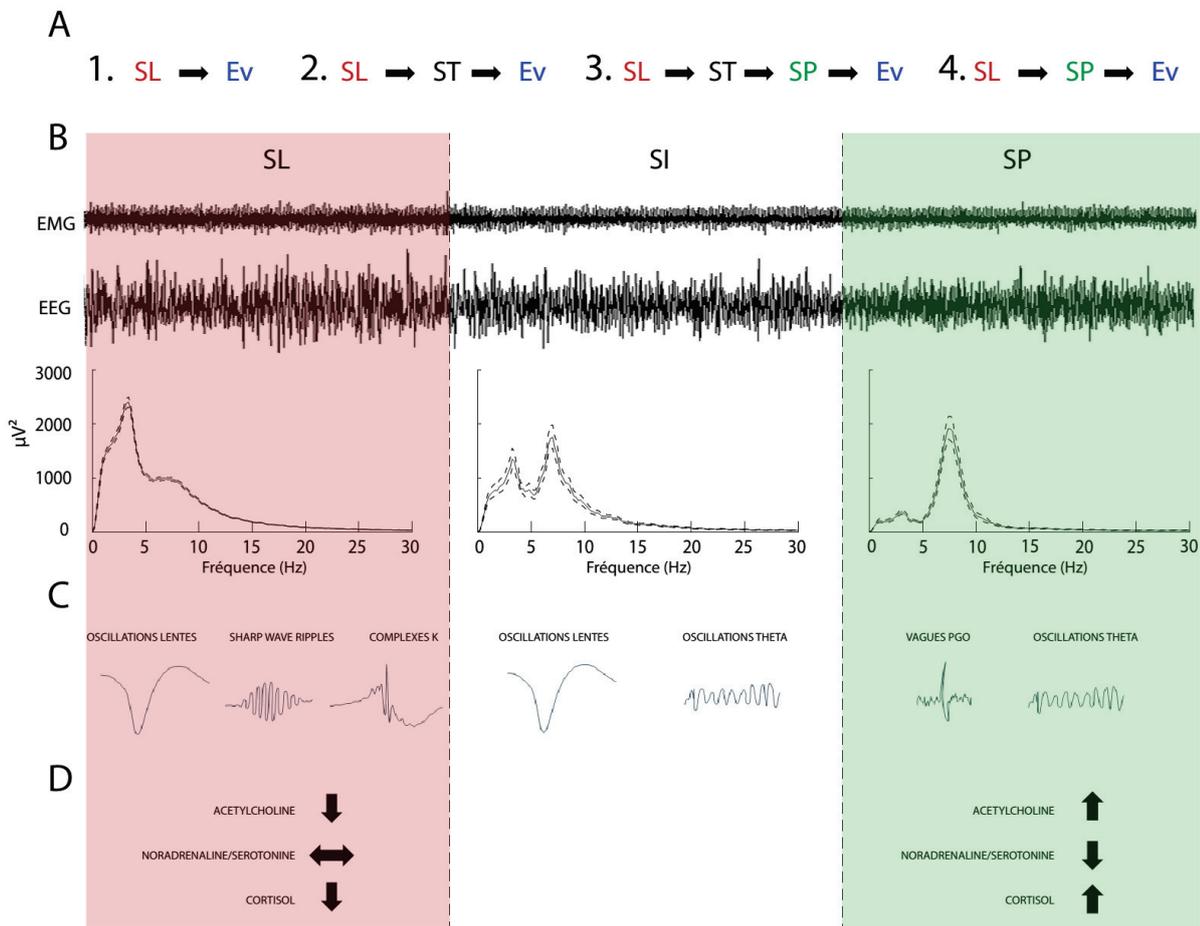


Figure 1 : Les différents stades de sommeil chez le rongeur. **A.** Possibilités de succession des états de vigilance chez le rongeur. Le sommeil paradoxal (SP) est obligatoirement suivi d'un éveil (Ev) et peut survenir après un épisode de sommeil lent (SL) ou de sommeil de transition (ST). **B.** Exemple de tracé électromyographique (EMG) et électroencéphalographique (EEG) enregistré chez la souris (haut) et spectre de fréquence correspondant (bas). On observe l'apparition progressive des ondes thêta (environ 7 Hz) qui commencent à apparaître au cours du ST, ainsi que la disparition du tonus musculaire et des ondes delta (environ 4 Hz) lors du SP. **C.** Caractéristiques électrophysiologiques des trois stades de sommeil. **D.** Caractéristiques neuromodulatoires des trois stades de sommeil. Certains éléments sont repris de Diekelmann and Born, 2010, Nature Reviews Neuroscience.

Les quantités de sommeil sont soumises à une importante régulation homéostatique et la diminution des quantités de sommeil, par exemple lors de procédures de privation, est rapidement compensée par une augmentation subséquente des quantités de sommeil

appelée « rebond », qui permet une récupération de la dette de sommeil. Les mécanismes responsables de cette régulation du sommeil et de la transition d'un état de vigilance à un autre ont été le sujet de nombreuses recherches depuis la découverte du SP par Michel Jouvet et William Dement au milieu du XXème siècle (Dement, 1958; Jouvet et al., 1959).

A. Mécanismes à l'origine des différents états de vigilance et de leur alternance

Le sommeil fait l'objet d'une régulation fine que ce soit chez l'homme ou le rongeur (même si chez ce dernier le sommeil est extrêmement fragmenté) (Saper et al., 2010). En effet, des altérations dans les mécanismes en charge de l'alternance des états de vigilance peuvent conduire à des troubles tels que la narcolepsie, l'apnée du sommeil ou encore les troubles comportementaux liés au sommeil paradoxal (*REM sleep Behavior Disorder* ou *RBD*). Cette alternance entre les états de vigilance est principalement assurée par les systèmes neuromodulateurs. L'éveil (Ev) est un état hautement dynamique maintenu par l'intervention de six systèmes neuromodulateurs : 1) le système noradrénergique issue des neurones du *locus caeruleus*, 2) le système sérotoninergique en provenance du noyau du raphé dorsal, 3) le système cholinergique des neurones des noyaux pédonculopontin et du tegmentum latéro-dorsal, 4) le système orexinergique de l'hypothalamus postérieur, 5) le système dopaminergique de la substance grise périaqueducules (PAG), et enfin 6) le système histaminergique en provenance des noyaux tubéro-mamillaires (Saper et al., 2010). Le passage de l'Ev au SL serait initié par l'action du noyau préoptique ventro-latéral de l'hypothalamus (VLPO ; Economo, 1930) dont les neurones GABAergiques entraîneraient l'inhibition de l'ensemble des centres responsables du maintien de l'Ev (Gallopín et al., 2000). L'activité du VLPO est elle dépendante de plusieurs facteurs, et notamment du rythme circadien. Comme nous l'avons évoqué plus tôt, l'occurrence des différents états de vigilance est fortement dépendante du rythme circadien, et des privations de début ou de fin de nuit chez l'Homme privent majoritairement soit de sommeil à ondes lentes (début de nuit), soit de SP (fin de nuit). Ainsi le noyau suprachiasmatique, une région fondamentale dans la régulation du rythme circadien, semble exercer un fort contrôle inhibiteur tonique sur le VLPO. La levée de cette inhibition pourrait être déterminante dans l'initiation des

épisodes de SL (Saint-Mieux et al., 2007). Un autre facteur important du déclenchement du SL pourrait être l'adénosine. En effet, il a été montré non seulement que l'adénosine inhibe les systèmes d'Ev (Huang et al., 2011), mais pourrait également stimuler les neurones du VLPO (Scharbarg et al., 2016). Cette importance de l'adénosine dans les systèmes de sommeil pourrait être à l'origine de l'effet éveillant de la caféine, qui a été identifiée comme un antagoniste des récepteurs à l'adénosine (Fredholm et al., 1999). D'autres régions que le VLPO sont probablement impliquées dans la genèse du SL, puisque des rats ayant subi une lésion du VLPO continuent à dormir (même si leur quantité de sommeil est réduite de moitié). Des lésions du striatum ou du *globus pallidus* entraînent par exemple une augmentation de la quantité d'éveil accompagnée d'une fragmentation des épisodes de SL (Saper et al., 2010). Il faut noter également que plusieurs travaux chez les rongeurs et l'Homme montrent une organisation plus complexe de l'alternance Ev – SL. Ces travaux ont récemment souligné l'importance des sommeils locaux dans les aires corticales, qui semblent indépendants de ces noyaux profonds, et sont caractérisés par des ondes lentes et une alternance de silence et d'activité corticale (Huber et al., 2004; Krueger et al., 2008).

Il existe une différence importante entre SL et SP, avec le retour d'un fort tonus cholinergique au cours du SP. Des résultats suggèrent que l'acétylcholine (ACh) contribue à l'apparition du rythme thêta ainsi qu'à la disparition des ondes lentes pendant le SP (Buzsáki, 2002). Cependant l'ACh semble occuper une fonction modulateur et non initiatrice du SP, et la transition du SL au SP pourrait dépendre des activités glutamatergique et GABAergique du noyau sublatérodorsal (SLD ; Luppé et al., 2006). En effet, l'injection dans le SLD d'un antagoniste aux récepteurs GABA semble induire du SP (Boissard et al., 2003). Il a été proposé que le SLD est maintenu silencieux par une inhibition tonique de neurones GABAergiques en son sein, mais également par ceux présents dans la substance grise périaqueducule ventro-latérale (VIPAG) ainsi que dans le tegmentum pontique latéral (Boissard et al., 2003; Saper et al., 2010). La levée de cette inhibition entraînerait l'activation des neurones glutamatergiques du SLD. L'activation de ces neurones serait à la source d'une part 1) de l'activation corticale observée durant cet état de sommeil, par leurs projections ascendantes vers le prosencéphale basal, et d'autre part 2) de l'atonie musculaire par leurs projections descendantes vers des interneurons inhibiteurs dans la médulla, dont

l'activation inhibe les motoneurones de la moelle épinière. Les mécanismes impliqués dans les transitions de l'Ev au SL et du SL au SP sont résumés sur la figure 2.

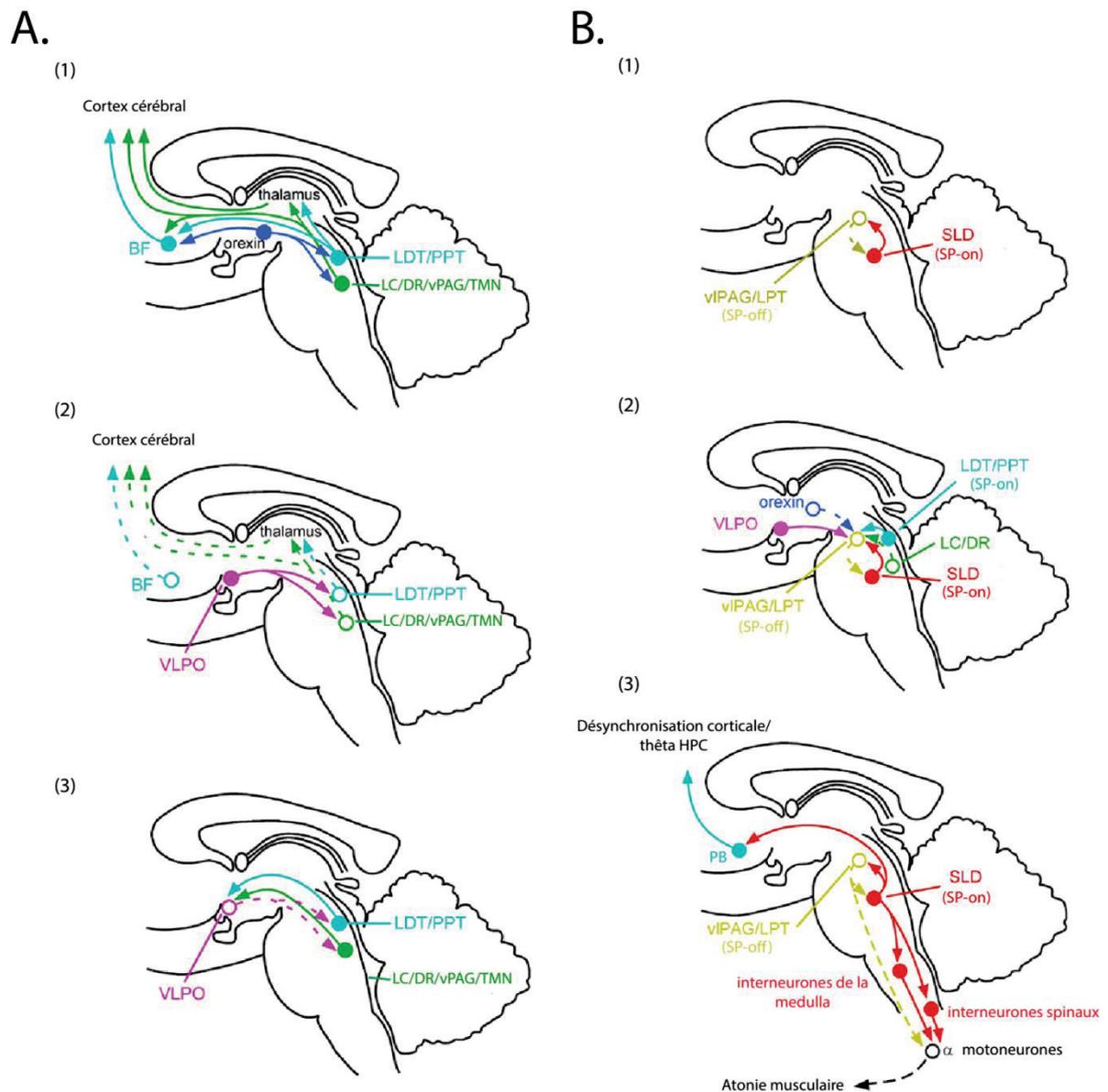


Figure 2 : Représentation schématique des mécanismes responsables de l'alternance des états de vigilance chez le rongeur. **A.** Mécanismes de contrôle du sommeil lent. (1) L'éveil est maintenu par l'action conjointe des systèmes neuromodulateurs cholinergique (noyaux pédonculo-pontin (PPT) et du tegmentum latéro-dorsal (LDT)), adrénérgique (*locus caeruleus*, LC), sérotoninergique (raphé dorsal (DR)), dopaminergique (substance grise périaqueducule (vPAG)), histaminergique (noyau tuberomammillaire (TMN)) et orexinergique (hypothalamus latéral). (2) L'activation de l'aire pré-optique ventrolatérale (VLPO) inhibe ces régions, provoquant l'entrée en sommeil lent. (3) Les systèmes d'éveil ont également une action inhibitrice sur le VLPO. Cette inhibition réciproque permet des transitions rapides d'éveil à sommeil lent et inversement. **B.** Mécanismes de contrôle du sommeil paradoxal. (1) Les

neurones GABAergiques de la partie ventrolatérale de la substance grise périaqueducale (vIPAG) et du tegmentum pontique latéral (LPT) actifs durant le sommeil lent inhibent le noyau sublatérodorsal (SLD), empêchant ainsi l'entrée en sommeil paradoxal (SP). Les neurones GABAergiques du SLD actifs durant le SP les inhibent en retour. (2) Les neurones noradrénergiques du LC et sérotoninergiques du DR empêchent l'entrée en SP en activant les neurones SP-off (vIPAG, LPT) et en inhibant les neurones SP-on du SLD. A l'inverse, les neurones cholinergiques (LDT/PPT) promeuvent le SP par leur action opposée sur les mêmes cibles (inhibition des neurones SP-off (vIPAG, LPT) et activation des neurones SP-on du SLD). Les neurones à orexine inhibent également l'entrée en SP par leur action excitatrice sur les neurones SP-off (vIPAG, LPT), tandis que les neurones du VLPO induisent l'entrée en SP en inhibant ces neurones SP-off (3) Au cours du SP, les neurones glutamatergiques du SLD entraînent l'atonie musculaire par des voies descendantes activant les interneurons spinaux. D'autre part, ils entraînent la désynchronisation corticale ainsi que le rythme thêta de l'hippocampe par des voies ascendantes activant le prosencéphale basal (PB). Les lignes pointillées symbolisent les voies inactives au cours du SP. Adapté de Saper et al., 2010, Neuron.

La compréhension des mécanismes responsables de la régulation des états de vigilance a beaucoup évolué depuis la découverte du SP, même si de nombreux processus restent encore incompris. Les mécanismes présentés ici concernent majoritairement le rongeur, et dans une moindre mesure l'ensemble des mammifères. Le sommeil se retrouve chez la majorité des espèces animales, et l'étude des points communs entre des espèces éloignées sur le buisson phylogénétique pourrait permettre une meilleure compréhension des mécanismes responsables du sommeil, mais également des fonctions du sommeil. En effet, le sommeil se caractérise notamment par une augmentation du seuil de réponse aux stimuli environnementaux. Cela implique donc que cet état de vigilance conduit l'organisme à être exposé de manière plus importante aux dangers de l'environnement. Ainsi le sommeil pourrait sembler néfaste, mais sa présence dans la vaste majorité des espèces animales implique un avantage évolutionniste dans la survie de l'individu et suggère notamment une fonction primordiale dans les régulations métaboliques et de dépense énergétique (Schmidt, 2014). Une des fonctions importantes attribuées au sommeil pourrait être son rôle dans la régulation des émotions.

II. Les émotions

A. L'iceberg des émotions : quelle est la part du conscient et de l'inconscient ?

1. L'ours dans la forêt

L'émotion est un phénomène particulièrement difficile à définir. En effet, théories cognitives et non-cognitives s'opposent encore à ce sujet. Nous proposons la définition suivante qui sera progressivement explicitée dans les paragraphes qui suivent : l'émotion serait une réponse comportementale et physiologique brève et intense qui reflète le vécu de celui qui est affecté par un événement interne ou externe (adaptée de J Cottraux, psychiatre lyonnais). Les émotions sont des phénomènes affectifs permettant de guider le comportement d'un individu en fonction des situations environnementales, favorisant ainsi sa survie. Dans « *L'expression des émotions chez les hommes et les animaux* », Darwin souligne que les émotions sont universelles et adaptatives. Elles seraient la carotte et le bâton héritées de nos ancêtres qui nous permettraient d'éviter les situations dangereuses et de favoriser les situations profitables. D'un point de vue évolutionniste, il est tout à fait logique que les expressions émotionnelles aient été conservées dans la vaste majorité des espèces animales. En effet, les espèces actuelles sont les héritières des survivants de la sélection naturelle, qui étaient celles adoptant le comportement le plus favorable à la survie grâce aux émotions. Mais quels sont exactement ces phénomènes ? Lorsque nous parlons d'émotions dans la vie courante, nous faisons référence à la perception que nous avons de l'état mental et corporel dans lequel nous sommes. Cela peut être la joie, la peur, la tristesse, la colère ou la honte que nous ressentons de manière consciente. Certaines émotions universelles sont dites primaires et sont peut être codées génétiquement. Différents théoriciens ont proposé leur liste des émotions primaires, suivant différents critères. Le psychologue Paul Ekman a proposé une liste de six émotions primaires basées sur les expressions faciales : peur, colère, dégoût, joie, tristesse et surprise (Ekman, 1992). Un autre psychologue, Robert Plutchik, considérait que les expressions faciales n'étant pas similaires entre les espèces, d'autres critères étaient nécessaires pour définir les émotions primaires (Plutchik, 1980). Il proposa une liste incluant les six émotions primaires d'Ekman en y ajoutant l'acceptation et l'anticipation. Selon lui, les émotions « secondaires » telles que

l'anxiété sont le résultat d'une association de deux émotions primaires formant ce qu'il appelle une dyade. Il faut distinguer les émotions primaires des émotions reliées aux besoins et motivations des individus (enthousiasme, malaise...) et des émotions sociales (sympathie, honte...). Mais en psychologie le terme d'émotion fait référence à d'autres processus que les seuls sentiments dont nous sommes conscients. En effet, entre la perception de la source de l'émotion et le sentiment éprouvé se déroulent une séquence de processus que nous pouvons classer ainsi : stimulus, réponse et émotion ressentie ou sentiment. Prenons l'exemple de l'ours donné par le psychologue et philosophe William James dans son article *What is an emotion* publié dans le journal *Mind* en 1884 : lors d'une balade en forêt, vous apercevez un ours avançant vers vous (stimulus) et vous mettez à courir (réponse), apeuré (sentiment). De manière instinctive, comme on le pensait avant James, nous croyons que notre réponse de fuite vient en conséquence du sentiment de peur. Mais James propose l'inverse : c'est parce que nous nous mettons à courir que nous éprouvons de la peur. En d'autres termes, non seulement la réponse précéderait le sentiment, mais elle en serait la cause. Cette proposition se base sur l'observation que les sentiments s'accompagnent de réponses corporelles (accélération des rythmes cardiaque et respiratoire, sudation, dilatation des vaisseaux sanguins,...), et l'hypothèse que ces réponses sont spécifiques de chaque émotion. Il introduit alors le concept de rétroaction de ces réponses corporelles : la vue de l'ours provoque l'ensemble de réponses engendrant la course, et la rétroaction de ces réponses sur le cerveau lui fait reconnaître les réponses caractéristiques de la peur, provoquant ainsi le sentiment conscient de peur. Dans ce cadre, le terme d'émotion désigne l'ensemble des réponses corporelles, tandis que le sentiment de peur n'est que la perception consciente de cette émotion. Il y a ici une dissociation entre cognition et émotion : le sentiment est une pensée au sujet de l'émotion, tandis que l'émotion en elle-même est un ensemble de processus inconscients. Dans ce cas, l'émotion est uniquement ce qui permet une réponse immédiate nécessaire à la survie. Comme le dit Antonio Damasio dans son livre « *L'Erreur de Descartes* » : l'émotion est ce qui nous permet d'agir intelligemment sans avoir à penser intelligemment.

2. Le modèle de l'évaluation cognitive ou *appraisal*

Cette théorie « non cognitive » des émotions proposée par James et Lange (qui l'ont découverte simultanément) fut par la suite remise en cause, tout d'abord par Walter Cannon dans les années 1920 (Cannon, 1929). Cannon observa en effet que les réponses corporelles émotionnelles issues de l'activité de la branche sympathique (adrénergique) du système nerveux autonome (SNA), sont les mêmes quelle que soit la raison de l'activation du SNA. Il observa de plus que la cinétique d'activation du SNA était trop lente pour être la cause du sentiment. Enfin, une étude de Bard publiée quelques années plus tard montra que des chats privés de cortex présentaient un comportement agressif inapproprié, qui fut appelé « *rage factice* » (Bard and Rioch, 1937). Pour Bard et Cannon, si les émotions étaient identiques à la perception par le cerveau des réponses corporelles, la lésion des cortex sensoriels et moteurs aurait dû empêcher tout comportement émotionnel, ce qui ne fut pas leur observation. Ainsi, la rétroaction des réponses ne pouvait être la seule cause de l'émotion ressentie. En 1962, Schachter et Singer (Schachter and Singer, 1962) testèrent l'hypothèse selon laquelle l'activation du SNA induirait seulement un « éveil cognitif », et que l'émotion ressentie serait due au traitement des indices contextuels. Pour cela, ils injectèrent de l'adrénaline à des sujets humains qui a pour effet d'activer la branche sympathique du SNA. Certains sujets étaient avertis des effets que causeraient l'injection et d'autres non. Ils étaient ensuite exposés à une situation agréable ou désagréable. Leur prédiction était qu'en cas d'absence d'explication de l'effet de l'adrénaline, les sujets allaient s'appuyer sur le contexte de leur situation pour identifier l'émotion ressentie. Les résultats de Schachter et Singer montrèrent en effet qu'au sein des sujets n'ayant pas reçu d'explications, ceux exposés à une situation agréable ressentaient une émotion positive (joie), tandis que ceux exposés à une situation désagréable ressentaient une émotion négative (colère) (Schachter and Singer, 1962). Les sujets ayant été au préalable informés de l'effet de l'injection ne ressentaient pas d'émotion particulière. Ils ressentaient les effets de l'adrénaline (augmentation du rythme cardiaque par exemple) mais ne l'associaient pas à une émotion, car ils étaient conscients d'être sous l'emprise de l'injection d'adrénaline. Ces résultats de cette étude essentielle montrent que ce n'est ni la réponse corporelle seule, ni les stimuli externes seuls qui forment les sentiments, mais bien l'association d'une cause externe à un état interne. Cette étude montre que la place des sensations corporelles dans le codage de l'émotion est ambiguë et que l'interprétation donnée par le sujet quant à la valeur de l'émotion dépend du contexte établi par l'expérimentateur. L'émotion ressentie,

ou sentiment, est donc une construction mentale. Cette idée de l'importance du traitement du contexte physique et social dans la genèse des sentiments fut théorisée dans les années 1960 par Magda Arnold qui proposa le modèle de l'évaluation cognitive (traduction d'« *appraisal* ») (Arnold, 1960). Pour elle, le modèle de James présente une lacune majeure : aucun processus permettant de choisir la réponse adaptée (fuir face à un ours) n'est décrit. Or, de tels processus permettant d'informer le sujet sur la signification ou la valeur de certains événements (perception d'un danger imminent) existent. Ils permettent d'adapter la réponse aux stimuli, ou même de déclencher une réponse. Arnold définit alors le processus d'évaluation comme étant un traitement cognitif des stimuli engendrant une tendance à fuir ou, au contraire, à approcher la situation. Selon elle, c'est cette tendance à l'action qui va ensuite déterminer la réponse, puis l'émotion. Ce modèle de l'évaluation est intéressant car il permet d'expliquer l'apparition d'une réponse émotionnelle suite à un stimulus, ce qui était laissé de côté par James et Cannon. Cependant, les études examinant le modèle de l'évaluation cognitive se basent sur les rapports des sujets à la première personne et donc sur les processus dont ils sont conscients et auxquels ils ont accès par l'introspection. Or, comme nous allons le voir, les émotions sont fortement dépendantes également de mécanismes inconscients.

3. La part de l'inconscient en émotion et cognition

Le modèle de l'évaluation cognitive et l'importance du traitement conscient des stimuli dans la genèse des émotions fut par la suite remise en cause, notamment par les travaux de Zajonc dans les années 1980 (Zajonc, 1980). Dans certaines de ses expériences, il utilisait « l'effet de simple exposition » qui consiste chez le sujet à préférer des objets déjà observés une première fois à des objets nouveaux. Afin de tester l'importance du traitement inconscient du stimulus dans la genèse des émotions, il examina l'effet d'une simple exposition, mais en présentant le stimulus de manière subliminaire, c'est-à-dire trop rapide pour accéder à la conscience. Il constata alors que cet effet restait observable, montrant ainsi que la perception consciente du stimulus n'est pas nécessaire au développement du sentiment de préférence. De manière intéressante, l'effet était même plus prononcé dans le cas d'une présentation inconsciente que dans le cas d'une présentation consciente. Dans

une autre étude, Richard Lazarus, tenant majeur de la théorie de l'évaluation cognitive, avait associé chez des sujets la présentation d'une lettre avec un choc électrique (Lazarus and McCleary, 1951). Ce type de conditionnement aversif, que nous décrivons en détail plus tard, engendre par la suite une réponse du SNA à la seule présentation du stimulus conditionné (ici la lettre). Lazarus observa que la réponse du SNA se déclenchait même en cas de présentation subliminale donc inconsciente de la lettre. Il existe donc bien des mécanismes inconscients de toute première importance dans la genèse des émotions, et des cas où les émotions semblent indépendantes de la cognition. Si certaines causes de nos états émotionnels peuvent être perçues consciemment et mises à jour par l'introspection, il est désormais admis, en psychologie et en neurosciences, que cet aspect n'est que la partie émergée de l'iceberg des émotions.

Au cours de ces rappels, nous avons fait une distinction entre émotion et cognition, entre inconscient et conscient, qui mérite d'être précisée. En effet, tout processus émotionnel n'est pas inconscient et tout processus cognitif n'est pas conscient, et au cours de l'histoire de l'étude des émotions, la frontière entre cognition et émotion, si elle existe, a toujours été difficile à établir. D'après le dictionnaire d'Oxford, la cognition est « *l'action ou processus mental d'acquisition et de compréhension du savoir au travers de la pensée, de l'expérience et des sens* ». Elle englobe des processus tels que la mémoire, l'attention, la prise de décision ou le langage. Au sein de la cognition, il est possible de faire la distinction entre processus inconscients et contenu conscient. Dans la forêt de James par exemple, l'ensemble des mécanismes cérébraux permettant la perception de l'environnement (sons, odeur, vue d'un ours, etc) sont les processus inconscients permettant la formation du contenu conscient d'être dans une forêt à proximité d'un ours. Le psychologue John Kihlstrom défend l'idée selon laquelle processus conscients et inconscients peuvent dépendre des mêmes structures cérébrales, et que des processus inconscients peuvent fortement influencer le comportement et la prise de décision (Kihlstrom, 1987). Dans une étude de David Balota (Balota, 1983) une tâche d'amorçage était utilisée, dans laquelle les sujets devaient identifier si un mot « cible », présenté immédiatement après un mot « amorce », avait un sens. Dans ce paradigme, le jugement est facilité (latence de réponse plus courte) si l'amorce est « lexicalement » reliée au mot cible (exemple : grappe et raisin). Balota remarqua que cet effet facilitateur était également présent lorsque l'amorce était

présentée de manière subliminaire. Ce résultat met en évidence l'existence de processus inconscients même lors d'une tâche cognitive de haut niveau impliquant la compréhension du sens d'un mot.

L'existence de mémoires dites implicites met également en évidence l'existence de processus cognitifs inconscients. On peut définir la mémoire implicite comme une augmentation des performances lors d'une tâche sans rappel conscient de l'apprentissage, en opposition à la mémoire explicite dans laquelle l'augmentation des performances nécessite un rappel conscient (Schacter and Graf, 1986). Certains patients présentant des lésions bilatérales du lobe temporal médian et du diencephale, sont capables d'apprendre et se remémorer ultérieurement des réponses à des questions, sans se rappeler du contexte d'apprentissage, un phénomène connu sous le nom d' « amnésie de la source » (Evans and Thorn, 1966). Ce phénomène permet de mettre en évidence une dissociation entre augmentation des performances (mémoire implicite) et mémoire consciente de la cause de cette augmentation (mémoire explicite). L'ensemble de ces processus cognitifs inconscients, entre autres, forment selon Kihlstrom l'inconscient cognitif, qui se définit alors comme l'ensemble des travaux routiniers effectués par le cerveau qui se font sans atteindre la conscience. Si les traitements émotionnels et cognitifs sont majoritairement inconscients, comment déterminer alors si l'émotion n'est pas simplement une forme de cognition ? Même si la réponse à cette question peut être débattue, nous considérerons dans cette thèse les processus émotionnels et cognitifs séparément, bien qu'ils soient inévitablement reliés. En effet, certaines lésions cérébrales peuvent altérer la capacité à attribuer une valeur émotionnelle sans que la perception ou la mémoire ne soient touchées, comme nous allons le voir plus tard (Downer, 1961; Klüver and Bucy, 1936). Il arrive dans certains cas que la valence émotionnelle soit attribuée avant que les traitements perceptifs ne soient terminés et donc que l'objet ne soit entièrement identifié. C'est ce qui arrive par exemple lorsque nous esquivons ou nous nous protégeons par reflexe d'un objet arrivant dans notre direction, avant de l'avoir complètement identifié. Il faut noter également que les systèmes émotionnels sont beaucoup plus couplés avec les systèmes commandant les réponses corporelles que les systèmes cognitifs. Ce couplage important engendre obligatoirement une réponse corporelle lors de l'activation des systèmes émotionnels, ce qui n'est pas toujours le cas des systèmes cognitifs.

Par conséquent, nous nous intéresserons seulement à la partie inconsciente des processus émotionnels, pour plusieurs raisons. Tout d'abord, l'étude des sentiments conscients se fait chez l'humain principalement au travers du langage, qui permet au sujet de décrire à l'expérimentateur les émotions qu'il ressent. Il est bien évidemment impossible d'utiliser ce moyen d'étude chez les autres espèces, et les études sur l'animal se basent ainsi sur l'analyse des comportements et des marqueurs biologiques observables des émotions, tels que l'activation d'un réseau neuronal ou la libération d'hormones, qui eux ne permettent pas de conclure sur l'émotion perçue consciemment par l'animal (ou sentiment). Cependant ces processus émotionnels sont les mieux conservés au cours de l'évolution. Ainsi, si la partie consciente des émotions (sentiments) est probablement propre à chaque espèce, l'étude des processus inconscients, qui sont très conservés au cours de l'évolution, et par conséquent très similaires et maintenus au cours de celle-ci, permettra de mieux comprendre les émotions humaines. En effet, les sentiments conscients, accessibles par le langage et l'introspection, dépendent de structures apparues très récemment sur l'arbre phylogénétique. Ils ne peuvent donc être partagés par toutes les espèces. Néanmoins, nous pouvons nous poser la question de savoir quels sont les marqueurs biologiques des émotions et comment les étudier ?

B. Biologie des émotions

Il existe trois approches complémentaires pour déterminer l'état émotionnel d'un animal : 1) l'étude de l'expression comportementale de son ou ses émotions (arrêt comportemental ou vocalisations par exemple), 2) celle des marqueurs physiologiques périphériques (concentration plasmatique d'hormones de stress, augmentation et variabilité du rythme cardiaque et de la pression sanguine, réponse électrodermale, etc) et 3) l'étude de son activité cérébrale (activation des réseaux/structures corticales et sous-corticales dans le traitement des émotions).

1. A la découverte du cerveau des émotions: évolution des modèles

a) Le syndrome de Klüver-Bucy

Une des premières approches pour étudier les mécanismes cérébraux responsables de la gestion des émotions fut l'approche lésionnelle chez l'Homme et l'animal. Le raisonnement est le suivant : si la lésion d'une région du cerveau supprime l'aptitude du sujet ou de l'animal à exprimer normalement ses émotions, c'est que cette région occupe un rôle fondamental dans la gestion des émotions. Ce type d'approche a permis de mettre en évidence une distinction entre les réseaux cérébraux responsables de la perception et de la mémoire, et ceux responsables des émotions. Les premiers à observer cette distinction expérimentalement furent Heinrich Klüver et Paul Bucy (Klüver and Bucy, 1936). Ils constatèrent des comportements anormaux chez des macaques ayant subi une lésion bilatérale du lobe temporal. Ces animaux semblaient d'emblée « apprivoisés » ; ils ne présentaient jamais de réaction de colère ou de peur et s'approchaient sans hésiter de tout ce qui les entouraient (vivants ou non, mobiles ou non). De plus, ils exploraient spontanément avec la bouche plutôt qu'avec les mains. Toutes ces observations mettaient en évidence un manque de prudence, comportement normalement dicté par la peur de l'inconnu. De manière intéressante, ces animaux ne présentaient pas de déficit sensoriel ou moteur, ce qui révélait une dissociation entre les réseaux gérant ces facultés et le ou les réseaux encodant les émotions. Ils nommèrent l'effet observé « aveuglement psychique », aujourd'hui appelé également syndrome de Klüver-Bucy. Une étude plus tardive a alors montré qu'une lésion unilatérale de l'amygdale chez des macaques entraînait un syndrome de Klüver-Bucy (Downer, 1961). Dans cette étude, les singes avaient subi une lésion du corps calleux, faisceau de fibres qui permet la communication entre les deux hémisphères. Ainsi, les informations traitées par un hémisphère ne pouvaient plus être accessibles à l'autre. Une image de serpent visible uniquement par un seul œil était par la suite présentée, activant ainsi spécifiquement les structures visuelles d'un seul hémisphère. Si l'image était visible par l'hémisphère dont l'amygdale était intacte, le singe présentait normalement une réaction de peur. A l'inverse, si l'image était présentée à l'hémisphère dont l'amygdale était lésée, les singes voyaient bien l'image mais ne présentaient pas de réaction de peur. Des études plus récentes chez l'humain montrent des cas de syndrome de Klüver-Bucy, complet ou partiel en cas de dommage unilatéral du lobe temporal (qui contient l'amygdale) (Bates and Sturman, 1995; Ghika-Schmid et al., 1995).

b) Identification du réseau des émotions: circuit de Papez et système limbique

Quelques temps avant les travaux de Klüver et Bucy, la stratégie lésionnelle a permis à Bard et Cannon d'identifier chez le chat l'hypothalamus comme une région clef dans les émotions, plus particulièrement dans l'émotion de rage (Bard, 1929). Ils constatèrent qu'en l'absence d'hypothalamus, des chats ne présentaient de réaction émotionnelle qu'en cas de stimulus très intense. Ils proposèrent que l'hypothalamus envoie l'information émotionnelle au cortex *via* des fibres ascendantes, et simultanément au SNA par des fibres descendantes. Ainsi, là où James propose que ces voies sont activées en série et que l'activation des voies ascendantes est une conséquence de celle des voies descendantes, Bard et Cannon pensent que les deux processus ont lieu en parallèle. Selon eux, nous fuyons l'ours et nous sentons effrayé de manière indépendante. En 1937, James Papez réalisa une méta-analyse des connaissances sur les réseaux cérébraux responsables des émotions, et proposa le célèbre « circuit de Papez » comme réseau cérébral responsable des émotions. Il reprend l'idée de Bard et Cannon selon laquelle l'information émotionnelle est envoyée en parallèle depuis l'hypothalamus vers le cortex et vers le SNA, mais intègre d'autres structures dans son réseau, qui a pour point de départ le thalamus et possède deux voies : la voie de la pensée, responsable de la partie consciente des émotions allant directement du thalamus vers le cortex, et la voie des émotions, responsable de la partie inconsciente, du thalamus vers l'hypothalamus (figure 3). La voie de la pensée inclut les cortex sensoriels puis le cortex cingulaire, région du cortex préfrontal médian. La partie médiane du cortex, également appelée rhinencéphale ou cortex limbique, est selon l'anatomiste C. Judson Herrick plus ancienne d'un point de vue phylogénétique que les régions latérales. Son rôle important dans les processus olfactifs, et le fait que les espèces plus anciennes sur le plan phylogénétique dépendent beaucoup de leur odorat pour les comportements émotionnels tels que l'alimentation ou la reproduction, amena Herrick à lui donner un rôle important dans les processus émotionnels (Herrick, 1933). Une autre évidence d'un rôle du cortex préfrontal dans les émotions est le cas de Phineas Gage, un contremaître des chemins de fer aux Etats-Unis. En 1848, lors de la construction d'une ligne, une barre de fer lui perfore le crâne, causant de graves dommages principalement localisés au lobe frontal gauche (Ratiu

and Talos, 2004). Il survécit à la blessure mais son comportement émotionnel changea dramatiquement : de nature calme, stable et sociable, P. Gage devint irascible et changeant, ne pouvant pas garder un travail plus de quelques mois. Dans le circuit de Papez, sa lésion correspondrait à une lésion du cortex cingulaire, entraînant une altération du sentiment conscient et un déficit de contrôle de ses émotions par la voie descendante. Papez inclut également l'hippocampe (HPC) dans son réseau comme un relai entre le cortex cingulaire et l'hypothalamus. L'HPC a par la suite été montré comme primordial dans certains processus mnésiques et la navigation spatiale, rôles que nous développerons dans la suite de cette thèse.

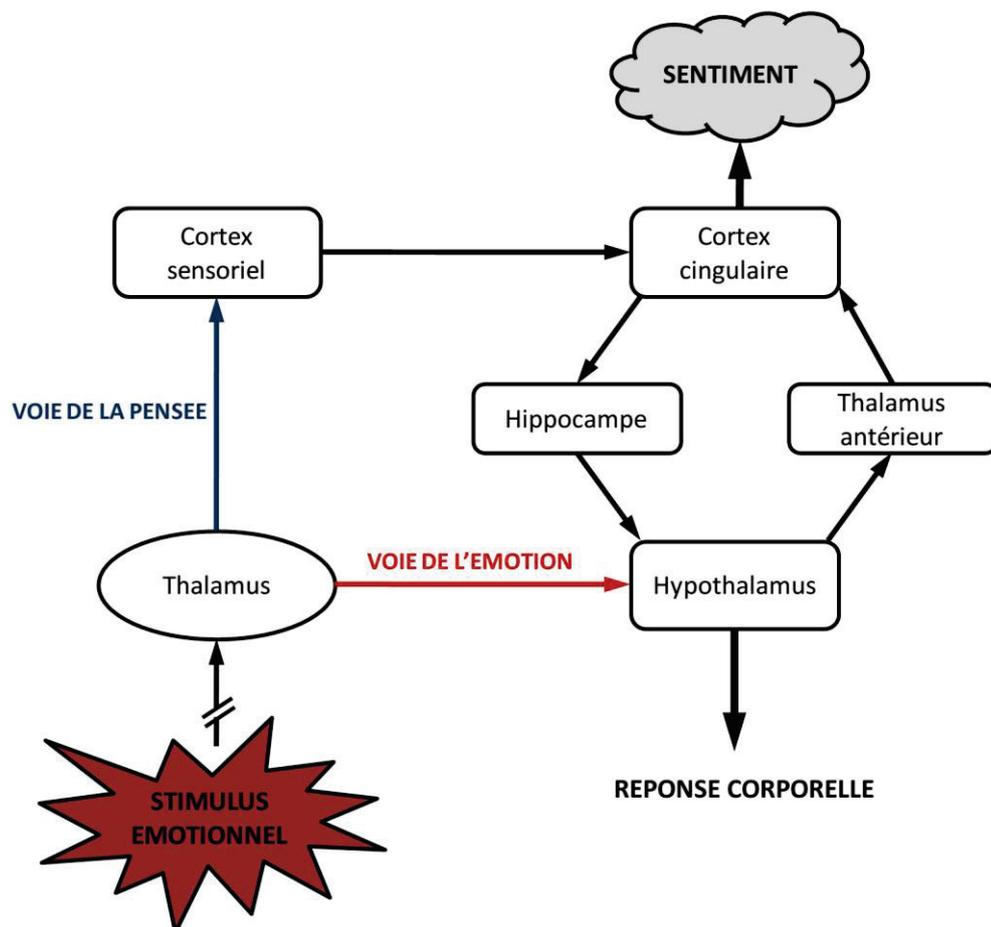


Figure 3 : Le circuit de Papez. L'information sensorielle d'un stimulus émotionnel est traitée par le thalamus, à partir duquel deux voies se détachent. La voie responsable de la réponse émotionnelle corporelle passe par l'hypothalamus et est appelée « voie de l'émotion ». La voie responsable de la perception consciente de l'émotion (sentiment), passe par des structures corticales. L'expérience émotionnelle se produit lorsque les informations sensorielles provenant des cortex sensoriels et l'information émotionnelle provenant de

l'hypothalamus sont intégrées dans le cortex cingulaire. On remarque également dans ce circuit la possibilité d'agir consciemment sur la réponse corporelle émotionnelle par la voie cortex cingulaire-hippocampe-hypothalamus. Repris de « *Le cerveau des émotions* » (LeDoux ; éditions Odile Jacob ; 2005).

Dans ce circuit apparaît le thalamus, structure que nous n'avons pas évoquée jusqu'à présent et qui est aujourd'hui mieux connue. Chez le rongeur, le thalamus peut être divisé en trois régions majeures : les noyaux sensori-moteur dans les régions latérales du thalamus, les noyaux limbiques et des noyaux intermédiaires faisant le lien entre les deux groupes de noyaux (Vertes et al., 2015). Le thalamus limbique, associé aux émotions, est composé des noyaux antérieur et médian. La partie dorsale du thalamus médian est composée des noyaux paraventriculaire (PVT) et médiadorsal (MD). Ces noyaux sont fortement connectés avec des structures impliquées dans le traitement des émotions telles que l'amygdale (Vertes and Hoover, 2008) ou le noyau accumbens, et sont par conséquent très impliqués dans les comportements émotionnels comme l'anxiété, la récompense ou la recherche de nourriture (Kirouac, 2015; Matzeu et al., 2014). Il a de plus été montré qu'ils jouent un rôle crucial dans l'expression d'une mémoire de la peur (Do-Monte et al., 2015; Li et al., 2014; Penzo et al., 2015). Les noyaux reuniens (Re) et rhomboïde forment la partie ventrale du thalamus médian. Il s'agit de noyaux associatifs qui forment la source d'afférences sous-corticales principale du cortex préfrontal médian (CPFm). Même si aucun lien direct entre thalamus et HPC n'apparaît dans le circuit de Papez, des travaux plus récents montrent qu'ils sont fortement connectés (Çavdar et al., 2008; Dolleman-Van der Weel et al., 1997; McKenna and Vertes, 2004; Su and Bentivoglio, 1990). Le thalamus serait ainsi le principal relai anatomique et fonctionnel entre l'HPC et le CPFm, notamment via le Re, dans lequel les mêmes neurones reçoivent des afférences de l'HPC et projettent vers le CPFm (Eleore et al., 2011; Varela et al., 2014). Bien que les connaissances aient progressé en de nombreux points sur le sujet, notamment sur le détail des réseaux cérébraux impliqués, ce circuit de Papez reste aujourd'hui encore une base importante dans notre compréhension des émotions. MacLean a repris les travaux de ses prédécesseurs et proposa en 1952 le concept de « *cerveau limbique* » comme cerveau des émotions, concept encore très présent de nos jours (Maclean, 1952). Pour MacLean, les régions olfactives, et notamment le rhinencéphale, sont primordiales dans le traitement des émotions. Il constate que chez les animaux plus

primitifs, le rhinencéphale est également une région motrice, expliquant la dominance de comportements affectifs. Au fil de l'évolution, les fonctions motrices sont devenues de plus en plus dépendantes des structures néocorticales, permettant ainsi un contrôle conscient sur les actions, pouvant aller à l'encontre de ce qui est dicté par le rhinencéphale. Un autre argument en faveur de l'implication de ce cortex dans les émotions est l'importance de l'association entre sensations du monde extérieur et sensations viscérales dans la genèse des sentiments. Etant donné ses connexions avec le néocortex ou avec les structures viscérales telles que l'hypothalamus, le rhinencéphale est un bon candidat pour cette fonction, comme nous pouvons l'observer dans le circuit de Papez, qui proposait le cortex cingulaire comme structure associative entre informations viscérales et extérieures. Les résultats des travaux de Klüver et Bucy qui sont intégrés par MacLean dans son modèle suggèrent que le lobe temporal est la pièce maîtresse des émotions. Dans ce modèle, l'hippocampe (HPC) est la structure centrale d'association du système limbique (figure 4). L'HPC y apparaît comme une sorte de clavier émotionnel en raison de l'organisation très ordonnée de ses cellules pyramidales (MacLean, 1949). MacLean avait en commun avec James l'idée que l'expérience émotionnelle était le fruit de l'interaction entre les informations corporelles et extérieures. L'HPC était pour lui l'interface permettant cette interaction. Son hypothèse était que l'organisation cytoarchitectonique simple de l'HPC ne lui permet pas de traiter les informations complexes telles que le langage, mais « pourrait avoir la capacité de participer à un type de symbolisme non verbal ». Il serait donc une structure associative des informations viscérales et sensorielles, informations qu'il transmettrait ensuite au néocortex pour permettre une analyse de plus haut niveau formant l'expérience émotionnelle consciente, disponible à l'introspection (figure 4). Le cerveau limbique de MacLean (originellement baptisé cerveau viscéral) comprend également les structures du circuit de Papez, auxquelles s'ajoutent le cortex préfrontal (CPF), le septum et l'amygdale (Amy).

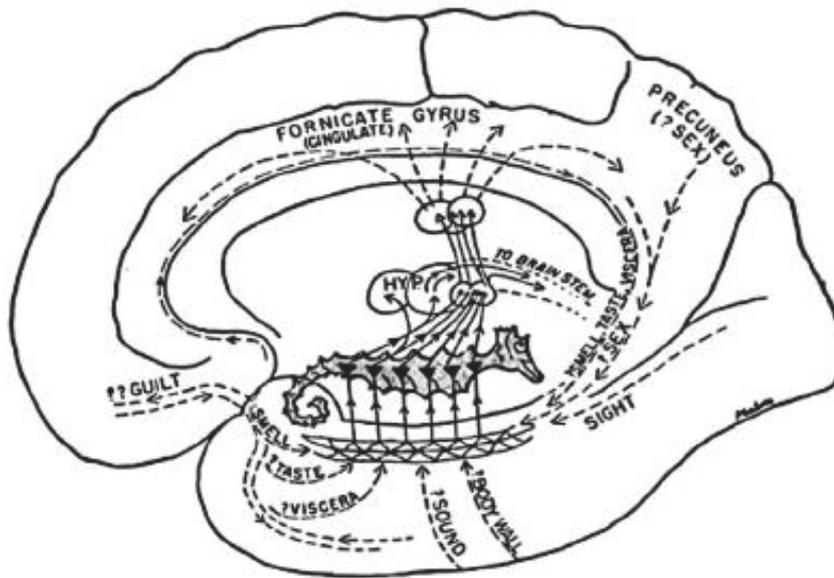


Figure 4 : Le rôle central de l'hippocampe dans le système limbique de MacLean. La pièce maîtresse du système limbique de MacLean est l'hippocampe, symbolisé ici par un hippocampe marin. Les informations externes (sensorielles) et internes (viscérales) y sont intégrées pour former l'expérience émotionnelle. L'information issue de cette intégration est ensuite transmise au néocortex pour des traitements de plus haut niveau. HYP : hypothalamus (Reproduit de MacLean, 1949, Psychosomatic Medicine)

Par la suite, MacLean introduisit le concept de cerveau triunique, prolongement de la théorie du cerveau limbique. Pour lui, le cerveau serait évolutivement divisé en trois parties : la première, plus ancienne d'un point de vue évolutif, serait le cerveau reptilien (striatum et ganglions de la base) responsable des émotions primitives telles que la peur et l'agressivité. La deuxième serait le cerveau paléomammalien, correspondant au système limbique. Enfin, le cerveau mammalien composé majoritairement du néocortex, serait plus étroitement relié à la cognition.

Malgré son importance dans l'histoire de la science des émotions et les perspectives de recherche qu'il a ouvertes, le système limbique de MacLean possède des défauts qui le rendent aujourd'hui obsolète. Premièrement, il a été montré que des structures structurellement et fonctionnellement analogues au néocortex sont présentes dans les espèces qu'il qualifiait de primitives (Glenn Northcutt and Kaas, 1995). D'autre part, certaines structures du système limbique, telles que l'HPC, semblent impliquées dans des tâches cognitives de plus haut niveau, comme notamment de nombreuses formes de mémoire (Squire, 1992; Squire et al., 2004). Enfin, l'hypothèse du système limbique, ainsi

que l'ensemble des théories présentées plus haut cherchaient à identifier un réseau unique responsable de l'ensemble des émotions. Or, s'il est possible de rassembler conceptuellement les différents comportements émotionnels, il est très possible que différents réseaux soient impliqués dans différentes émotions.

c) Plusieurs systèmes émotionnels ?

Une méta-analyse récente des données d'IRM fonctionnelle chez l'Homme suggère des patterns d'activité différents en fonction de l'émotion ressentie (Kragel and LaBar, 2016). Dans cette étude, les auteurs ont utilisé une méthode d'inférence inverse (*multivoxel pattern analysis* ou MVPA) décrite précédemment, qui permet de prédire l'état physiologique du sujet en fonction de l'activité cérébrale (Yarkoni et al., 2011). Grâce à cette méthode appliquée sur plus de 600 études, les auteurs ont identifié les patterns d'activité amygdalienne (intensité des voxels observés en signal BOLD (*Blood Oxygen Level Dependant*)) permettant de prédire les états de peur, d'excitation ou de déplaisir chez des sujets humains (figure 5). Leurs résultats montrent que si certains voxels sont activés dans les trois états, la carte d'activation globale de l'amygdale diffère selon l'état (figure 5A). De plus, l'intensité des voxels impliqués dans les trois types d'émotion n'est pas corrélée d'un état à l'autre, suggérant également une différence de pattern d'activation en fonction de l'état émotionnel, au sein même des régions communes aux différents états étudiés (figure 5B). L'activation de ces régions communes aux trois émotions ne serait donc pas un marqueur de système commun.

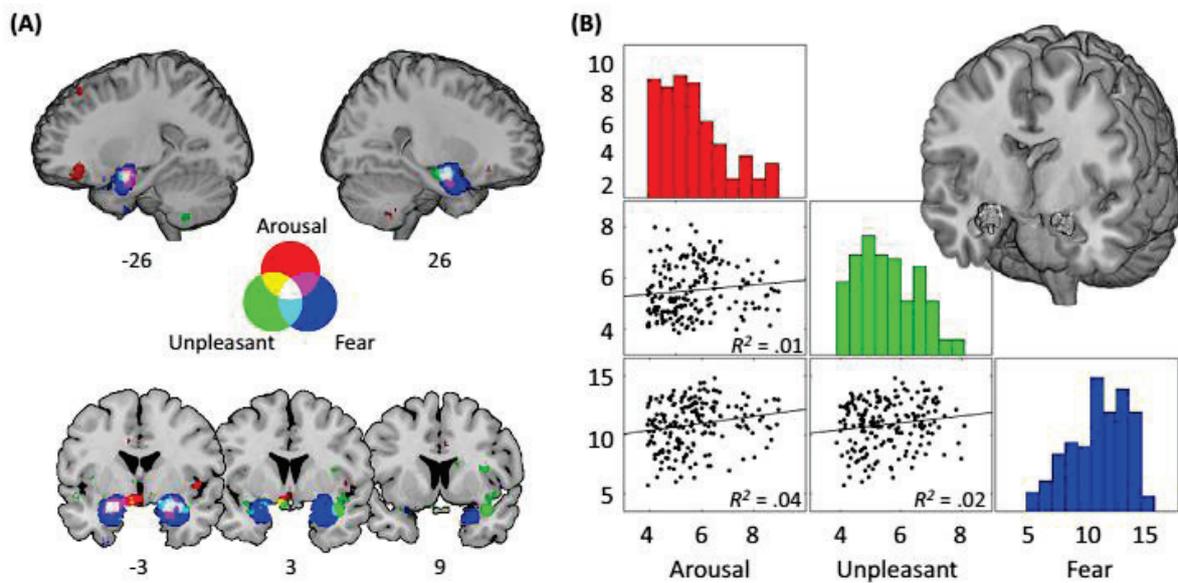


Figure 5 : Les différents profils d'activation de l'amygdale en cas de peur, d'excitation ou de déplaisir. A. Cartes d'activation de la région amygdalienne chez l'Homme issues d'une méta-analyse utilisant la méthode de *multivoxel pattern analysis* (MVPA) en fonction de l'état émotionnel de peur, d'excitation ou de déplaisir. Les couleurs représentent les z-scores en fonction de l'état et sont additives. Le blanc représente les voxels activés dans les 3 états. Malgré des régions communes activées, on remarque une carte d'activation différente pour chaque état. B. Corrélations de l'intensité d'activation des voxels blancs (activés dans les 3 états) d'un état à l'autre. Aucune corrélation significative n'est observée, suggérant un pattern d'activité de ces régions différent en fonction de l'état. Repris de Kragel et LaBar, Cell, 2016.

Une revue des résultats chez l'Homme, le singe et le rat suggère que l'amygdale est également impliquée dans les processus liés à la récompense, mais relève également que des neurones différents coderaient pour les émotions négatives et la récompense (Murray, 2007). Ces études suggèrent donc que différentes émotions sont traitées par des réseaux cérébraux distincts se superposant en partie. Cependant, les méthodes d'investigation ainsi que la classification des émotions utilisée peuvent conduire à de grandes différences dans les résultats, à l'image de la littérature concernant le cortex orbitofrontal (COF). Le COF adresse des projections réciproques à l'amygdale (Amy), région clef dans le traitement des émotions. Cette région est impliquée dans la régulation des émotions et la prise de décision liée à la récompense (Baxter et al., 2000; Izquierdo et al., 2004; Murray and Izquierdo, 2007; O'Doherty, 2007; Padoa-Schioppa and Assad, 2006, 2008) et dans la régulation des réponses affectives aux stimuli (Izquierdo et al., 2005; Kalin et al., 2007; Machado and Bachevalier, 2007). Certaines populations neuronales du COF sont activées lors de la récompense ou de

stimuli annonceurs de celle-ci (Kennerley et al., 2008; Schoenbaum et al., 1998; Thorpe et al., 1983; Tremblay and Schultz, 1999) et répondent différemment en fonction de l'intensité de la récompense (Morrison and Salzman, 2009; Wallis and Miller, 2003). Étant donné son implication dans la réponse aux stimuli affectifs, une étude a examiné si le COF joue un rôle dans la distinction entre valence positive et négative. Une étude d'IRMf chez l'Homme a mis en évidence l'activation des mêmes régions du COF et de l'amygdale lorsque de la peur, de la tristesse ou de la joie sont élicitées chez les sujets (Wilson-Mendenhall et al., 2013). L'activation du COF est également corrélée positivement à la valence de l'émotion (plus l'émotion est positive, plus le COF est activé). Tout comme dans l'étude de Kragel et LaBar, ces résultats suggèrent que bien que des régions communes soient activées pour des émotions différentes, leur *pattern* d'activité est différent en fonction de la valence de l'émotion, mais également de son intensité. Une étude électrophysiologique de l'activité unitaire de neurones du COF de macaques a montré que leur activité est modulée lors de la présentation d'un stimulus aversif, mais aussi d'un stimulus appétitif (Morrison and Salzman, 2009). Par ailleurs, deux profils de neurones se détachaient : des neurones déchargeant préférentiellement pour un stimulus appétitif (appelés neurones "positifs") et des neurones déchargeant préférentiellement pour un stimulus aversif (neurones "négatifs"). De manière intéressante, l'augmentation de la fréquence de décharge des neurones positifs était reliée à l'intensité de la récompense. D'autres études avaient suggéré auparavant que les mêmes neurones du COF codent à la fois les stimuli appétitifs et aversifs (Hosokawa et al., 2007; Thorpe et al., 1983). Ainsi, on observe également au niveau cellulaire des populations neuronales communes au traitement des informations aversives et appétitives. Cependant, l'existence de différents profils d'activation des neurones suggère que différentes émotions sont encodées de manière différente.

Les résultats actuels ne permettent donc pas d'affirmer avec certitude si différentes émotions sont ou non traitées par différents réseaux, ou si un système limbique unique prend en charge l'ensemble des émotions. Cependant, les différences d'activité neuronale observées dans les études citées nous amènent à considérer différents réseaux supportant les différentes émotions. Nous présenterons maintenant les connaissances sur les substrats neurobiologiques des deux émotions qui nous ont intéressées au cours de cette thèse : la peur et l'anxiété.

2. La peur et l'anxiété : les moteurs de la survie conservés au cours de l'évolution.

a) L'émotion primitive de survie : la peur

La peur est l'émotion principale prenant place lorsqu'un danger potentiel pour la survie ou l'intégrité physique de l'individu est détecté. Dans ce contexte elle doit être distinguée de la « peur sans objet » de certains états d'angoisse ou d'anxiété. La peur correspond à un comportement de défense qui permet une réaction automatique adaptée au danger (généralement fuite ou combat, *flight or fight*), augmentant ainsi les probabilités de survie de l'individu. Ce type de comportement a évolué indépendamment des sentiments conscients, ce qui implique qu'un animal en danger exprimant de la peur n'en est pas forcément effrayé pour autant. Encore une fois, nous nous intéresserons ici aux mécanismes inconscients permettant l'expression du comportement, et non au sentiment conscient de peur. Cette émotion est particulièrement intéressante à étudier car il s'agit d'une des émotions les plus ancestrales, présente avec des expressions similaires chez l'ensemble des animaux. Isaac Marks a catégorisé les différentes réponses comportementales de peur de la manière suivante : le retrait (fuite), l'immobilité, l'agression défensive ou la soumission (Marks, 1987). Les travaux de Caroline et Robert Blanchard ont mis en évidence des comportements très similaires chez l'Homme et le rat en cas de danger, notamment l'immobilisation caractéristique en cas de danger potentiel non localisé (D C Blanchard and Blanchard, 1988). Le fait que ces expressions comportementales soient communes entre individus mais également entre espèces nous conduit à penser qu'un codage génétique soit commun (au moins en partie) aux comportements de peur, et donc que des mécanismes neuronaux très similaires soient sous-jacents à ces processus. Une tâche comportementale bien connue pour étudier la peur chez l'Homme et l'animal est le conditionnement de peur (CP). Il s'agit d'un apprentissage associatif de type pavlovien dans lequel un stimulus originellement non émotionnel devient une source de peur chez le sujet. La seule présentation du stimulus entraînera par la suite une réponse de peur conditionnée. Nous développerons dans une autre partie les réseaux neuronaux et les mécanismes sous-jacents

à l'acquisition et la consolidation de ce type d'apprentissage, pour nous concentrer ici sur les mécanismes d'expression de la peur, notamment dans le cas d'un CP.

(1) L'amygdale comme relais cérébral principal de l'expression de peur conditionnée

L'expression de la peur implique comme nous l'avons vu ci-dessus l'activation de réseaux cérébraux et du SNA. Chez l'Homme, l'expression de peur après un CP peut s'observer notamment par la mesure de la réponse électrodermale (augmentation de la conductivité de la peau entraînée par la sudation), ou l'augmentation de la fréquence cardiaque ou respiratoire. Chez le rat et la souris, l'expression de la peur conditionnée est la plupart du temps mesurée par la quantification du comportement d'immobilisation ou *freezing*. Il s'agit d'un arrêt comportemental pendant lequel on n'observe aucun mouvement, exception faite des mouvements respiratoires. Au niveau cérébral, ce comportement est fortement dépendant de l'Amy. L'Amy est une structure du lobe temporal que MacLean intégrait au système limbique, et dont l'importance dans le traitement des émotions a été montrée notamment par les travaux sur le singe de Downer et Weiskrantz (Downer, 1961; Weiskrantz, 1956). Chez le rongeur, les travaux de Joseph LeDoux ont permis d'accroître considérablement les connaissances sur cette structure et son implication dans le CP. Les connaissances actuelles placent l'amygdale comme la région permettant l'association entre le stimulus prédictif et le stimulus émotionnel provoquant la peur, ainsi que l'expression de la peur conditionnée (Fanselow and Poulos, 2005; Goosens and Maren, 2001, 2001; Johansen et al., 2011; LeDoux, 2007, 2000; Maren, 2005). Anatomiquement, l'amygdale peut être subdivisée en sous-régions ou noyaux, distingués par des critères cytoarchitectoniques (en particulier des caractéristiques des cellules les composant - taille, forme, organisation, densité, et signature neurochimique), et par l'organisation des connexions qui leur sont afférentes et efférentes (figure 6A ; LeDoux, 2007). La division des noyaux amygdaliens présentée ici n'est pas la seule existante, et il est notamment possible de subdiviser encore les différents noyaux présentés. Néanmoins, nous utiliserons cette subdivision, qui a servi de référence pour les travaux réalisés au cours de cette thèse, en nous focalisant sur les noyaux latéral (LA), basolatéral (BLA) et central (CE).

Le LA et le BLA, pouvant être regroupés sous le terme de complexe basolatéral, sont considérés par leurs connexions comme les noyaux d'entrée de l'information, tandis que le CE serait la porte de sortie permettant l'expression comportementale et physiologique de la peur, notamment le *freezing*. Cette organisation entre noyaux d'entrée et de sortie implique une certaine hiérarchisation des connexions intrinsèques de l'Amy, des noyaux LA et BLA vers le CE. Le LA reçoit essentiellement les informations sensorielles simples par les afférences provenant des thalamus et cortex sensoriels (figure 6B ;(LeDoux, 2007)). Les informations sont ensuite transmises vers le CE, directement ou via les cellules intercalées (ITC), cellules inhibitrices GABAergiques formant l'intermédiaire principal entre le complexe basolatéral et le CE. Cette voie rapide de l'information permet une réaction rapide aux stimuli, sans filtre ou traitement conscient (Rodrigues et al., 2009). De plus le LA reçoit de faibles afférences en provenance de l'HPC et du cortex entorhinal, et projette également vers le BLA, lieu de traitement d'information plus complexe. En effet, le BLA présente de fortes connexions réciproques avec des structures de traitement de plus haut niveau, tels que les cortex associatifs polymodaux, les cortex entorhinal et préfrontal médian et l'HPC. Le BLA projette également vers le noyau accumbens, structure clef dans le système de récompense, et vers le CE, directement ou via les ITC.

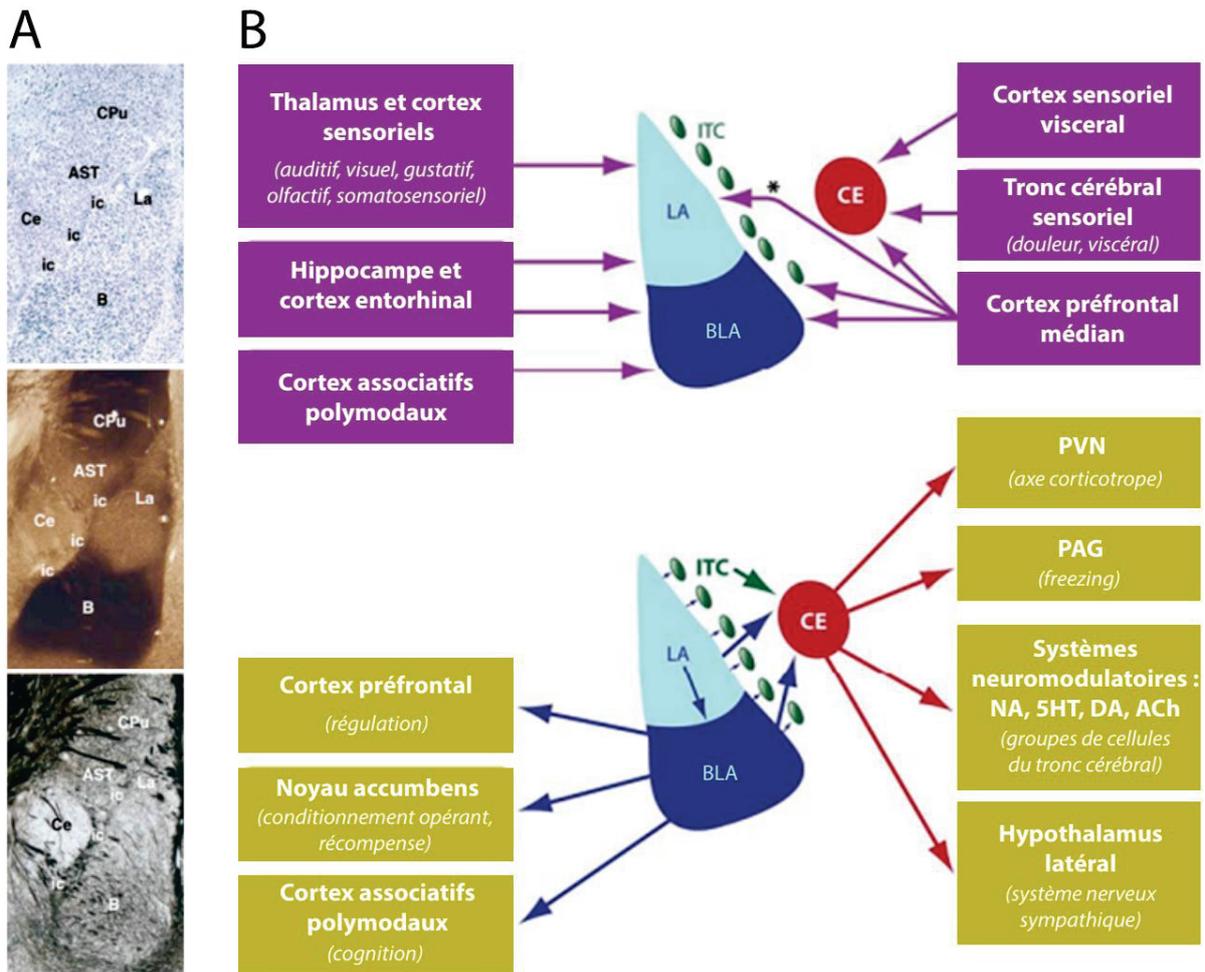


Figure 6 : Anatomie et connectivité de l’Amy chez le rongeur. A. Noyaux amygdaliens. Différentes colorations montrant les noyaux amygdaliens. De haut en bas : coloration de Nissl des corps cellulaires, révélation de l’acétylcholinestérase, coloration à l’argent des fibres. CPu : caudate putamen ; AST : transition amygdalo-striatale ; ic : cellules intercalées ; La : amygdale latérale ; Ce : amygdale centrale ; B : amygdale basolatérale. Adapté de LeDoux, 2007, Current Biology. B. Représentation schématique des projections afférentes et efférentes des différents noyaux amygdaliens. Les afférences sont représentées en haut (et les efférences et leurs fonctions en bas. ITC : cellules intercalées ; CE : amygdale centrale ; LA : amygdale latérale ; BLA : amygdale basolatérale ; PVN : noyau paraventriculaire de l’hypothalamus ; PAG : substance grise périaqueducule ; NA : noradrénaline ; 5HT : sérotonine ; DA : dopamine ; ACh : acétylcholine. Repris et modifié de Rodrigues et al., 2009, Annual Review of Neuroscience.

Le traitement des informations sensorielles se fait donc en parallèle dans le complexe basolatéral, ce qui permet au CE de recevoir des informations rapides mais relativement imprécises entraînant une réponse très rapide au danger peu élaborée, puis des informations traitées de manière plus complexe, qui permettrait une adaptation du comportement de peur si la situation l’exige. Le CE est considéré comme la voie de sortie de

l'Amy car il projette vers des régions directement impliquées dans les réponses de peur, telles que la substance grise périaqueducule (PAG) responsable du *freezing* (LeDoux et al., 1988). Il projette également vers l'hypothalamus, notamment le noyau paraventriculaire (PVN ; Gray 1989) qui permet l'activation de l'axe corticotrope que nous décrirons plus tard, vers l'hypothalamus latéral afin d'activer le SNA (LeDoux et al., 1988), et enfin vers le noyau du lit de la strie terminale impliqué dans l'expression de l'anxiété (Geng et al., 2016). Le CE est majoritairement composé de neurones GABAergiques et peut être subdivisé en deux parties : le CE médial (CEm) et le CE latéral (CEl). Le CEm est sous le contrôle d'une inhibition tonique constante de la part du CEI, et la levée de cette inhibition, notamment grâce aux afférences du complexe basolatéral, permet l'expression du *freezing* grâce à l'activation des neurones du CEm projetant vers la PAG (Cicchi 2010). Le CEI reçoit également des projections en provenance du noyau paraventriculaire du thalamus (PVT). Cette voie PVT – CEI jouerait un rôle important dans l'expression du *freezing* après un CP (Penzo, 2015).

L'amygdale, particulièrement son noyau central, est donc une région essentielle dans l'expression de l'émotion de peur conditionnée. Nous allons maintenant nous intéresser à la réponse de peur elle-même, à savoir l'expression comportementale et l'activation du SNA et de l'axe corticotrope.

(2) Expression comportementale et périphérique de la peur

Comme nous l'avons décrit ci-dessus, il existe plusieurs types de comportements défensifs adoptés en cas de peur qui peuvent être classés ainsi : fuite, soumission, agressivité et immobilité. Celui auquel nous allons nous intéresser est l'immobilité, ou *freezing*, qui est observé lors d'un CP. Il se caractérise donc par un arrêt comportemental total exception faite des mouvements respiratoires. Cette réaction d'immobilité permettrait de détecter plus rapidement la source de danger potentiel et de préparer les muscles à l'action. D'autre part, il s'agit d'une stratégie réduisant la probabilité d'être repéré par son prédateur. Dans le cas d'un CP, il s'agit de la seule réponse défensive disponible pour l'animal généralement placé dans une cage de conditionnement. En effet, aucune possibilité de fuir n'est offerte dans cet environnement, et la source du danger n'étant pas localisable,

l'animal ne peut ni l'attaquer ni s'y soumettre. Il ne peut donc que s'immobiliser et tenter de repérer une source de danger si elle se présente, afin de pouvoir y réagir de manière adaptée. Il est d'ailleurs possible que l'expérimentateur soit considéré comme une source de danger lorsqu'il sort l'animal de la cage, et que dans ce contexte l'animal choisisse l'agressivité et l'attaque. Il a été montré que ce comportement s'accompagne d'une diminution de la fréquence cardiaque (bradycardie) (Koba et al., 2016). Il avait auparavant été suggéré que le comportement de *freezing* était relié à l'activation de la PAG, tandis que les réponses du SNA étaient dues à l'activation de l'hypothalamus latéral (LeDoux et al., 1988). Cependant, les résultats récents de l'étude de Koba suggèrent que la bradycardie serait due à l'activation de la branche parasympathique du SNA (SNP) par la partie ventrolatérale de la PAG (vlPAG), et que cette structure serait donc également impliquée dans l'activation du SNA. Si les liens entre activité cérébrale et activation périphérique ne sont pas encore clairement définis, les structures impliquées dans la réaction périphérique à la peur sont en revanche bien connues.

L'axe corticotrope (ACT) est le système endocrinien majeur activé lors de la peur. Il est constitué du complexe hypothalamo-pituitaire dans le cerveau et des glandes surrénales au niveau périphérique. Lors de l'expression du *freezing*, l'activation de l'ACT est dû à l'activation du PVN par le CEm, et entraîne la libération de glucocorticoïdes par les glandes surrénales (Herman et al., 2003). Les glucocorticoïdes sont des hormones stéroïdiennes, dont les deux formes principales sont le cortisol chez l'Homme et la corticostérone chez le rongeur. Le taux plasmatique de corticostérone est régulièrement utilisé comme mesure du stress. La grande similitude entre cortisol et corticostérone, qui ne diffèrent que d'un groupement hydroxyle, suggère encore fortement une génétique des réponses de peur très conservée entre espèces. L'activité de l'ACT ne suit pas un fonctionnement binaire d'activation importante en cas de danger et d'activité nulle en l'absence de danger. Il possède une activité basale permettant de maintenir les concentrations d'hormones proches de l'homéostasie, avec des variations rythmiques dépendantes du cycle circadien. Chez le rongeur, le pic d'hormones est observé le soir, au moment du réveil, et l'heure à laquelle survient un évènement émotionnel peut donc modifier la réaction de l'animal en fonction de la concentration plasmatique de l'hormone. La libération de corticostérone est également provoquée par l'activation des glandes surrénales par la branche sympathique du SNA (SNS).

Le SNS est activé par l'action du CE sur l'hypothalamus latéral en parallèle de l'activation du PVN. Outre l'activation des surrénales, le SNS entraîne une libération de noradrénaline qui a pour effet (entre autres) de moduler le rythme cardiaque, la fréquence respiratoire, la contraction des muscles lisses et de diminuer l'activité du système digestif afin de mobiliser les ressources pour faire face au danger.

Toutes ces réactions font donc partie de la réponse émotionnelle automatique et inconsciente de la peur. Les informations viscérales sont ensuite renvoyées au cerveau par voie ascendante, en passant notamment par l'Amy, puis vers le cortex, permettant l'accès à la conscience des informations corporelles et rendant possible certains processus d'évaluation cognitive (*appraisal*). Nous allons maintenant développer les processus d'expression d'une émotion très proche de la peur sur beaucoup d'aspects : l'anxiété.

b) La peur du futur : l'anxiété

Dans le dictionnaire d'Oxford, l'anxiété est définie comme un sentiment d'inquiétude, de nervosité ou de malaise à propos de quelque chose au résultat incertain. Robert Plutchik rejoint cette position de lien entre anxiété et appréhension du futur, puisque l'anxiété serait selon lui issue de la dyade des émotions primaires de peur et d'anticipation (Plutchik, 1980). En effet, l'anxiété est proche de la peur dans le sens où chacune de ces deux émotions est une réaction à une situation potentiellement dangereuse. La différence principale réside dans la cause : la peur est induite par un stimulus externe, tandis que l'anxiété est évoquée en l'absence d'un stimulus du monde extérieur. Là où la réaction de peur a lieu lorsque le stimulus est présent, l'anxiété amène à éviter à l'avance une situation potentiellement dangereuse. Un bon exemple du lien entre anxiété et anticipation vient d'une étude réalisée chez le rat décrite en 1957 par Calvin Hall et Gardner Lindzey (Hall and Lindzey, 1957). Dans cette expérience, les rats subissaient un CP qui consistait en l'association d'un son et d'un choc électrique. Cependant, il leur était possible de fuir en sautant par-dessus une barrière, ce que les rats apprenaient à faire assez vite. De manière intéressante, il fut remarqué que les rats continuaient à sauter même en l'absence de choc, dès que le son était diffusé. Ainsi, il ne s'agissait pas d'une réponse de peur en réaction au stimulus aversif mais une

anticipation de son occurrence, c'est-à-dire une manifestation d'anxiété. Dans ce cas, il s'agit d'une anxiété apprise. En revanche, comme pour la peur, il en existe plusieurs formes dont certaines sont instinctives, comme le fait d'éviter le vide par exemple. Il est intéressant ici de noter la grande similitude entre peur conditionnée et anxiété apprise, au point qu'il est impossible de dissocier les deux dans le cas d'un CP. En effet, la réaction de peur lors du rappel d'un CP ne vient pas en réaction au stimulus aversif puisque celui-ci n'est pas délivré. Il s'agit donc bien d'une réaction émotionnelle d'anticipation de son occurrence qui peut donc également être définie comme une réaction d'anxiété. Ceci dénote à quel point ces deux émotions sont proches, notamment dans le cas où l'état d'anxiété est déclenché par une situation particulière, ce qu'on appelle l'anxiété d'état. Là où les deux émotions diffèrent de manière plus marquée est en ce qui concerne l'anxiété de trait, qui se définit comme un trait de personnalité de l'individu, et est donc plus reliée à un état émotionnel "basal" de l'individu. Comme la peur, l'anxiété n'est pas un phénomène pathologique en soi, elle est au contraire cruciale pour la survie de l'animal : mieux vaut prévenir que guérir. Mais une anxiété de trait excessive est observée dans de nombreux troubles psychiatriques, et notamment dans des cas de stress post traumatique ou dans certaines formes de dépression que nous décrirons plus tard. L'anxiété généralisée est par exemple une forme pathologique de l'anxiété de trait, qui correspond à un souci excessif pour des choses sans rapport et sur une longue période de temps. Chez le rongeur, l'anxiété de trait peut s'étudier par différents tests comportementaux faisant appel au même principe : une balance entre environnement anxiogène et comportement instinctif. Lors d'un test de double compartiment par exemple, l'environnement est divisé en deux parties : un compartiment sombre où l'animal se sent en sécurité, et un compartiment éclairé anxiogène. Le comportement instinctif pousse les rongeurs à explorer tout environnement inconnu, ce qui permet en situation normale de découvrir une source de nourriture par exemple. Ainsi, la tendance à explorer le compartiment clair s'oppose à l'anxiété provoquée par le fait d'y être "à découvert", donc vulnérable aux dangers potentiels. Il est alors possible d'observer l'anxiété de l'animal en mesurant notamment la latence d'entrée dans le compartiment clair ou le temps passé dans ce compartiment. Le même principe s'applique aux tests de labyrinthe surélevé et de champ ouvert, où les environnements anxiogènes sont respectivement les bras ouverts du labyrinthe et le centre de l'arène. Comme observé au niveau comportemental, la peur et

l'anxiété sont très similaires dans les réseaux cérébraux et les réponses périphériques impliquées.

(1) Le réseau cérébral de l'anxiété

En 1982, Jeffrey Gray proposa un modèle de la neuropsychologie de l'anxiété basé sur les effets des anxiolytiques sur les animaux (Gray, 1982). Il remarqua que les anxiolytiques (benzodiazépines, barbituriques et alcool) semblaient inhiber ce qu'il appelait un système d'inhibition comportementale (SIC ; figure 7). Ce système aurait pour fonction d'inhiber le comportement de l'animal et d'augmenter son attention ainsi que sa vigilance en cas de signal de punition, d'absence frustrante de récompense ou de stimulus nouveau. C'est ce qui peut s'observer lorsqu'un animal hésite à entrer dans le compartiment clair lors d'un test à double compartiment évoqué plus tôt : son comportement exploratoire est inhibé.

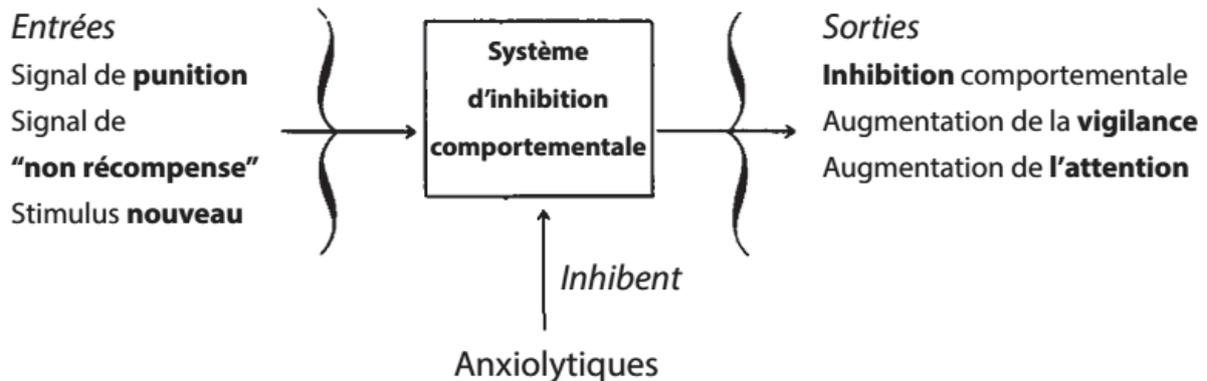
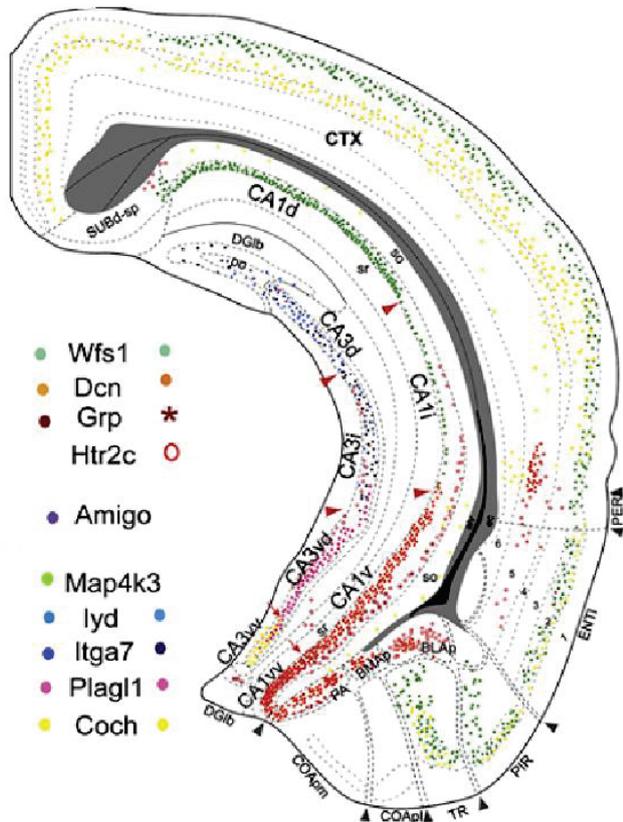


Figure 7 : Modèle de fonctionnement de l'anxiété et impact des anxiolytiques. L'anxiété serait le résultat de l'action du système d'inhibition comportementale, qui serait inhibé par certains anxiolytiques. Traduit de Gray, 1982, Behavioral Brain Science.

Gray relia ensuite les effets comportementaux de ces substances anxiolytiques à leurs effets sur l'activité cérébrale afin d'identifier les structures formant le SIC. En utilisant également des résultats d'études lésionnelles, il pointa un rôle fondamental de l'hippocampe et du septum dans cette fonction. Par la suite, de nombreuses études ont confirmé un rôle fondamental de la partie ventrale de l'hippocampe, ainsi que du CPFm et de l'amygdale dans

l'anxiété (Adhikari et al., 2010, 2015; Likhtik et al., 2013; Padilla-Coreano et al., 2016; Sladky et al., 2015), trois régions qui présentent des connexions anatomiques directes (Hoover and Vertes, 2007; Maren and Fanselow, 1995; Parent et al., 2010). Il est important ici de préciser la ségrégation anatomique et fonctionnelle faite entre la partie ventrale de l'HPC (vHPC) et sa partie dorsale (dHPC). En effet, de nombreuses fonctions ont été attribuées à l'HPC, des émotions (importance centrale dans le circuit de Papez et le cerveau limbique de MacLean) à l'apprentissage, en passant par le codage spatial. Il semblerait ainsi que le large ensemble de fonctions attribué à l'HPC soit la conséquence d'une dissociation fonctionnelle entre vHPC et dHPC. Cette dissociation fait l'objet d'une revue (Fanselow and Dong, 2010), dans laquelle les auteurs reprennent et développent l'hypothèse des Moser selon laquelle les fonctions émotionnelles seraient reliées au vHPC et les fonctions plus cognitives de mémoire et de navigation spatiale au dHPC (Moser and Moser, 1998). En effet, il a été montré chez le rat que des lésions du dHPC mais pas du vHPC altéraient la mémoire spatiale (Moser et al., 1995), tandis que des lésions du vHPC mais pas du dHPC altéraient la réponse au stress (Henke, 1990). Par ailleurs, une potentialisation à long terme des réponses dans l'amygdale (CE, LA et BLA) après stimulation électrique à haute fréquence dans la région CA1 du vHPC est observée *in vivo* chez le rat (Henke, 1990; Maren and Fanselow, 1995), soulignant une importance de cette région dans l'activité amygdalienne, et donc dans la réactivité émotionnelle. En plus de cette dissociation fonctionnelle, vHPC et dHPC présentent des différences anatomiques et moléculaires. Les différences moléculaires sont résumées sur la figure 8A. Nous décrivons les connexions anatomiques du dHPC ultérieurement pour nous concentrer ici sur les connexions du vHPC. Chez le rongeur, le vHPC présente de fortes connexions réciproques avec l'amygdale et l'hypothalamus *via* notamment l'aire CA1 et le subiculum (Cenquizca and Swanson, 2007; Kishi et al., 2000; Pitkänen et al., 2006). Plus précisément, le vHPC projette vers le BLA, le LA et le noyau basomédial (BMA) *via* l'aire CA1 et le subiculum. En ce qui concerne l'Amy, le LA projette vers l'aire CA1 du vHPC alors que le BLA projette à la fois sur les aires CA1 et CA3 (Pikkarainen et al., 1999). De plus, ces régions du vHPC et de l'amygdale possèdent des connexions réciproques avec le CPFm (Chiba, 2000; Hoover and Vertes, 2007; Thierry et al., 2000). Ces connexions sont résumées sur la figure 8B.

A



B

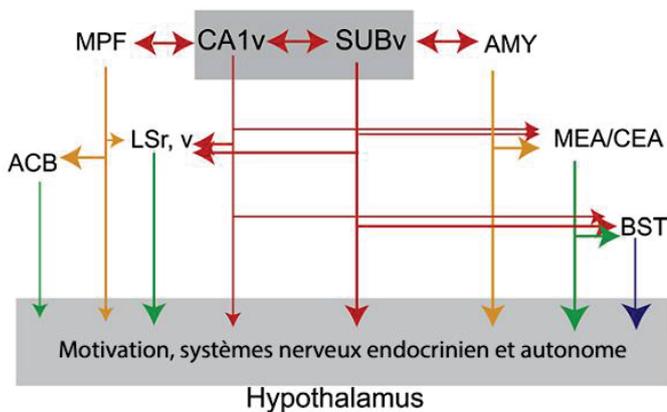


Figure 8 : Description moléculaire et anatomique de l'hippocampe ventral de rongeur. A. Distinction moléculaire des domaines dorsal et ventral. Schéma d'une coupe coronale de cerveau de souris représentant la distribution de plusieurs marqueurs génétiques sur l'axe dorso-ventral dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe. Les gènes *Wfs1* et *lyd* sont exprimés respectivement dans les régions CA1 et CA3 du domaine dorsal. Les gènes *Grp* et *Plagl1* sont exprimés respectivement dans les régions CA1 et CA3 du domaine ventral. *BLAp* : *BLA* postérieur ; *BMAp* : noyau basomédian postérieur ; *CTX* : cortex cérébral ; *ENTL* : cortex entorhinal latéral ; *PER* : cortex périrhinal ; *PIR* : cortex piriforme ; *hf* : fissure hippocampique ; *rf* : fissure rhinale. (Adapté de Fanselow & Dong, 2010, Neuron). **B. Diagramme schématisant des connexions anatomiques majeures de l'hippocampe ventral.** Le domaine ventral de l'hippocampe présente des connexions majeures avec beaucoup de régions émotionnelles. *ACB* : noyau accumbens ; *AMY* : cortex amygdalien ; *BST* : noyau du lit de la strie terminale ; *CEA* : amygdale centrale ; *LSr, v* : parties rostrale et ventrale du septum latéral ; *MPF* : cortex préfrontal médian ; *SUBv* : subiculum ventral. (Traduit de Fanselow & Dong, 2010, Neuron).

Au niveau fonctionnel, le vHPC a été relié à l'anxiété par de nombreuses études. Il a notamment été observé qu'une lésion du vHPC augmentait le nombre d'entrées dans les bras ouverts lors d'un test de labyrinthe surélevé, et diminuait les défécations ainsi que l'augmentation du taux de corticostérone plasmatique lors de l'exposition à une arène puissamment éclairée (Kjelstrup et al., 2002). Ces résultats suggèrent une diminution d'anxiété chez les animaux dont le vHPC était lésé. En lien avec ces études, les travaux récents d'Avishek Adhikari et Joshua Gordon révèlent une importance cruciale du réseau

CPFm-Amy-vHPC dans l'anxiété (Adhikari et al., 2010, 2015; Likhtik et al., 2013; Padilla-Coreano et al., 2016). En utilisant les protocoles de labyrinthe en croix et de champ ouvert chez la souris, leurs études ont révélé une augmentation de la synchronie des oscillations de rythme thêta enregistrées en potentiel de champ local entre le vHPC et le CPFm lorsque les animaux pénétraient dans les régions anxiogènes (bras ouverts et centre de l'arène) (Adhikari et al., 2010). Une critique qui peut être adressée à cette étude est que la raison pour laquelle les animaux entrent dans l'environnement anxiogène est que leur anxiété diminue, et qu'ainsi l'augmentation de synchronie serait révélatrice d'une diminution de l'anxiété. Cependant, une autre étude révèle que l'inhibition optogénétique des afférences du vHPC vers le CPFm augmentait le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe surélevé, ainsi que la distance parcourue au centre de l'arène dans le test de champ ouvert, révélant une diminution de l'anxiété (Padilla-Coreano et al., 2016). Le dialogue entre CPFm et vHPC semble donc nécessaire à l'expression de l'anxiété. Enfin, il a été montré que les connexions CPFm-Amy exerçaient un contrôle bidirectionnel sur l'expression de l'anxiété (Adhikari et al., 2015). Cette étude révèle que les afférences de la partie ventrale du CPFm vers le noyau basomédial de l'amygdale ont un rôle dans la diminution de l'anxiété. En effet, la stimulation optogénétique de cette voie entraîne une diminution de l'anxiété tandis que son inhibition entraîne une augmentation du comportement anxieux.

Ainsi, les réseaux cérébraux de la peur et de l'anxiété se superposent largement, et il est difficile dans certains cas de dissocier ces deux émotions, notamment dans le cas d'un rappel de CP. Cela semble cohérent, puisqu'il s'agit dans les deux cas d'émotions ayant pour fonction d'éviter un danger. Ces deux émotions nécessaires à la survie nécessitent néanmoins une régulation fine, afin d'éviter le développement de troubles dus à une réactivité émotionnelle excessive. De nombreux résultats suggèrent que ces régulations de la peur et de l'anxiété auraient lieu en grande partie au cours du sommeil, et notamment durant le sommeil paradoxal.

1. Régulations par le sommeil paradoxal

Comme évoqué dans la première partie, le sommeil des mammifères peut être divisé en deux stades principaux : le sommeil lent (SL) et le sommeil paradoxal (SP). Le fait que l'activité de régions cérébrales liées aux émotions (Amy, HPC et CPFm) augmente pendant les phases de SP nous laisse penser qu'une régulation des émotions existerait pendant cette phase de sommeil. En effet, des études d'imagerie chez l'Homme ont mis en évidence une activation de l'Amy, de l'HPC, du PFC et du tronc cérébral pendant les épisodes de SP (Goldstein and Walker, 2014; Maquet et al., 1996; Miyauchi et al., 2009). Chez le rongeur, ce sont les études de l'expression des gènes précoces qui ont permis de mettre en évidence de telles activations (Ribeiro et al., 1999, 2002). De plus, des études de privation de sommeil suggèrent un rôle, notamment du SP, dans la régulation de la réactivité émotionnelle (Dinges et al., 1997; Minkel et al., 2012). Enfin, des enregistrements électrophysiologiques chez l'Homme et l'animal ont montré une importance de l'activité cérébrale lors du SP, et notamment des oscillations de rythme thêta, dans la consolidation d'une mémoire à teneur émotionnelle (Boyce et al., 2016; Nishida et al., 2009; Popa et al., 2010).

a) Rôle du sommeil dans la réactivité émotionnelle

Tout le monde a pu en faire l'expérience, le manque de sommeil influence notre état émotionnel. Une restriction des quantités de sommeil de 33% pendant sept jours consécutifs entraîne par exemple des troubles de l'humeur mesurés par récits subjectifs (Dinges et al., 1997). Une réactivité émotionnelle forte avec stress et anxiété face à des situations habituellement peu stressantes a également été observée après une nuit de privation de sommeil (Minkel et al., 2012). Dans cette étude, aucune influence de la privation de sommeil concernant la réaction à un stress de plus forte intensité n'a été observée. Ce résultat suggère que la privation de sommeil cause une diminution du seuil de détection d'un stress fort. De manière intéressante, plusieurs études suggèrent l'existence d'une régulation différente des émotions positives et négatives par le sommeil. Le manque de sommeil entraînerait ainsi une exacerbation des émotions négatives par rapport aux émotions positives (Sterpenich et al., 2007; Zohar et al., 2005). Cette réactivité émotionnelle biaisée et exacerbée en cas de privation de sommeil pourrait s'expliquer au niveau cérébral par une hyperactivité amygdalienne (Motomura et al., 2013; Yoo et al., 2007). En effet, l'étude de

Yoo a montré une amplification de 60% de l'activité de l'Amy en réponse à des stimuli à valence émotionnelle négative après la privation d'une nuit de sommeil. De plus, une réduction de la connectivité fonctionnelle entre l'Amy et le CPFm était également observée dans ces études. Ce résultat pourrait expliquer l'hyperactivité amygdalienne après privation de sommeil. En effet, le CPFm est un régulateur majeur de l'activité amygdalienne (Goldstein and Walker, 2014). Chez le rongeur, il a été montré que cette fonction dépend de ses projections sur les neurones inhibiteurs de l'Amy (Likhtik, 2005). On peut donc penser que dans des conditions normales, au repos, le CPFm atténue l'activité amygdalienne ; ce qui ne serait plus le cas en cas de privation de sommeil. Associé à cette hyperactivité amygdalienne, une amplification des réponses émotionnelles du SNP, telle que la variabilité du rythme cardiaque, est observée après privation de sommeil (Sauvet et al., 2010; Zhong et al., 2005). Néanmoins, les études citées ici examinent l'effet de privations totales de sommeil, et ne permettent pas de conclure sur un rôle spécifique du SP dans la régulation des émotions. Cependant, l'activation des réseaux cérébraux des émotions spécifiquement pendant le SP, le fait que le SP soit lié à la diminution de l'activité amygdalienne lors du rappel d'expériences émotionnelles (van der Helm et al., 2011) et les caractéristiques neurochimiques particulières du SP (notamment son très faible taux de libération noradrénergique), suggèrent que celui-ci pourrait avoir un rôle de premier plan dans la régulation des émotions ayant lieu au cours du sommeil. Par ailleurs, des privations spécifiques de SP révèlent un rôle du SP dans la régulation des émotions. Chez l'Homme, le premier rapport d'influence d'une privation de SP fut établi par William Dement (Dement, 1958). Il remarqua l'émergence d'un profil comportemental complexe après privation de SP : les sujets étaient plus anxieux, et présentaient une impulsivité ainsi qu'un déficit d'attention. Chez l'animal, les résultats concernant les effets d'une privation de sommeil total ou paradoxal sont beaucoup plus variables (pour une revue des connaissances générales sur le sujet, voir Pires et al., 2015). En effet, certaines études montrent un effet anxiogène d'une privation de sommeil (Kumar and Kalonia, 2007; Nair et al., 2011; Pires et al., 2015; Silva et al., 2004), tandis que d'autres révèlent un effet anxiolytique ou pas d'effet (Pokk and Väli, 2002; Zielinski et al., 2013). Dans leur revue, Pires et Andersen spécifient que sur 41 études recensées sur l'influence d'une privation de sommeil sur l'anxiété chez le rongeur, 35% d'entre elles révèlent un effet anxiogène et 50% révèlent au contraire un effet anxiolytique. Une raison invoquée pour expliquer cette grande variabilité des études sur le rongeur est la

validité des tests comportementaux d'anxiété, à l'image du test du labyrinthe surélevé. En effet, ce test n'évalue pas uniquement l'anxiété car l'impulsivité des animaux entre également en jeu dans l'exploration des bras ouverts. Or, Dement avait remarqué une augmentation de l'impulsivité des sujets suite à une privation de SP. Ainsi, la disparité des résultats des études sur le rongeur pourrait être due au fait que les animaux présentent une amplification de l'anxiété mais également de leur impulsivité après privation de sommeil et/ou de SP. Les tests actuels ne permettraient pas de dissocier efficacement ces deux paramètres. D'autre part, plusieurs méthodes de privation de sommeil existent, et certaines peuvent être elles-mêmes très stressantes (Pokk and Väli, 2001; Rasch and Born, 2013). Le choix de la méthode de privation utilisée est donc crucial pour évaluer l'impact du sommeil dans les émotions. Cependant, si les méthodes d'investigation dans ce domaine méritent encore d'être améliorées afin de déterminer le rôle exact du sommeil dans la réactivité émotionnelle chez le rongeur, ces études révèlent indéniablement un effet des privations de sommeil sur le comportement émotionnel des animaux. Par ailleurs, les évidences d'un rôle du SP dans la gestion des émotions après un évènement émotionnel, et notamment dans la consolidation de la mémoire émotionnelle, sont nombreuses chez l'Homme et l'animal.

b) Rôle du SP dans la consolidation de la mémoire émotionnelle

Plusieurs observations indiquent un rôle du SP dans la consolidation (processus ayant lieu après l'apprentissage et renforçant la mémoire de celui-ci) d'une mémoire émotionnelle. Premièrement, une augmentation des quantités de SP est observée plusieurs heures, voire plusieurs jours, après un apprentissage émotionnel (Fishbein et al., 1974; Hennevin et al., 1974; Leconte and Hennevin, 1973; Portell-Cortés et al., 1989; Smith et al., 1974, 1977, 1980). Dans certains cas, le stress engendre au contraire une diminution des quantités de SP, s'il s'agit d'un stress plus fort (Kim and Dimsdale, 2007) et/ou inévitable (Sanford et al., 2010). En effet, l'étude de Sanford révèle une diminution des quantités de SP dans le cas d'un choc électrique inévitable, alors qu'une augmentation était observée dans le cas d'un choc évitable. Cependant, bien que révélant l'importance du type d'évènement émotionnel dans les modifications du SP, cette étude utilisait une souche particulière de

souris présentant une diminution de SP particulièrement importante après un stress. Ceci pourrait expliquer le fait que la majorité des autres études observent une augmentation de SP après un CP. De plus, le temps écoulé entre l'apprentissage et la quantification des états de vigilance est de toute première importance. En effet, les animaux ont une latence d'endormissement importante après un CP. Ainsi, on observe initialement une diminution des quantités de sommeil entre 0 et 4 heures après un CP, alors qu'une augmentation serait observée pour une fenêtre d'observation plus tardive. Une autre évidence d'un rôle du SP dans la consolidation de la mémoire émotionnelle est qu'une privation de SP après un CP entraîne une diminution des quantités de *freezing* de rats testés lors d'un rappel 24 heures après ce conditionnement (Ravassard et al., 2015, 2016). Enfin, un rôle prépondérant des oscillations de rythme thêta au cours du SP post-apprentissage dans la consolidation d'un CP a été mis en évidence par deux études chez la souris et le rat (Boyce et al., 2016; Popa et al., 2010). En effet, l'étude de Boyce révèle que l'inhibition optogénétique des oscillations de rythme thêta au cours du SP après un CP provoque une altération importante de la mémoire lors du rappel. L'étude de Popa et collaborateurs révèle également que pendant le SP post-apprentissage, la cohérence de rythme thêta (une signature de la connectivité fonctionnelle entre structures) entre le BLA et l'HPC, et le BLA et le CPFm, est corrélée positivement aux performances des rats lors du rappel d'un CP. Une limite à l'interprétation des études s'intéressant au lien entre SP et consolidation d'un CP est que ce comportement ne permet pas de dissocier la part implicite de la part explicite de la mémoire. En effet, il est possible que la diminution de réponse de peur conditionnée observée soit due à une altération de la part non émotionnelle de la mémoire et que l'animal ne reconnaisse simplement plus le stimulus conditionné. Une étude récente révèle que les modifications de SP après un stress seraient dépendantes de l'Amy, suggérant un lien fort entre le SP et la part émotionnelle de la mémoire (Wellman et al., 2014). Un indice supplémentaire de l'influence du SP sur la part émotionnelle de la mémoire pourrait venir de l'importance du SP dans les processus d'extinction d'un CP chez l'Homme et l'animal (Fu et al., 2007; Silvestri and Root, 2008; Spoormaker et al., 2012). Le processus d'extinction consiste en la répétition d'un stimulus conditionné sans le stimulus aversif, qui conduit à la disparition (« extinction ») de la réponse de peur conditionnée. Le fait que le SP joue un rôle à la fois dans la consolidation mais aussi dans l'extinction d'un CP suggère qu'il serait important dans l'attribution de la valence émotionnelle d'un stimulus, et ainsi dans la discrimination future entre stimuli aversifs et

stimuli non aversifs. Cette hypothèse est appuyée par une étude récente de CP chez l'Homme (Menz et al., 2013). Les résultats de cette étude révèlent une mauvaise discrimination entre un stimulus associé à un choc électrique (CS+) et un stimulus neutre (CS-) si les sujets n'ont pas dormi la nuit suivant le conditionnement. L'indice de discrimination utilisé ici était l'intensité de réponse de peur conditionnée (augmentation de la conductance de la peau). Dans cette étude, la différence de réponse entre présentation du CS+ et du CS- était positivement corrélée aux quantités de SP effectuées par les sujets lors de la nuit, suggérant un rôle du SP dans l'attribution de la valence émotionnelle des stimuli.

En résumé, il semblerait que le SP soit favorable au renforcement des mémoires émotionnelles puisqu'il permet de meilleures performances lors du rappel de ce type de mémoire. Ces performances sont évaluées par l'expression comportementale et physiologique de l'émotion, comme le taux de *freezing* dans le cas du CP chez le rongeur. Par ailleurs, le SP semble entraîner une diminution de la réactivité émotionnelle, c'est-à-dire une diminution de l'expression des émotions. Ces observations nous amènent donc à envisager l'existence d'un rôle paradoxal du SP : celui-ci renforcerait d'une part l'expression des mémoires à composante émotionnelle, mais diminuerait d'autre part l'intensité de cette composante émotionnelle. En effet, un processus ayant lieu au cours de la consolidation d'une mémoire émotionnelle est la diminution du tonus émotionnel à très long terme (plusieurs semaines ou mois) associé à la mémoire, observable notamment par la diminution de l'activité amygdalienne (Dolcos et al., 2005). Matthew Walker propose que cette diminution du tonus émotionnel soit dépendante du SP au travers de son hypothèse *Sleep to Forget and Sleep to Remember (SFSR)* (Goldstein and Walker, 2014; Walker and van der Helm, 2009) (figure 9).

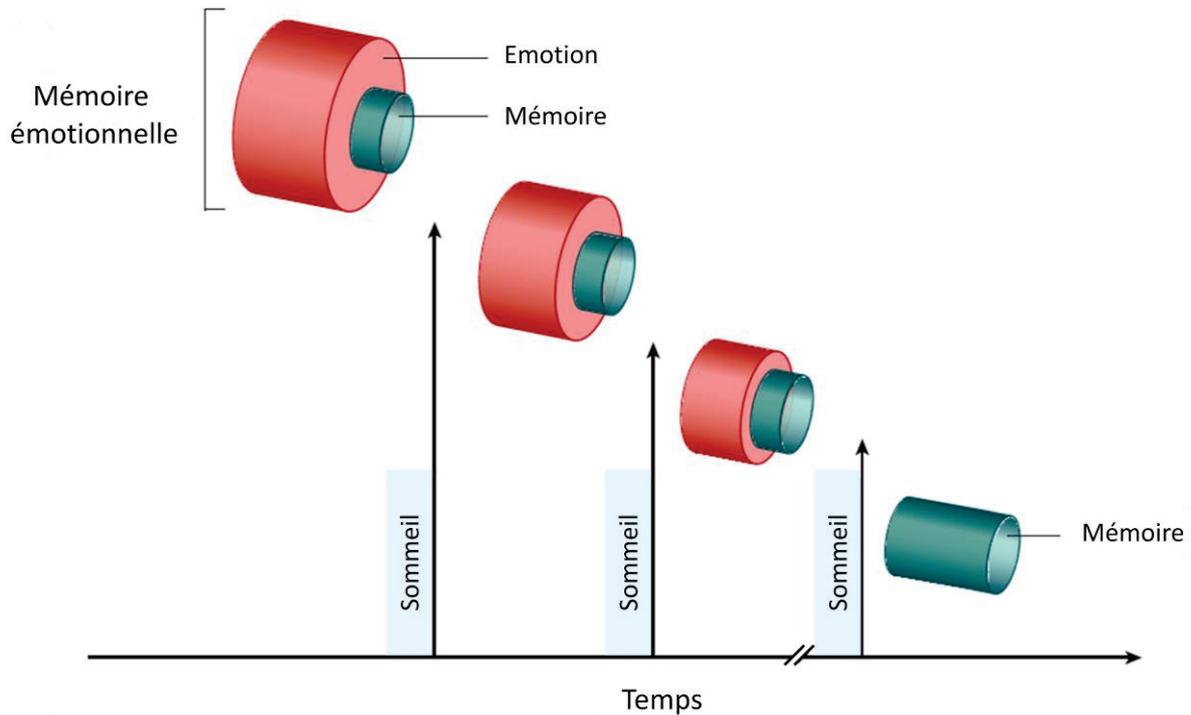


Figure 9 : Hypothèse *Sleep to Forget, Sleep to Remember*. La mémoire émotionnelle est enveloppée d'une couverture (tonus) émotionnelle, qui disparaît avec le temps. La théorie *SFSR* propose que les épisodes de SP jouent un rôle primordial dans ce processus en permettant « l'oubli » du tonus émotionnel tout en renforçant la mémoire elle-même. Traduit de Goldstein and Walker, 2014, *Annual Review of Clinical Psychology*.

Cette hypothèse propose donc que le SP ait un rôle fondamental dans la consolidation d'une mémoire émotionnelle en renforçant la part explicite/déclarative de cette mémoire (*Sleep to Remember*) tout en diminuant le tonus émotionnel qui lui est associé (*Sleep to Forget*). Une étude de l'équipe de Walker semble conforter cette hypothèse en révélant une diminution de l'activité amygdalienne liée au SP post-apprentissage lors du rappel d'une mémoire émotionnelle (van der Helm et al., 2011). Cette hypothèse se base également sur les observations cliniques qui montrent une concordance entre d'une part des troubles psychiatriques tels que le désordre de stress post-traumatique ou la dépression majeure, et d'autre part des altérations du SP. Cette hypothèse intéressante a donc beaucoup d'arguments indirects en sa faveur (rôles du SP dans : (1) la diminution de la réactivité émotionnelle, (2) la diminution de l'activité amygdalienne et (3) dans la consolidation des mémoires émotionnelles ; observations cliniques de la comorbidité de troubles de l'humeur et du SP), mais n'a pas encore été validée directement dans un cadre expérimental. S'il est

probable que le SP entraîne une diminution du tonus émotionnel dans certains cas, il est non moins probable que cette règle ne s'applique pas dans tous les cas car, comme on a pu le voir, le stress peut avoir des effets opposés sur les quantités de SP selon si celui-ci est de faible ou forte intensité (Kim and Dimsdale, 2007). Une étude récente suggère d'ailleurs que le tonus émotionnel serait préservé plutôt que réduit au cours du SP (Groch et al., 2013). Il est donc prudent d'affirmer que le rôle double du SP dans de potentiels phénomènes de consolidation et d'oubli simultanés tels que ceux proposés par l'hypothèse *SFSR* reste donc pour le moment hypothétique. En revanche, les divers travaux que nous avons mentionnés dans ce paragraphe montrent que le SP pourrait avoir une fonction avant, mais aussi après l'expérience émotionnelle. Premièrement, nous avons vu que l'état émotionnel dans lequel se trouve un individu au moment de l'expérience émotionnelle dépend des quantités de SP des heures et des jours précédents cette expérience ; celles-ci conditionneraient donc la perception émotionnelle qu'il a de l'évènement. Mais nous avons aussi vu que le SP pourrait influencer sur la consolidation de la mémoire émotionnelle, même si la fonction exacte du SP sur ce phénomène reste à définir : renforce-t-il la composante émotionnelle ou la diminue-t-il ? A-t-il un rôle dans la stabilisation de la valence émotionnelle d'un stimulus ? Ces questions restent en suspens, mais ne remettent pas en cause l'implication de SP dans ces processus. D'autre part, les mécanismes responsables de cette régulation restent encore à identifier.

(1) Régulation des émotions pendant le SP : du systémique au moléculaire

Les mécanismes de régulation des émotions dépendants du SP peuvent s'étudier à différents niveaux. Les études d'imagerie permettent une vision d'ensemble de l'activité des structures. Avec ces méthodes, l'activation de structures cérébrales centrales dans le traitement des émotions telles que l'Amy et le CPFm, ainsi que leur connectivité fonctionnelle a été mise en évidence (Maquet et al., 1996; Miyauchi et al., 2009; Nir and Tononi, 2010). La communication entre structures par leur connectivité fonctionnelle peut également être étudiée par les méthodes électrophysiologiques. De telles études ont notamment mis en évidence l'importance des oscillations de rythme thêta dans la

consolidation d'une mémoire émotionnelle chez l'animal, comme nous l'avons déjà évoqué (Popa et al., 2010), mais également chez l'Homme (Nishida et al., 2009). L'étude de Nishida montre en effet chez l'Homme une corrélation positive entre d'une part les performances lors du rappel d'une mémoire émotionnelle déclarative, et d'autre part les quantités de SP, mais aussi la puissance de l'activité thêta enregistrée dans le CPFm lors du SP qui fait suite à cet apprentissage.

Une autre signature électrophysiologique du SP chez le rongeur est la présence d'oscillations pontiques (originellement découvertes chez le chat et baptisées vagues ponto-géniculo-occipitales (PGO)). Ces évènements phasiques en provenance du tronc cérébral se dirigent notamment vers l'Amy et l'HPC et ont été montrés comme importants dans les processus de consolidation et d'extinction d'une mémoire émotionnelle (Datta and O'Malley, 2013; Datta et al., 2008). Ces vagues, et notamment celles dirigées vers l'Amy, pourraient donc jouer un rôle dans l'attribution de la valence émotionnelle d'un stimulus. L'Amy semble en effet être un lieu de plasticité synaptique au cours du SP puisque la phosphorylation de CREB ainsi que l'expression de Zif268, deux facteurs de transcription centraux dans la plasticité synaptique, semblent être favorisées par le SP dans cette structure, notamment après un apprentissage émotionnel (Datta et al., 2008; Pinho et al., 2013). Cette activation de mécanismes de plasticité, associée au fort tonus cholinergique caractéristique du SP, pourrait rendre les neurones de l'Amy, notamment les interneurons GABAergiques, sensibles aux modifications. Il a en effet été montré que l'ACh augmente *in vitro* la fréquence de décharge des neurones GABAergiques de l'Amy, notamment en direction des neurones pyramidaux (Zhu, 2005). Une autre étude suggère que cette activation des interneurons par l'ACh entraînerait une diminution globale de l'excitabilité de l'Amy (Pidoplichko et al., 2013). De plus, il a été montré au niveau comportemental que l'activation de la transmission cholinergique pouvait produire un effet antidépresseur et anxiolytique, suggérant là encore une diminution du tonus amygdalien par le neuromodulateur principal du SP (Graef et al., 2011).

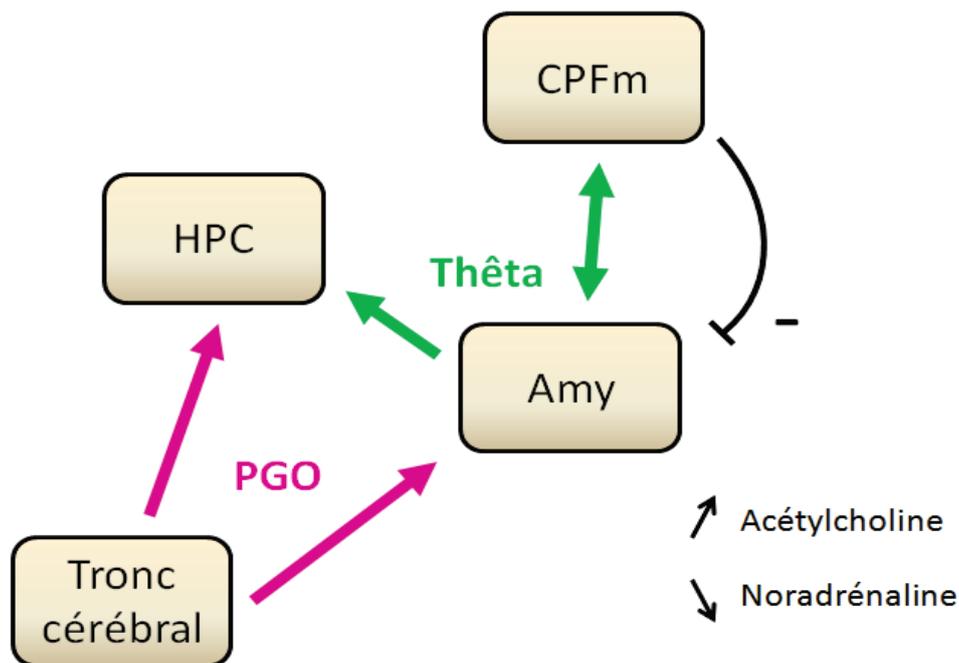


Figure 10 : Schéma de l'activité du réseau émotionnel HPC-CPFm-Amy au cours du SP. Les oscillations de rythme thêta ainsi que les vagues PGO permettraient la mise en place de mécanismes de plasticité synaptique dans les interneurons de l'amygdale. La composition particulière du milieu en neuromodulateurs, ainsi que l'inhibition par le cortex préfrontal permettraient la diminution de l'activité amygdalienne. *PGO* : vagues pontiques ; *Amy* : amygdale ; *HPC* : hippocampe ; *CPFm* : cortex préfrontal médian. Adapté de Genzel et al., 2015, *Neurobiology of Learning and Memory*.

En résumé, de nombreuses études faites chez l'Homme et l'animal révèlent une forte interaction entre émotions et SP, qui semblent se moduler l'un l'autre. Cette interaction semble être le fruit d'une réactivation des réseaux émotionnels au cours des épisodes de SP. La mise en place d'un dialogue entre structures émotionnelles grâce notamment aux oscillations de rythme thêta, ainsi que le milieu neuromodulateur particulier au SP (faible concentration en noradrénaline et forte concentration en acétylcholine) rendraient ces réseaux sensibles aux modifications apportées par des processus de plasticité synaptique. L'ensemble de ces modifications aurait pour fonction de réguler l'état émotionnel global en diminuant notamment l'activité amygdalienne et en favorisant la consolidation à long terme des aspects explicites/déclaratifs de l'expérience originellement émotionnelle. Ainsi, progressivement après récurrence des épisodes de SP, les souvenirs seraient délestés du tonus émotionnel qui leur était associé (Goldstein and Walker, 2014). Cependant, les mécanismes mis en jeu et l'influence exacte du SP sur les émotions semblent complexes,

comme suggéré par la diversité des résultats sur l'animal. Aujourd'hui, l'étude des nombreux troubles psychiatriques liés à des troubles de l'humeur et à des altérations du SP semblent être particulièrement pertinente pour mieux comprendre ces processus.

c) Régulation anormale des émotions dans les troubles psychiatriques : liens possibles avec le SP ?

Les nombreuses évidences évoquées ci-dessus d'un lien étroit entre SP et régulation des émotions suggèrent qu'un dysfonctionnement de l'un entraînerait également des atteintes de l'autre. Cette prédiction se vérifie dans nombre de troubles psychiatriques, à l'image du syndrome de stress post-traumatique (SSPT). Le SSPT est une forme pathologique de la mémoire émotionnelle faisant suite à une expérience traumatisante, et conduisant une réaction excessive de peur du sujet, en réaction à un ou des stimuli correspondant à un ou des éléments du contexte du traumatisme, mais pas nécessairement prédictifs du choc traumatique en lui-même (le bruit de moteur d'un hélicoptère pour un vétéran de guerre par exemple). Le travail de Ross et collaborateurs a suggéré un lien étroit entre SSPT et SP en soulignant notamment une augmentation des cauchemars pendant le SP, une augmentation de la densité des mouvements oculaires pendant cet état de sommeil, et une augmentation des quantités de SP associée à une diminution de la latence d'entrée en SP (Ross et al., 1989). Cependant ces atteintes du sommeil pourraient représenter au contraire un facteur de risque, une susceptibilité particulière à l'exposition à un stress. Ainsi ces résultats restent controversés notamment parce qu'il n'existe pratiquement pas d'études longitudinales dans ce domaine (Germain, 2013). Un autre trouble psychiatrique qui nous a tout particulièrement intéressés au cours de cette thèse est la dépression majeure (DM). Les patients atteints de DM présentent généralement une augmentation des quantités de SP, ainsi qu'une latence d'entrée en SP diminuée et des épisodes de SP plus longs (Armitage, 2007; Buysse, 2004; Franzen and Buysse, 2008; Gottesmann and Gottesman, 2007; Palagini et al., 2013; Tsuno et al., 2005). De manière intuitive, on peut donc se demander pourquoi ce gain de SP n'engendre pas au contraire une meilleure gestion des émotions chez les patients atteints de DM. Cependant, comme dans la plupart des phénomènes biologiques, il y a probablement un effet-dose du SP sur les émotions : la juste quantité remplit la fonction,

et une augmentation est susceptible d'entraîner des troubles tout autant qu'une diminution. Ainsi, il est possible que le faible taux de noradrénaline entraîné par l'augmentation des quantités de SP ait pour conséquence une diminution du contrôle inhibiteur du CPFm sur l'Amy (Goldstein and Walker, 2014). D'autre part, il est également possible qu'une altération de la qualité du SP chez les patients atteints de DM contribue aux atteintes de cette pathologie. Cela entraînerait comme réaction de « défense » l'organisme à compenser un SP de faible qualité en augmentant sa quantité afin de pallier à son inefficacité. Dans le cas de la DM comme dans celui du SSPT, il est difficile de déterminer le rôle du SP dans le développement de la pathologie, en l'absence d'étude longitudinale reposant sur un effectif de patients suffisants. Une difficulté supplémentaire est d'établir le moment d'apparition de la DM, qui se développe souvent progressivement. Ainsi, une première question à éclaircir est de déterminer si les modifications du SP sont une cause ou une conséquence du développement d'une DM.

C. Mécanismes pathopsychologiques des troubles de l'humeur: exemple de la dépression majeure

Environ 10% (jusqu'à 17% aux Etats-Unis) de l'humanité a connu, connaît ou connaîtra un épisode dépressif au cours de sa vie. Il existe plusieurs formes de troubles dépressifs, classés dans les troubles de l'humeur dans le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-IV, manuel de nosologie psychiatrique élaboré par l'Association Américaine de Psychiatrie). Parmi elles, le trouble dépressif majeur (dépression majeure, DM) se caractérise principalement par « une évolution clinique consistant en un ou plusieurs épisodes dépressifs majeurs [...]» (Guelfi, 2010). Un épisode dépressif majeur (EDM) est tout d'abord caractérisé par une perte d'intérêt ou de plaisir (anhédonie) pour les activités normalement plaisantes sur une période d'au moins deux semaines. L'anhédonie doit s'accompagner d'au moins quatre symptômes supplémentaires, comme d'une difficulté à prendre des décisions ou à se concentrer, des idées suicidaires ou encore des troubles du sommeil (pour une liste exhaustive voir le DSM-IV (Guelfi, 2010)). La DM est un problème majeur de santé publique car outre le mal-être provoqué chez les sujets, jusqu'à 15% des personnes atteintes meurent de suicide. En occident, la DM est la cause majeure de

mortalité chez les jeunes adultes. Malgré l'importance grandissante de développer des méthodes de soins, l'étiologie et les mécanismes cérébraux de cette maladie restent encore très méconnus, et un tiers des patients présente une résistance aux traitements antidépresseurs. Mieux comprendre la physiopathologie de la DM reste donc aujourd'hui un objectif important pour les neurosciences. Mais la compréhension de cette maladie est une tâche complexe du fait de la variabilité des troubles présentés par les sujets, ainsi que de la multiplicité apparente de ses causes. Ceci est inhérent à toute pathologie psychiatrique dont les causes sont situées entre faits biologiques et valeurs sociales. Pour comprendre la dépression, il est en effet important de considérer le contexte (en particulier sociologique) afin de séparer « un dysfonctionnement préjudiciable » d'une émotion normale de tristesse intense.

1. Causes du développement d'une dépression majeure

Malgré l'importante prévalence de cette maladie, nous ne disposons que de peu d'indices qui permettent de comprendre la transition d'un état sain vers un état dépressif. Cela est dû en partie aux multiples symptômes qui ont longtemps conduit à leur chercher une cause commune. Une vision plus récente de la DM amène à considérer une interaction entre ces différents symptômes, ou composantes, dans le développement de cette maladie. Par exemple, plutôt qu'une cause commune aux émotions négatives et aux troubles du sommeil, les deux pourraient fonctionner comme un système plus complexe et s'entraîner peu à peu l'un l'autre, créant un cercle vicieux aboutissant à un syndrome dépressif (van de Leemput et al., 2014). Au vu du nombre important de symptômes et de la spécificité de leur combinaison pour chaque sujet, il est très difficile de déterminer quelle est la cause réelle du développement d'une DM. D'autant plus que les événements de la vie des sujets et le contexte social particulier occupent une place importante dans ce trouble, ajoutant un autre niveau de variabilité inter-individuelle. Ainsi, si certains facteurs importants pouvant aboutir à une DM ont été identifiés, ils ne s'appliquent pas à l'ensemble des patients. Un de ces facteurs est constitué par le stress chronique, facteur qui peut être appliqué à l'animal par différents types de protocoles (Frisbee et al., 2015). Le stress chronique cause en effet certaines modifications comportementales et neurobiologiques similaires à celles observées

chez les sujets dépressifs (Duman and Aghajanian, 2012; McEwen, 2008). Chaque individu réagit différemment à un stimulus stressant, et il est possible qu'une combinaison entre environnement et patrimoine génétique détermine la réaction physiologique, et donc le développement d'une DM. En ce sens, des études révèlent une héritabilité de la DM d'environ 37%, ce qui révèle l'importance du facteur génétique dans la DM (Flint and Kendler, 2014). De nombreuses études cherchent à identifier des séquences génétiques augmentant la susceptibilité à la DM, mais les résultats restent pour le moment peu consistants (pour revue : Flint and Kendler, 2014).

Nous avons évoqué ci-dessus les liens entre DM et troubles du sommeil. Il a déjà été suggéré que des individus présentant des troubles du sommeil persistants sur 1 an présentaient une susceptibilité plus élevée à la DM que ceux sans troubles du sommeil (Ford and Kamerow, 1989). L'analyse de ces données révèle également que les troubles du sommeil permettent de prédire l'apparition d'une DM chez 47% des sujets en développant une DM dans l'année suivante, ce qui en faisait le symptôme à plus haut taux prédictif (Franzen and Buysse, 2008). De nombreuses études suggèrent que les troubles du sommeil précèdent le déclenchement de la DM (pour revue : Franzen and Buysse, 2008), mais il n'existe cependant pas de consensus sur la réponse à cette question. En effet, le développement d'une DM progresse souvent selon un *continuum* au cours duquel les symptômes apparaissent et s'enchaînent peu à peu, pour aboutir à un syndrome de DM (van de Leemput et al., 2014). Cependant, au vu des résultats montrant à la fois une importance capitale du sommeil dans la régulation des émotions, et la forte probabilité que des troubles du sommeil précèdent l'apparition du syndrome dépressif, il est très probable que les troubles du sommeil jouent un rôle prépondérant dans ce *continuum* en favorisant un état émotionnel instable.

2. Caractérisation neurobiologique de la dépression majeure

a) Troubles émotionnels et comorbidité avec l'anxiété

Au niveau comportemental, la DM s'observe par des altérations importantes de l'état émotionnel des sujets. En effet, en plus de l'anhédonie peuvent s'observer une tristesse

intense, une résignation importante face à l'adversité ou encore une irritabilité accrue (Guelfi, 2010). Chez les enfants et les adolescents, les sentiments d'irritabilité ou de colère sont plus proéminents que la tristesse et la résignation. Les symptômes de la DM sont généralement observés grâce au récit des sujets, mais peuvent également se déduire des expressions faciales et du comportement dans certains cas. En effet, un retrait social est généralement observé, et des troubles psychomoteurs tels qu'un ralentissement général peuvent prendre place. Il est important de préciser que ces symptômes entraînent le diagnostic d'une DM seulement s'ils ne sont pas une conséquence physiologique d'une substance telle qu'une drogue ou d'une autre maladie entraînant certains des symptômes de la DM. Par ailleurs, dans le cas où ces symptômes apparaissent après un événement traumatisant, comme la perte d'un être cher, une DM est diagnostiquée seulement si les symptômes persistent après une certaine période (deux mois dans le cas du deuil). Chez environ la moitié des sujets, les symptômes de la DM s'accompagnent d'un trouble anxieux (Aderka et al., 2012; Frewen et al., 2013; Guelfi, 2010; Sharpley et al., 2016). Il s'agit alors d'une anxiété de trait qui peut se caractériser par des attaques de panique, un souci généralisé, une anxiété sociale ou une agoraphobie. La comorbidité entre DM et anxiété est associée à une augmentation de risque de maladie cardiaque ou de tentative de suicide par rapport au cas de DM ou de trouble anxieux isolés (Sharpley et al., 2016). Il a été suggéré que l'anxiété puisse être une cause du développement d'une DM (Muris et al., 2001).

b) Modifications de l'activité cérébrale systémique

De nombreuses études d'imagerie fonctionnelle chez l'Homme ont tenté de caractériser les altérations de l'activité cérébrale chez les sujets dépressifs. L'ensemble de ces études a permis d'identifier des modifications de l'activité dans les régions préfrontale et cingulaire, quelque soit le type de dépression étudié (Baxter et al., 1989; Drevets et al., 1997; Seminowicz et al., 2004). De manière intéressante, il semblerait que la connectivité fonctionnelle entre l'amygdale et le cortex préfrontal (CPF), et notamment la région orbitale du CPF, soit altérée chez les sujets dépressifs (Drevets, 1999). Des altérations de l'activité de la région préfrontale pourraient créer une augmentation de l'activité amygdalienne par manque de contrôle inhibiteur, notamment des régions orbitale et médiale du CPF (Ghashghaei and Barbas, 2002; Likhtik, 2005). En accord avec cette hypothèse, une

diminution de l'activité du CPF ventro-médian est généralement observée chez les sujets atteints de DM ; et cette diminution d'activité serait associée à une activation aberrante de l'amygdale sans discrimination des stimuli émotionnellement négatifs ou neutres (Ritchey et al., 2011). La plupart des modifications de l'activité cérébrale observées chez les sujets dépressifs semblent revenir au niveau basal après un traitement antidépresseur, ce qui renforce l'idée d'une implication de l'activité de ces régions dans le développement des symptômes de la DM (Ritchey et al., 2011; Seminowicz et al., 2004).

Les résultats d'imagerie chez l'Homme semblent donc révéler une importance de la connectivité fonctionnelle entre régions limbiques et CPF dans les mécanismes cérébraux de la DM. Des altérations de l'activité du CPF entraîneraient un dysfonctionnement de la régulation de l'activité des régions limbiques, notamment de l'amygdale, qui provoquerait une réaction émotionnelle aberrante et inadaptée. Cette réaction corporelle émotionnelle pourrait par la suite être consolidée par des processus d'évaluation cognitive dans le néocortex, créant ainsi un cercle vicieux où les émotions négatives entretiennent l'état émotionnel négatif des sujets. Cependant les études d'imagerie montrent parfois des résultats contradictoires en fonction de la méthode utilisée (Seminowicz et al., 2004). A côté de ces études d'imagerie, de nombreuses études pharmacologiques semblent impliquer un déficit neuromodulateur majeur, et en particulier monoaminergique, au cours de la dépression. Celui-ci est d'ailleurs aujourd'hui la cible de la majorité des traitements médicamenteux donnés contre la DM.

c) Dysfonctionnements de la neuromodulation liés à la dépression : l'hypothèse monoaminergique

L'implication de la transmission monoaminergique (sérotonine, noradrénaline et dopamine) dans la DM a commencé à devenir un sujet d'étude majeur lorsque l'effet bénéfique des traitements agissant sur cette transmission a été observé. En effet, il a été observé qu'un traitement à l'imipramine, un inhibiteur des transporteurs de la noradrénaline (NA) et de la sérotonine (5-HT) qui augmente la concentration de ces monoamines dans le milieu extracellulaire, réduisait les symptômes dépressifs. Au contraire, un traitement à la réserpine, substance qui dégrade les monoamines, semblait aggraver les

symptômes de dépression (Andrews et al., 2015). Ces observations semblaient donc montrer qu'une réduction de la transmission des monoamines était liée aux symptômes de la dépression (Schildkraut, 1965). Par la suite, il a été proposé que c'est spécifiquement un déficit de transmission sérotoninergique (plus que noradrénergique) qui serait le plus impliqué dans la genèse de la DM (Coppen, 1967). Cette hypothèse a conduit à la création de traitements ciblant spécifiquement la transmission sérotoninergique, les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS), qui sont aujourd'hui encore le principal traitement donné aux sujets atteints de DM à l'image de la fluoxétine, composant principal du prozac®. Ces traitements sont efficaces mais présentent parfois d'importantes limites qui ont amené à développer d'autres thérapies. Tout d'abord, environ un tiers des patients présentent une résistance aux traitements. Deuxièmement, les effets de ces traitements prennent environ trois semaines à se mettre en place et la durée totale du traitement peut prendre des années, ce qui de plus crée une accoutumance à la substance donnée. Il est donc important de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques à effet plus rapide. Une voie de recherche ouverte récemment concerne la transmission glutamatergique.

d) L'hypothèse glutamatergique

Des études d'imagerie ainsi que l'analyse des tissus *post-mortem* révèlent une diminution du volume de certaines structures cérébrales tel que le CPF ou l'HPC chez les sujets dépressifs. Cette atrophie serait en outre associée à une atrophie des neurones pyramidaux et GABAergiques du CPF (MacQueen and Frodl, 2011; Price and Drevets, 2010; Rajkowska et al., 1999, 2007). De plus, l'observation *post-mortem* des tissus en microscopie électronique révèle une réduction du nombre de synapses dans le PFC des sujets dépressifs, diminution confirmée par la réduction de l'expression de protéines associées aux synapses comme les récepteurs au glutamate (Duman and Aghajanian, 2012; Kang et al., 2012). De manière intéressante, ces altérations du CPF (atrophie neuronale, diminution du nombre de synapses) sont également observées après un stress chronique, qui par ailleurs peut entraîner l'apparition de symptômes dépressifs telle que l'anhédonie ou l'anxiété (Li et al., 2011). Un lien étroit pourrait donc exister entre stress chronique et DM, en accord avec l'observation d'une hyper-activité de l'axe hypothalamo-adréno-pituitaire, un acteur majeur de la réponse au stress, chez près de 50% des sujets dépressifs (Duman and Aghajanian,

2012). Au niveau mécanistique, l'étude du BDNF (pour *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) est particulièrement intéressante concernant les liens entre stress chronique, DM et atrophie neuronale. Le BDNF est un facteur de croissance neuronale important dans la croissance de l'arborisation dendritique et des épines dendritiques au cours du développement du système nerveux central, mais également chez l'adulte où ce facteur joue un rôle essentiel dans la LTP (*long term potentiation* ou potentialisation synaptique à long terme) dépendante du récepteur N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA), la forme la plus fréquente de LTP dans l'hippocampe et le PFC. Le niveau d'expression du BDNF est diminué dans le PFC des sujets dépressifs ainsi que chez le rongeur après exposition à un stress chronique (Duman and Aghajanian, 2012; Duman and Voleti, 2012). De plus, un traitement chronique aux antidépresseurs augmente le niveau de BDNF dans le PFC, et les effets comportementaux des AD sont bloqués chez des souris mutantes n'exprimant pas le BDNF. Ainsi, un facteur important de la DM pourrait être la faible plasticité synaptique causée par la diminution du niveau de BDNF, et entraînant une atrophie des neurones ainsi que de leurs connexions synaptiques, en particulier dans le CPF. Un argument en faveur de cette hypothèse est l'effet bénéfique observé par des traitements aux antidépresseurs classiques (ISRS) comme la fluoxétine sur la plasticité synaptique et la densité des épines dendritiques (Duman and Aghajanian, 2012). Il a récemment été découvert qu'une dose sous-anesthésique aiguë de kétamine, antagoniste des récepteurs glutamatergiques de type NMDA, produisait un rapide effet antidépresseur et faisait revenir à la normale la densité des épines dendritiques après exposition de rongeurs à un stress chronique (figure 11). L'effet antidépresseur de la kétamine est efficace chez des sujets dépressifs présentant une résistance aux traitements classiques, ce qui en fait un outil thérapeutique très intéressant à étudier. Une augmentation rapide de la transmission glutamatergique dans le CPF est observée après traitement à la kétamine (Li et al., 2011). Toutefois, le manque de constance dans l'effet d'autres antagonistes aux récepteurs NMDA amène à considérer un mode d'action différent de la kétamine que le blocage de ces récepteurs (Newport et al., 2015; Zanos et al., 2016). En ce sens, il a été montré que l'énantiomère (S) de la kétamine, qui présente un pouvoir inhibiteur supérieur à l'énantiomère (R), a un plus faible effet antidépresseur (Zanos et al., 2016).

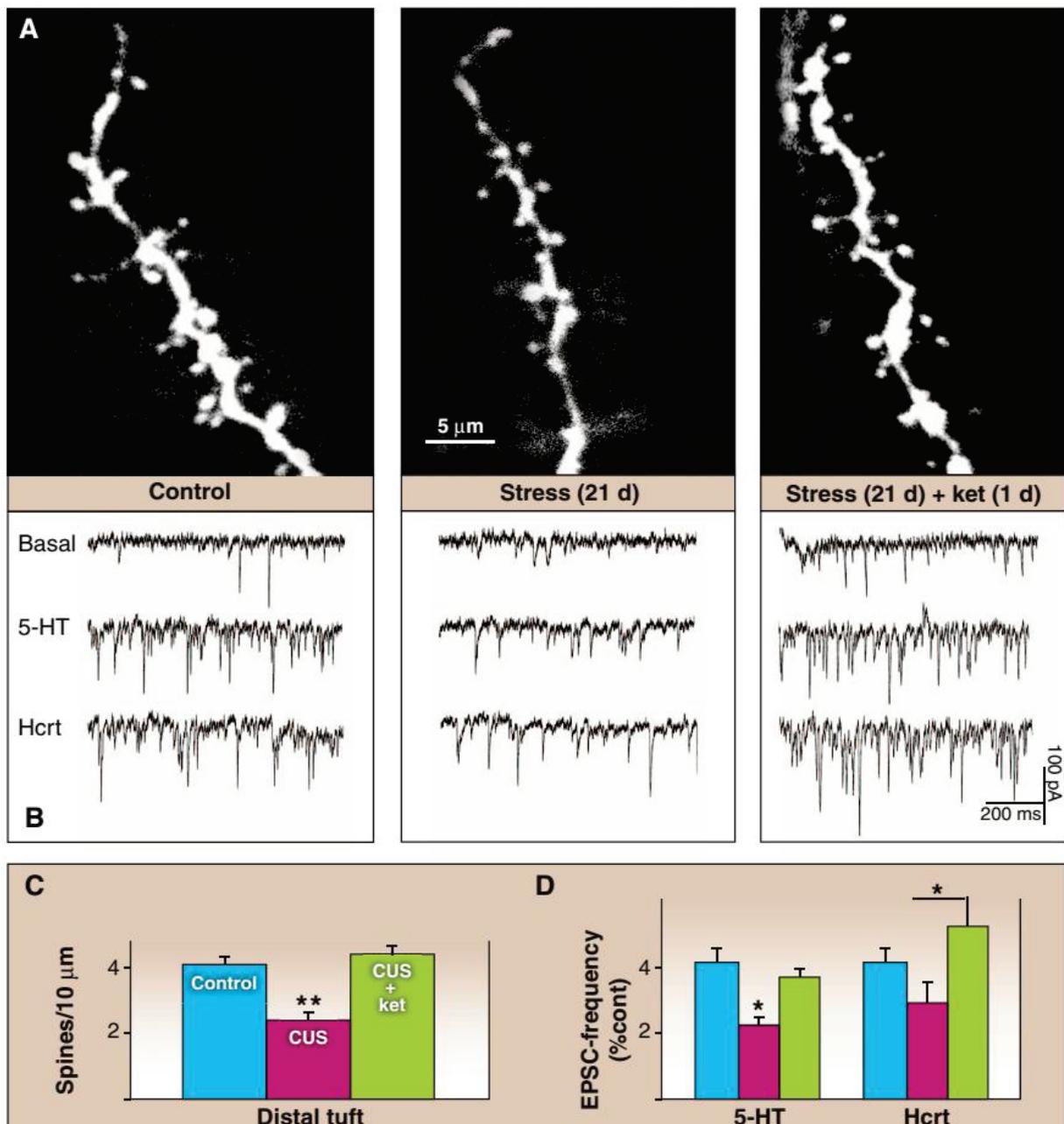


Figure 11 : Effet d'un traitement aigu à la kétamine après exposition à un stress chronique sur les neurones pyramidaux du CPFm de rat. **A**. Photomicrographies confocales de dendrites de neurones pyramidaux de la couche V du CPFm de rat montrant la densité d'épines dendritique au niveau basal (gauche), après 21 jours de stress chronique (milieu) et après traitement avec une dose de kétamine le jour suivant (droite). **B**. Enregistrements électrophysiologiques *in vitro* de neurones pyramidaux de la couche V du CPFm de rat montrant les courants post-synaptiques excitateurs (EPSC) dans les trois conditions (basal, stress chronique, traitement à la kétamine). Les tracés supérieurs représentent les EPSC spontanés, les tracés du milieu représentent les EPSC évoqués par l'application de sérotonine (5-HT) et les tracés inférieurs représentent les EPSC évoqués par l'application d'hypocrétine (orexine, Hcrt). **C-D**. Quantification de la densité d'épines dendritiques (C) et de la fréquence des EPSC (D) en condition basale (bleu), après 21 jours de stress chronique (CUS, violet) et après traitement à la kétamine (CUS + ket, vert). Repris de Duman et Aghajanian, 2012, Science.

Il a également été montré que le blocage des récepteurs AMPA par l'injection intrapéritonéale de 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfoamoylbenzo(f)quinoxaline (NBQX) bloquait l'effet antidépresseur de la kétamine (Koike et al., 2011). Il est donc possible que l'effet antidépresseur de la kétamine soit la conséquence de l'activation directe des récepteurs AMPA, ce qui pourrait expliquer son effet rapide (< 1h) sur la transmission glutamatergique. Néanmoins le mode d'action de la kétamine reste encore méconnu, et la compréhension des voies de signalisation impliquées pourrait aider à comprendre les mécanismes de la DM et à découvrir un traitement à action rapide. Un moyen de disséquer ces mécanismes passe par l'utilisation de modèles animaux de DM.

e) Les modèles animaux comme moyen d'étude : exemple de la lignée H/Rouen

Les maladies psychiatriques, et notamment la DM, sont des troubles complexes qui nécessitent l'utilisation de différentes approches afin d'en comprendre les mécanismes. Une de ces approches fait appel à l'utilisation de modèles animaux permettant la dissection des processus cellulaires et moléculaires responsables de ces maladies, processus qui ne peuvent être étudiés chez l'Homme. En effet, comme chez l'Homme, un comportement dépressif peut être observé chez l'animal (McKinney and Bunney, 1969). Afin d'être validé comme modèle de DM, un modèle animal doit passer différents critères de validation. Premièrement, la symptomatologie de l'animal doit être « raisonnablement » analogue à celle de la DM chez l'Homme : anhédonie, résignation et perturbation du sommeil peuvent ainsi être observées chez ces modèles animaux de la dépression. Deuxièmement, ces modifications comportementales, en particulier la résignation, doivent être améliorées par les traitements qui sont efficaces chez le patient dépressif chez l'Homme. Enfin, le modèle animal doit être bien entendu reproductible dans d'autres laboratoires (Cryan and Holmes, 2005). Suivant ces principes, plusieurs modèles de dépression chez le rongeur ont vu le jour. Certains de ces modèles se basent sur des critères environnementaux, à l'image de la résignation apprise (Landgraf et al., 2015). Comme nous l'avons dit, la résignation est un symptôme cardinal de la dépression. La procédure de résignation apprise consiste à exposer

l'animal à de nombreux stimuli aversifs (généralement des chocs électriques) non prédictibles et non évitables. Les animaux soumis à cette procédure peuvent ainsi développer le symptôme de résignation, qui est dite « apprise » car acquise au cours de la vie de l'animal. Cette résignation se manifeste par l'absence de tentative d'évasion lorsque l'animal est ré-exposé au stimulus aversif avec possibilité de s'en extraire. Seule une partie des animaux développe une résignation suite à cette procédure, ce qui met en évidence l'importance des facteurs génétiques dans le développement de ce trouble. En effet, différents modèles génétiques de dépression existent également (Elyacoubi and Vaugeois, 2007). Parmi ces modèles, la lignée H/Rouen (pour *Helpless/Rouen*) est issue de croisements successifs entre individus les plus résignés de chaque génération d'une population de souris CD-1. Dans ce modèle, la résignation est évaluée par le test de suspension par la queue, un test notamment utilisé comme premier filtre pour sélectionner les substances à effet antidépresseur potentiel (Vaugeois et al., 1997). Dans ce test en effet, le paramètre mesuré est l'immobilité : plus la souris est immobile, plus elle est considérée comme résignée. Les souris de chaque génération présentant une durée d'immobilité supérieure à 115 secondes sur 6 minutes de test ont été croisées entre elles afin d'aboutir à la lignée H/Rouen présentant un phénotype résigné (El Yacoubi et al., 2003; Elyacoubi and Vaugeois, 2007; Popa et al., 2006). Une lignée de souris « contrôles » naturellement non résignées, les souris NH/Rouen (pour *non-helpless/Rouen*), a été générée en croisant entre eux les individus présentant un taux d'immobilité inférieur à 35 secondes. La symptomatologie des souris H/Rouen révèle que ces animaux présentent également une anhédonie mesurée par le test de préférence au sucrose, ainsi qu'une anxiété élevée mesurée par les tests du double compartiment et du labyrinthe surélevé (El Yacoubi et al., 2003, 2013; Elyacoubi and Vaugeois, 2007). D'autre part, une altération des transmissions noradrénergique et sérotoninergique a été observée, ainsi qu'un taux de corticostérone plasmatique élevé (El Yacoubi et al., 2003). Enfin, ces souris présentent des altérations du sommeil similaires à celles observées chez les sujets dépressifs, comme une fragmentation plus importante du sommeil et une pression de SP augmentée (diminution de la latence d'entrée en SP et augmentation des quantités de SP) (El Yacoubi et al., 2003; Popa et al., 2006). Le traitement chronique à la fluoxétine, un antidépresseur inhibant la recapture de la sérotonine, permet de faire disparaître les symptômes comportementaux ainsi que de rétablir la transmission sérotoninergique chez ces souris (El Yacoubi et al., 2003). Ces résultats ont donc permis de

valider la lignée H/Rouen comme modèle murin de la dépression, faisant de cette souris un modèle intéressant pour la compréhension des mécanismes génétiques et neurobiologiques responsables de cette maladie.

Nous nous sommes jusqu'à maintenant intéressés aux mécanismes émotionnels en évoquant notamment les mécanismes liés à la mémoire émotionnelle. Emotions et mémoire sont en effet étroitement liées, car les émotions ont une importante fonction de renforcement de la mémoire (Buchanan and Lovallo, 2001; Cahill and McGaugh, 1995; Heuer and Reisberg, 1990). Nous avons cependant voulu faire la distinction entre ces deux domaines car la thématique centrale de cette thèse s'intéresse aux liens entre SP et émotions, et la mémoire émotionnelle n'est que l'un des nombreux aspects du domaine de l'étude des émotions. Il s'agit néanmoins de processus nous ayant particulièrement intéressés au cours de cette thèse, que nous allons donc présenter dans le prochain chapitre.

III. La mémoire

A. Définition et classification de la mémoire

La mémoire peut se définir comme la capacité à acquérir et conserver des informations afin de les restituer ultérieurement. Les modifications engendrées par un apprentissage permettent d'adapter son comportement aux situations en fonction de son expérience passée. Il est aujourd'hui admis que de multiples formes de mémoires existent, sous-tendues par de multiples substrats neurobiologiques. Les différentes formes de mémoire peuvent ainsi être classifiées, même si la limite entre deux catégories de mémoire est souvent floue. Une première distinction qui peut être faite est celle entre mémoire déclarative et mémoire non déclarative (Squire and Zola, 1996). Ces deux formes de mémoires correspondent respectivement à la mémoire explicite et à la mémoire implicite définies par Schachter et Singer (Schachter and Singer, 1962). La mémoire déclarative peut être définie comme la mémoire consciente et verbalisable de faits (concepts) ou d'évènements, accessible par l'introspection. La mémoire déclarative peut ainsi être

subdivisée en deux sous catégories : d'une part en mémoire épisodique, définie comme la mémoire autobiographique des événements de la vie de l'individu, et d'autre part en mémoire sémantique, regroupant les connaissances générales non liées à des événements spécifiques (figure 12) (Tulving, 1987). La mémoire non déclarative regroupe la mémoire procédurale (motrice), les apprentissages associatifs, le processus d'amorçage, impliqué notamment dans l'effet de simple exposition utilisé par Zajonc que nous avons décrit dans le chapitre sur les émotions, et enfin des apprentissages non associatifs faisant intervenir les voies réflexes.

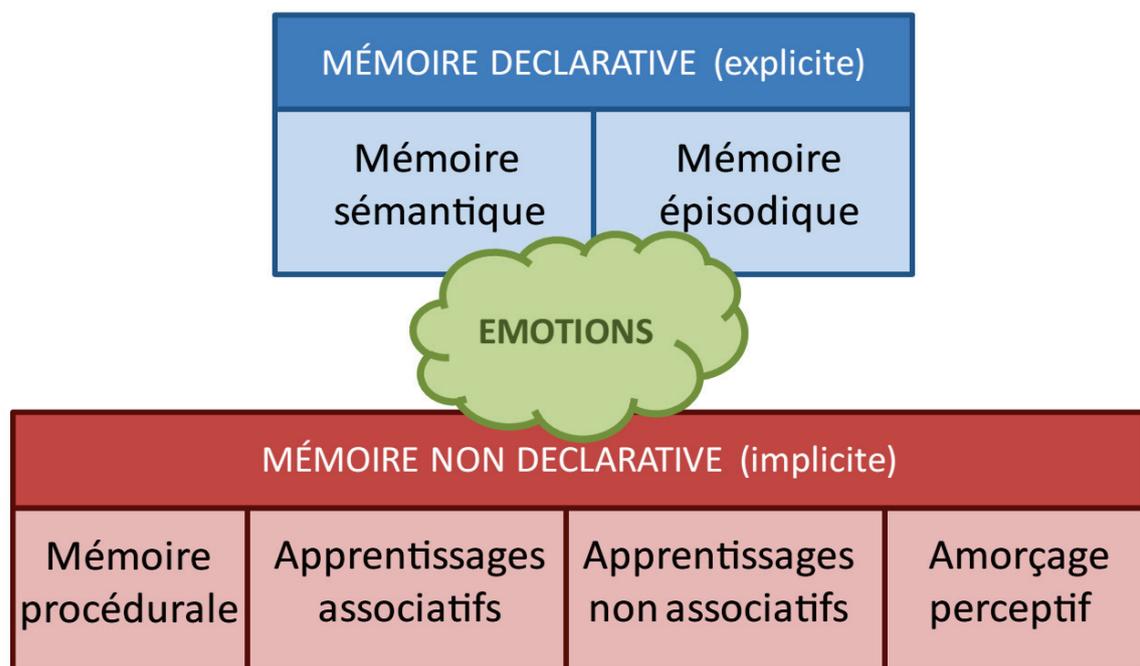


Figure 12 : Classification des différents types de mémoire. La mémoire déclarative ou explicite regroupe les formes conscientes de mémoire. La mémoire non déclarative ou implicite regroupe les formes non conscientes de mémoire. Les émotions n'appartiennent pas à l'une ou l'autre de ces catégories mais forment un facteur pouvant influencer toutes les formes de mémoire.

Cette classification des mémoires proposée par Squire est principalement basée sur les observations de cas cliniques de sujets ayant subi des lésions de certaines régions cérébrales. Le plus célèbre de ces patients est Henry Molaison, plus connu par ses initiales : HM. HM était un patient américain ayant subi en 1957 une ablation bilatérale d'une partie du lobe temporal médian (LTM) dans le but de guérir son épilepsie. L'opération fut un succès mais il était devenu incapable de former de nouvelles mémoires déclaratives. Il était

toutefois capable d'apprendre des tâches motrices, mais ne gardait aucun souvenir explicite des sessions d'apprentissage qui lui avaient permis d'acquiescer ces tâches. Ces observations montraient donc que différentes régions cérébrales pouvaient être impliquées dans différents types de mémoire. L'implication du LTM, et plus particulièrement de l'HPC qui en fait partie, dans la mémoire déclarative, et notamment épisodique, fut ensuite démontrée chez l'Homme par plusieurs études (Cohen and Squire, 1980; Eichenbaum, 2004; Squire et al., 1990). Chez le rongeur en revanche, l'étude de la mémoire déclarative semble *a priori* impossible à aborder car elle fait intervenir la verbalisation des souvenirs par les sujets, mais également la conscience, or l'étude de la conscience animale est actuellement non envisageable. Cependant, il est intéressant de noter que la majorité des événements entraînent la formation d'une mémoire composite. En effet, si nous reprenons le cas de l'apprentissage moteur d'HM, on a pu voir que la composante procédurale de cette mémoire semblait intacte tandis que sa composante déclarative ne pouvait se former. Un autre bon exemple de mémoire composite est la mémoire émotionnelle.

Des liens étroits existent entre émotions et mémoire, car les deux partagent une fonction d'adaptation du comportement en fonction des expériences passées. Antonio Damasio soutient, dans son livre *Spinoza avait raison*, que toutes les mémoires sont émotionnelles, et que seule l'intensité de l'émotion change. Qu'il s'agisse d'une vérité absolue est discutable, mais c'est au moins le cas des tests comportementaux réalisés chez l'animal qui contiennent forcément une composante émotionnelle, qu'elle soit appétitive ou aversive. De manière générale, il a été montré que les émotions renforcent un apprentissage (Buchanan and Lovallo, 2001; Cahill and McGaugh, 1995; Heuer and Reisberg, 1990). La formation d'une mémoire émotionnelle nécessite l'interaction des réseaux cérébraux mnésique et émotionnel, dont l'identité peut varier en fonction du type de mémoire et de l'émotion. Un moyen très utilisé pour étudier la mémoire émotionnelle chez l'Homme et l'animal est le CP, dont nous avons déjà évoqué l'importance dans l'étude des émotions. En tant qu'apprentissage émotionnel, l'étude du CP se situe à cheval entre le domaine des émotions et celui de la mémoire. Dans le chapitre précédent, nous nous sommes intéressés aux mécanismes émotionnels d'expression de la peur liés au CP. Nous allons maintenant présenter les mécanismes mnésiques associés au CP, et notamment les réseaux cérébraux responsables de l'association entre SC et SI.

B. L'apprentissage associatif de conditionnement à la peur

1. Définition

On appelle associatif un type d'apprentissage dans lequel un stimulus originellement neutre émotionnellement, appelé stimulus conditionnel (SC), est associé à un stimulus provoquant naturellement une ou plusieurs réaction(s) émotionnelle(s) particulière(s), appelé stimulus inconditionnel (SI). L'association du SC et du SI au cours de la phase d'apprentissage par leur présentation contingente entraîne par la suite une réponse conditionnée lors de la présentation du SC seul. Il existe des formes aversives et des formes appétitives d'apprentissage aversif, à l'image de la première mise en évidence de ce type de conditionnement chez le chien de Pavlov à la fin du XIX^{ème} siècle. Dans son expérience, Ivan Pavlov associait le son d'une cloche (SC) à la présentation de nourriture (SI). Ses résultats montraient qu'après plusieurs présentations contingentes du SC et du SI, le SC seul provoque la salivation de l'animal. Le CP est donc un type particulier d'apprentissage associatif dans lequel la réaction émotionnelle évoquée est la peur. La nature des stimuli associés peut varier, donnant naissance à de nombreuses formes de CP, traités par des réseaux neuronaux différents. Le SI le plus généralement utilisé est un ou plusieurs choc(s) électrique(s), mais peut également être un souffle d'air sur l'œil de l'animal (Furlong et al., 2014; Pine et al., 2001; Sánchez, 2003), ou encore une odeur de prédateur (Wang et al., 2013). L'intensité du SI peut également être modulée, par exemple en augmentant le nombre de chocs électriques et/ou leur intensité. De telles modulations peuvent conduire à l'apparition d'un syndrome de stress post traumatique si le SI délivré est de très forte intensité. De manière intéressante, un conditionnement utilisant un SI de faible intensité ne provoquant pas de syndrome de stress post traumatique en temps normal peut induire un syndrome de stress post traumatique si l'hormone de stress corticostérone est injectée dans le cerveau de l'animal lors du conditionnement (Kaouane et al., 2012). Ce résultat met encore en évidence l'importance de l'intensité du SI dans la réponse corporelle de peur (libération d'hormones de stress), et par conséquent sur son influence dans les modifications des réseaux cérébraux mises en place lors du conditionnement. Les deux variantes principales de CP sont le

conditionnement indicé (C*P*i), dans lequel le SC est saillant et ne dépend que d'une modalité sensorielle (son, odeur, stimulus visuel ou tactile), et le conditionnement contextuel (C*P*c), dans lequel le SC est le contexte de conditionnement et ne dépend donc pas d'une modalité sensorielle en particulier. Le C*P*c est plus complexe par nature, car il dépend non seulement des différents indices visuels, tactiles, olfactifs ou autres composant le contexte, mais également des séquences d'action entourant le conditionnement (arrivée de l'expérimentateur, changement de cage, sortie de l'animalerie, etc...), impliquant un traitement cérébral d'association de ces paramètres, de plus haut niveau cognitif que le traitement d'un simple indice sensoriel. En effet, les réseaux neuronaux impliqués dans le traitement de l'information liée au SC diffèrent entre ces deux types de conditionnement. Il est important de noter qu'un C*P*i comportera forcément une composante contextuelle, et qu'il est primordial de tester la mémoire du SC dans un contexte différent de celui de conditionnement. De manière intéressante, la présence ou non d'un SC saillant explicitement associé au SI lors d'un CP, tel qu'un son, induit des différences de traitement dans l'association contexte-SI (Phillips and LeDoux, 1994). En effet, lors d'un C*P*i, le contexte n'est pas directement prédictif du SI mais plutôt annonciateur de l'occurrence probable du SC, et on nomme ce type d'association contexte-SI un C*P*c « d'arrière-plan » (*background*). A l'inverse, en l'absence d'une association SC saillant-SI, le contexte est le seul indice prédictif du SI et on nomme ce type de conditionnement un C*P*c « de premier plan » (*foreground*). Ces différences impliquent également des différences dans les réseaux neuronaux en charge du traitement de l'information, notamment au niveau de l'implication de l'hippocampe, comme nous le verrons plus tard.

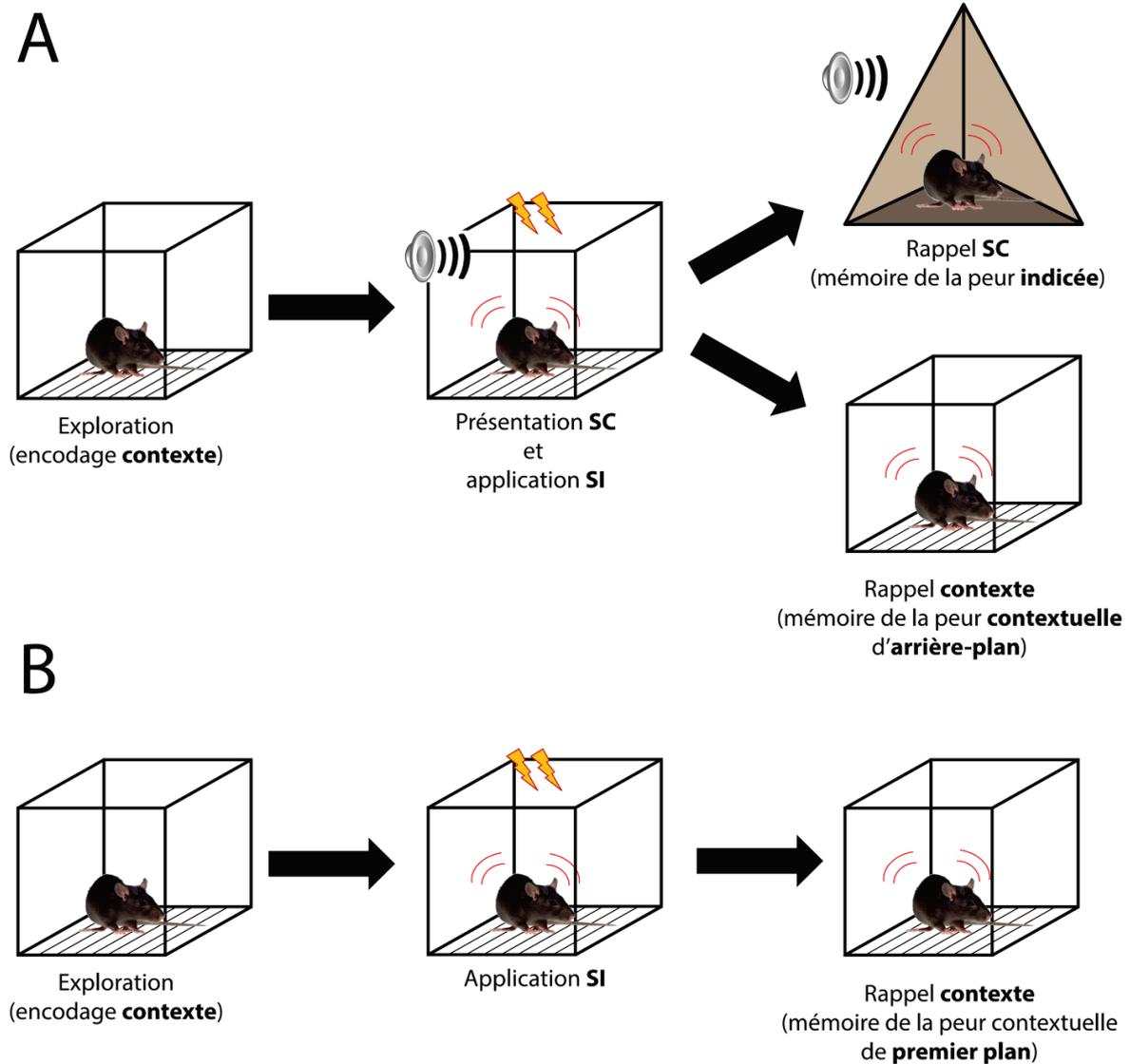


Figure 13 : Dispositif expérimental de conditionnement à la peur. A. Conditionnement à la peur indiquée. Un conditionnement à la peur commence par une phase exploratoire pendant laquelle l'animal encode le contexte de conditionnement. Suit une phase de présentation du SC (ici un son), à la fin duquel est délivré le SI (ici un choc électrique). C'est lorsque le SI est délivré que les associations entre SC et SI se font et que la peur du son et du contexte se forment. L'animal exprime alors peu de RPC (*freezing*, représenté par les vagues rouges). L'évaluation de la mémoire de la peur indiquée (peur du son) se fait en mesurant la RPC au son dans un autre contexte. L'évaluation de la mémoire de la peur contextuelle se fait en mesurant la RPC sans délivrer le son dans le contexte de conditionnement. Il s'agit alors d'une peur contextuelle d'arrière-plan **B. Conditionnement à la peur contextuelle de premier plan.** Le principe est le même que pour la peur indiquée, excepté qu'aucun SC saillant n'est présenté, conduisant à la formation d'une mémoire de la peur contextuelle uniquement, appelée peur contextuelle de premier plan.

L'association SC-SI nécessaire à l'acquisition d'un CP dépend au niveau neurobiologique de la synergie entre les réseaux en charge du traitement du SC et du réseau de la peur.

2. Substrats neurobiologiques du conditionnement de peur

L'acquisition d'une mémoire de la peur au cours d'un conditionnement aversif nécessite bien sûr l'activité du réseau de la peur, avec comme pièce maîtresse l'Amy. En effet, l'inactivation du complexe basolatéral par infusion de muscimol empêche l'acquisition d'un CP (Muller et al., 1997). Le traitement du SC est également primordial, et l'association entre contexte et SI ne peut avoir lieu si le SI est délivré avant que l'animal ait pu explorer le contexte lors d'un CPc (Fanselow, 2000). Une association entre contexte et SI est possible dans ce cas seulement si l'animal a été précédemment exposé au contexte, une procédure connue sous le nom de "*context pre-exposure facilitation effect*" (Rudy et al., 2004). Nous décrirons ici les structures cérébrales nécessaires au CPc chez le rongeur, car il s'agit du type de CP utilisé au cours de ces travaux de thèse. La structure principale impliquée dans le traitement contextuel est l'HPC dorsal (dHPC).

a) Traitement de l'information contextuelle : le réseau hippocampique

(1) L'hippocampe dorsal (dHPC)

Afin de comprendre le rôle de l'HPC dans l'acquisition d'un CPc, nous devons dans un premier temps décrire son anatomie. Comme vu précédemment, l'HPC peut se diviser en une partie dorsale (dHPC) et une partie ventrale (vHPC). Dans le cas du traitement de l'information contextuelle, c'est le dHPC qui joue un rôle fondamental et que nous décrirons ici. L'anatomie du dHPC est très similaire à celle du vHPC. L'HPC en lui-même est formé du gyrus dentelé (GD), composé principalement de cellules granulaires excitatrices, et de la corne d'Ammon (CA), elle-même subdivisée en aires CA1, CA2 et CA3. La formation hippocampique, plus large, comprend l'HPC et des structures para-hippocampique : le cortex

entorhinal, principale structure afférente à l'HPC, et le subiculum, la voie de sortie. Le cortex entorhinal projette sur le subiculum, sur le GD via la voie perforante, mais également vers les régions CA1 et CA3 par la voie temporo-ammonique, qui connecte la couche II du cortex entorhinal à l'aire CA3, et la couche III à l'aire CA1 (Sharma et al., 2007). Ces projections du cortex entorhinal, ainsi que celles en provenance du cortex périrhinal et de cortex associatifs, fournissent au dHPC des informations visuo-spatiales nécessaires à ses fonctions dans la navigation spatiale (Amaral and Witter, 1995). Les neurones granulaires du GD innervent les cellules pyramidales de l'aire CA3 par des projections appelées fibres moussues. L'aire CA3 projette ensuite vers les neurones pyramidaux de l'aire CA1 ipsilatérale via les collatérales de Schaffer, et vers l'aire CA1 controlatérale via la voie associationnelle commissurale. Les neurones de CA1 connectent ensuite le subiculum, qui renvoi l'information vers le cortex entorhinal. Cet ensemble de connexions permettant le transfert de l'information du GD vers le subiculum se nomme circuit trisynaptique.

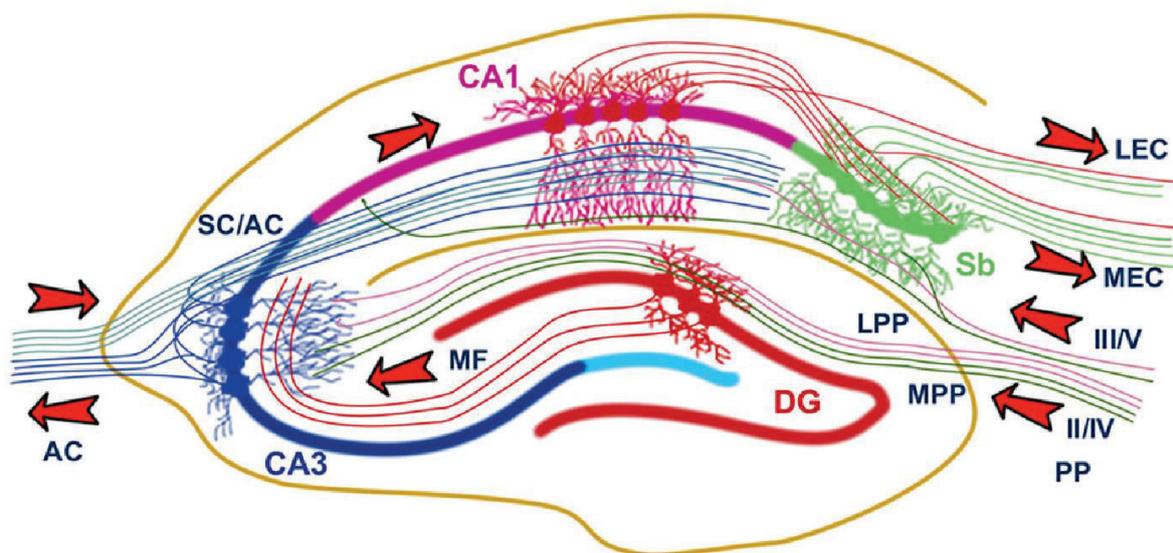


Figure 14 : Schéma de la voie trisynaptique et des afférences et efférences externes de l'hippocampe dorsal. Le cortex entorhinal projette vers le GD, CA1 et CA3, et reçoit des projections du subiculum. La voie trisynaptique permet la transmission de l'information du GD vers le subiculum. PP : voie perforante ; MPP : voie perforante médiale ; LPP : voie perforante latérale ; DG : gyrus dentelé ; MF : fibres moussues ; SC : collatérales de Schaffer ; AC : voie associationnelle commissurale ; Sb : subiculum ; LEC : cortex entorhinal latéral ; MEC : cortex entorhinal médian. Repris de Sharma et al., 2007, Toxicologic Pathology.

Comme nous l'avons dit, le dHPC est considéré au niveau fonctionnel comme le centre de traitement principal de l'information contextuelle lors d'un CPc. Son inactivation altère ainsi à la fois l'acquisition (Young et al., 1994) et le rappel (Goshen et al., 2011) d'un CPc. De manière intéressante, l'administration intra-hippocampique d'APV (acide 2-amino-5-phosphonovalérique), un antagoniste des récepteurs NMDA altère sélectivement l'acquisition de la version contextuelle d'un CP, sans interférer avec la mémorisation de sa version indicée (Stiedl et al., 2000). Ce résultat démontre ainsi l'importance du dHPC dans le traitement de l'information contextuelle au cours d'un CP. De même, la lésion du dHPC provoque une altération du rappel d'un CPc, sans affecter celui d'un CPi (Kim and Fanselow, 1992; Phillips and LeDoux, 1992). Cependant, la formation d'une représentation contextuelle dépend de l'association d'éléments uni-sensoriels (indices élémentaires), et les données anatomiques révèlent que l'HPC reçoit des afférences des aires sensorielles *via* notamment le cortex entorhinal. Ainsi, la distinction entre réseaux responsables du traitement des indices élémentaires et réseau contextuel hippocampique n'est pas absolue. Il a ainsi été montré chez le rat que l'implication du dHPC dans un CPc pourrait dépendre du protocole utilisé. En effet, une lésion bilatérale du dHPC bloque l'acquisition d'un CPc d'arrière-plan mais pas celle d'un CPc de premier plan (Phillips and LeDoux, 1994). Une possibilité évoquée par les auteurs est que le caractère prédictif du contexte serait écrasé par celui du SC saillant (*i.e.* son) dans le cas d'un CPc d'arrière-plan, et qu'ainsi la composante contextuelle serait plus fragile que lors d'un CPc de premier plan. L'HPC serait alors impliqué dans les deux cas, mais nécessaire seulement au rappel d'un CPc d'arrière-plan, tandis que son absence pourrait être compensée par d'autres régions dans le cas d'un CPc de premier plan. De la même manière, il a été montré que des souris dont l'HPC a été lésé semblent capables d'apprendre à discriminer un contexte aversif d'un contexte neutre (Desmedt et al., 2003). De manière intéressante, cette étude montre tout d'abord l'importance d'un SC saillant dans l'apprentissage de la discrimination entre les deux contextes chez des souris non lésées. Ainsi, la présentation lors du rappel d'un son explicitement associé au SI lors du conditionnement favorise la discrimination entre contextes aversif et neutre. Cet effet facilitateur est augmenté lorsqu'un conditionnement « de trace » est réalisé, puisque les souris sont alors capables de discriminer les contextes sans présentation du son. Le conditionnement « de trace » est similaire à un CPi classique, cependant un délai de quelques dizaines de secondes est introduit entre la fin du SC et le SI. Des indices

élémentaires ne faisant apparemment pas partie intégrante du contexte semblent donc pouvoir moduler le traitement contextuel lorsque l'HPC est fonctionnel. En revanche, cette étude montre qu'une lésion de l'HPC peut altérer ou améliorer la capacité des souris à discriminer les contextes, de manière dépendante du type de conditionnement utilisé (respectivement CP classique ou « de trace »). En résumé, cette étude révèle donc d'une part l'importance d'indices élémentaires dans le traitement contextuel, et d'autre part l'implication complexe de l'HPC dans la représentation précise du contexte, qui semble également dépendre d'indices élémentaires *a priori* détachés du contexte.

Les résultats de cette étude (Desmedt et al., 2003) sont à mettre en relation avec ceux d'autres études qui révèlent un effet délétère de lésions du dHPC au niveau de l'association son-SI lors d'un CPi classique (Maren et al., 1997) ou « de trace » (McEchron et al., 1998). Nous avons en effet précédemment mentionné que le CPi ne semble pas impliquer le dHPC (Kim and Fanselow, 1992; Phillips and LeDoux, 1992). Ces études plus récentes (Maren et al., 1997; McEchron et al., 1998) viennent donc contredire une telle hypothèse. L'implication de l'HPC ne semble donc pas limitée au traitement contextuel lors d'un CP, même si la variabilité des résultats ne nous permet pas d'établir précisément sa fonction à ce jour, ni de quels facteurs dépend son implication. Cette variabilité des résultats peut avoir différentes origines. Premièrement, les études lésionnelles sont rarement limitées au dHPC et les lésions peuvent comprendre le vHPC (à l'image de l'étude de McEchron) ainsi que des régions para-hippocampiques, et notamment le cortex rétrosplénial situé au niveau dorsal du dHPC. Deuxièmement, la variabilité des contextes utilisés dans les différents laboratoires peut modifier la perception que l'animal a de certains indices (qui se trouveraient ainsi au premier plan ou arrière-plan par exemple), et donc sa stratégie de rappel qui peut être basée sur un élément précis plus que sur la globalité du contexte. Enfin, une étude récente révèle que des différences interindividuelles existent dans la stratégie de rappel adoptée lors d'un conditionnement moteur (Lee et al., 2014). Ainsi, certains rats de cette étude se basent sur des indices contextuels, tandis que d'autres se reposent plus faiblement sur ces indices et privilégient des indices élémentaires tels qu'un son ou un flash lumineux. Etudier les stratégies individuelles des animaux pourrait être un facteur clef pour comprendre le rôle de ces différents indices. Néanmoins, malgré ces résultats contradictoires, nous devons souligner ici que toutes ces études révèlent un rôle

fondamental du dHPC dans le traitement de l'information contextuelle. Cependant, bien que central, le dHPC n'est qu'une pièce au sein d'un réseau anatomique complexe responsable du traitement de la représentation contextuelle.

(2) Les régions para-hippocampiques

Comme toutes les fonctions supportées par le cerveau, le traitement de l'information contextuelle ne dépend pas d'une structure mais d'un réseau, au sein duquel le dHPC joue un rôle central. Le cortex entorhinal (CER) est en même temps la source d'afférences et la voie de sortie principale de l'HPC. Il s'agit de la source majeure d'informations multimodales en direction de l'HPC (Scharfman, 2000), et le CER est donc considéré comme primordial dans la fonction de représentation contextuelle. Le CER peut se subdiviser en région médiale (CERm) et latérale (CERl), qui projettent sur des neurones différents dans l'HPC (Witter, 2003). Le CERm reçoit une plus grande proportion d'informations visuelles et visuo-spatiales, et supporte donc une importante fonction dans la navigation et la mémoire spatiales, notamment grâce à ses cellules de grille (Hafting et al., 2005). Le CERl reçoit lui des afférences de nombreux cortex associatifs, principalement au travers du cortex périrhinal (Agster and Burwell, 2009). Il semble supporter une fonction importante de maintien de l'information dans un conditionnement "de trace" qui serait dépendante de l'activité de ses neurones qui est capable de se maintenir longtemps (plusieurs dizaines de secondes au moins) après son initiation (Morrissey et al., 2012). L'implication du CER dans l'acquisition de CPc a été étudié de nombreuses fois avec néanmoins des résultats conflictuels (Bannerman et al., 2001; Maren and Fanselow, 1997; Phillips and LeDoux, 1995). Une étude plus récente suggère que l'implication du CER dépende du protocole de conditionnement utilisé, expliquant potentiellement la variabilité de ces résultats (Majchrzak et al., 2006). En effet, les résultats de l'étude de Majchrzak révèlent qu'une lésion du CER altère la mémoire de peur contextuelle d'arrière-plan, lorsque le son n'est pas présenté de manière contingente avec le SI. De manière intéressante, ce résultat nous rappelle le résultat d'études avec lésion de l'HPC, à savoir qu'une lésion de cette région entraîne aussi des déficits uniquement lors d'un CPc d'arrière-plan.

Le CER n'est cependant pas le seul cortex connecté au dHPC et impliqué dans le traitement de l'information contextuelle. En effet, l'aire dCA1 projette également vers le cortex rétrosplénial (RSC; Cenquizca and Swanson, 2007). Le RSC est un cortex formant anatomiquement une interface entre régions sensorielles et para-hippocampiques, avec lesquelles il présente des connexions réciproques (Todd and Bucci, 2015). L'intégrité fonctionnelle du RSC a été montrée comme nécessaire dans des tâches de mémoire spatiales et contextuelles, et notamment dans le rappel d'un CPc (Corcoran et al., 2011; Keene and Bucci, 2008). L'étude de Corcoran montre par exemple que le blocage spécifique de la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA du RSC bloque le rappel d'un CPc testé 3 jours ou 36 jours après le conditionnement chez la souris. Cette étude s'intéressait à un CPc d'arrière-plan et les manipulations du RSC effectuées ne touchaient pas la mémoire associée au son. Ces résultats suggéraient donc un rôle spécifique du RSC dans le traitement contextuel, confirmant des résultats précédents (Keene and Bucci, 2008). Etant donné l'implication différentielle de l'HPC et du CER dans les CPc de premier ou d'arrière-plan, il serait intéressant d'étudier les effets de lésions ou d'inactivation du RSC lors d'un CPc de premier plan. En effet, l'implication du RSC dans un CPc semble complexe, à l'image des résultats contradictoires concernant son rôle dans l'acquisition d'un CPc. En effet, les études citées jusqu'ici ne révèlent aucun rôle du RSC dans l'acquisition d'un CPc, tandis qu'une étude récente suggère son implication dans l'acquisition d'un CPc lors d'un conditionnement "de trace" (Kwapis et al., 2015). Cependant, une inhibition de la synthèse protéique et non une inactivation de l'activité neuronale était réalisée au cours de cette étude. Ainsi, les différences de manipulations effectuées, combinées aux différents types de protocoles de conditionnement, pourraient expliquer la disparité des résultats concernant l'implication du RSC au cours d'un CPc. Les différentes connexions du réseau hippocampique décrit ci-dessus sont résumées sur la figure 15.

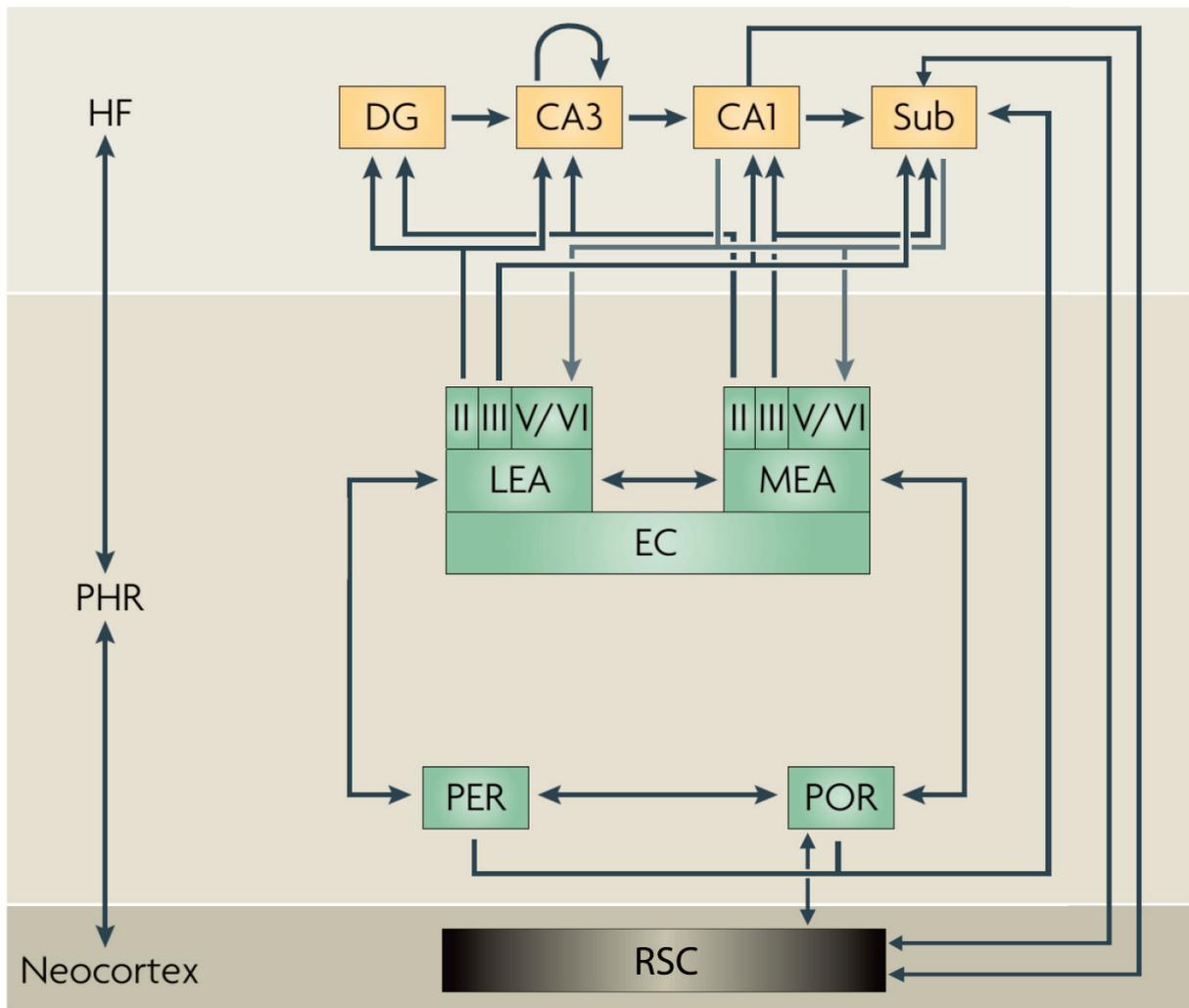


Figure 15 : Représentation schématique des connexions anatomiques du réseau impliqué dans le traitement de l'information contextuelle au cours d'un conditionnement contextuel à la peur. On distingue les régions formant la formation hippocampique (HF) des régions para-hippocampiques (PHR) et du néocortex, avec comme région principale le cortex rétrospécial (RSC). L'interaction entre ces différentes régions permet l'intégration d'informations sensorielles multimodales (principalement visuo-spatiales) permettant la représentation complexe du contexte. DG : *gyrus dentelé dorsal*; CA3/CA1 : *aires CA1 et CA3 de l'hippocampe dorsal*; Sub : *subiculum*; EC : *cortex entorhinal*; LEA : *aire latérale du cortex entorhinal*; MEA : *aire médiane du cortex entorhinal*; PER : *cortex périrhinal*; POR : *cortex postrhinal*. Adapté de van Strien et al., 2009, *Nature Review Neuroscience* et de Todd and Bucci, 2015, *Behavioral and Neural Plasticity*.

La formation d'une représentation contextuelle lors d'un CPC nécessite donc au niveau cérébral l'implication de nombreuses régions hippocampiques et para-hippocampiques. Cependant, les conditions déterminant l'implication de chacune de ces régions semblent dépendre du type de protocole utilisé, et de futures études sont nécessaires à une meilleure

compréhension du rôle exact de ces structures dans le traitement des informations contextuelles. Ces informations contextuelles traitées par le réseau hippocampique nécessitent ensuite d'être associées aux informations émotionnelles du SI afin de créer la peur du contexte.

b) Implication du réseau émotionnel lors d'un CP

L'Amy n'est pas directement connectée avec le dHPC, et recevrait donc l'information contextuelle au travers du vHPC (Anagnostaras et al., 2001; Maren and Fanselow, 1995), structure émotionnelle présentant de fortes connexions réciproques avec l'Amy (Pitkänen et al., 2006). Le rôle du vHPC au cours d'un CP ne s'arrête cependant pas au transfert des informations du dHPC vers l'Amy. Tout d'abord, comme nous l'avons déjà décrit au précédent chapitre, le vHPC est une structure centrale dans l'expression de comportements d'anxiété, et une lésion du vHPC altère à la fois l'expression d'un CPc (Maren, 1999; Maren and Holt, 2004) et d'un CPI (Maren and Holt, 2004). De plus, l'étude de Maren et Holt montre que la lésion pré-apprentissage du vHPC semble pouvoir être compensée dans le cas d'un CPc d'arrière-plan, suggérant un rôle limité du vHPC dans l'encodage du contexte. De manière intéressante, cette compensation n'est pas observée dans le cas d'un CPI. Une étude récente renforce cette idée d'implication spécifique du vHPC dans le traitement émotionnel (Huff et al., 2016). Dans cette étude, les auteurs ont utilisé un protocole particulier de CP : les rats étaient exposés au contexte une première fois, puis y étaient replacés le lendemain et recevaient immédiatement un choc électrique. Ainsi, l'apprentissage du contexte avait lieu le jour 1 et l'association avec le choc le lendemain. La stimulation optogénétique de la voie BLA-vHPC renforçait l'apprentissage lorsqu'elle avait lieu après l'association contexte-choc mais pas lorsqu'elle avait lieu le jour 1, après l'apprentissage contextuel. Encore une fois néanmoins, les études réalisées sur le sujet ont apporté de nombreux résultats parfois contradictoires. Malgré tout, l'ensemble des données semble converger vers l'idée d'une fonction du vHPC dans l'association contexte-SI et non dans le traitement contextuel en lui-même. Une cause potentielle de la disparité des résultats peut venir du fait que les études lésionnelles ne semblent pas adaptées pour étudier le rôle du vHPC au cours d'un CP, puisque l'étude de Maren révèle un effet différent

d'une lésion et d'une inactivation (Maren and Holt, 2004). En effet, après une lésion, l'organisme peut généralement avoir le temps de compenser l'effet de la lésion en utilisant des voies et réseaux normalement non utilisés dans tels ou tels comportements. Dans le cas d'une inactivation, ces processus de compensation n'ont pas le temps de se mettre en place. Par ailleurs, il semblerait malgré tout que le vHPC soit lié d'une certaine manière au traitement de l'information contextuelle puisqu'une étude suggère son implication dans le processus de généralisation (Cullen et al., 2015). La généralisation est un phénomène observé lors de la consolidation à très long terme d'un CP (après plusieurs semaines) qui conduit l'individu à « généraliser sa peur » à d'autres contextes et donc à exprimer la réponse de peur conditionnée dans un contexte différent du contexte de conditionnement. Une possibilité est que la fonction de traitement de l'information contextuelle soit, au cours du temps, peu à peu supportée par le vHPC au détriment du dHPC. Le vHPC recevant moins d'informations visuo-spatiales que le dHPC, et ses cellules de lieu possédant un champ plus large (Amaral and Witter, 1995; Kjelstrup et al., 2008), une représentation moins précise du contexte se mettrait alors en place avec le temps qui passe, entraînant le phénomène de généralisation.

Néanmoins, si le rôle du vHPC dans le CP est encore loin d'être compris, le rôle de l'Amy est bien plus clairement défini. Chez le rongeur, les travaux de Joseph LeDoux ont permis d'accroître considérablement les connaissances sur cette structure et son implication dans le CP (Johansen et al., 2011; LeDoux, 2007, 2000; Phillips and LeDoux, 1992). Les connaissances actuelles placent l'Amy comme la région permettant l'association entre le SC et le SI, ainsi que l'expression de la peur conditionnée (Fanselow and Poulos, 2005; Goosens and Maren, 2001, 2001; Johansen et al., 2011; LeDoux, 2007, 2000; Maren, 2005). Si cette fonction d'association SC-SI est claire, l'implication respective des noyaux amygdaliens reste encore à définir. Les travaux de lésion et d'inactivation ont placé le noyau basolatéral (BLA) comme primordial dans l'association contexte-SI, tandis que le noyau latéral (LA) serait impliqué de manière privilégiée dans l'association SC saillant-SI (Goosens and Maren, 2001; Onishi and Xavier, 2010). Les observations neuroanatomiques vont dans le sens de ces conclusions puisque le BLA reçoit majoritairement des informations contextuelles en provenance de l'HPC ainsi que des cortex entorhinal et polymodaux, tandis que le LA reçoit des informations élémentaires par les afférences des thalamus et cortex sensoriels

(Rodrigues et al., 2009). Cependant, les connexions intrinsèques à l'Amy laissent supposer que les activités des noyaux amygdaliens sont interdépendantes, et qu'un seul type de CP pourrait induire des modifications dans chacun des noyaux amygdaliens. En accord avec cette hypothèse, une activation des kinases ERK1/2 est observée à la fois dans le LA et le BLA après un CPc de premier plan (Trifilieff et al., 2007). De manière intéressante, cette activation est uniquement observée dans le LA lors d'un CPc d'arrière-plan, mettant encore une fois en évidence une différence entre ces deux types de conditionnement, y compris au niveau du réseau émotionnel. Un modèle putatif du réseau impliqué dans l'acquisition d'un CPc et dans la réponse de peur conditionnée est présenté sur la figure 16.

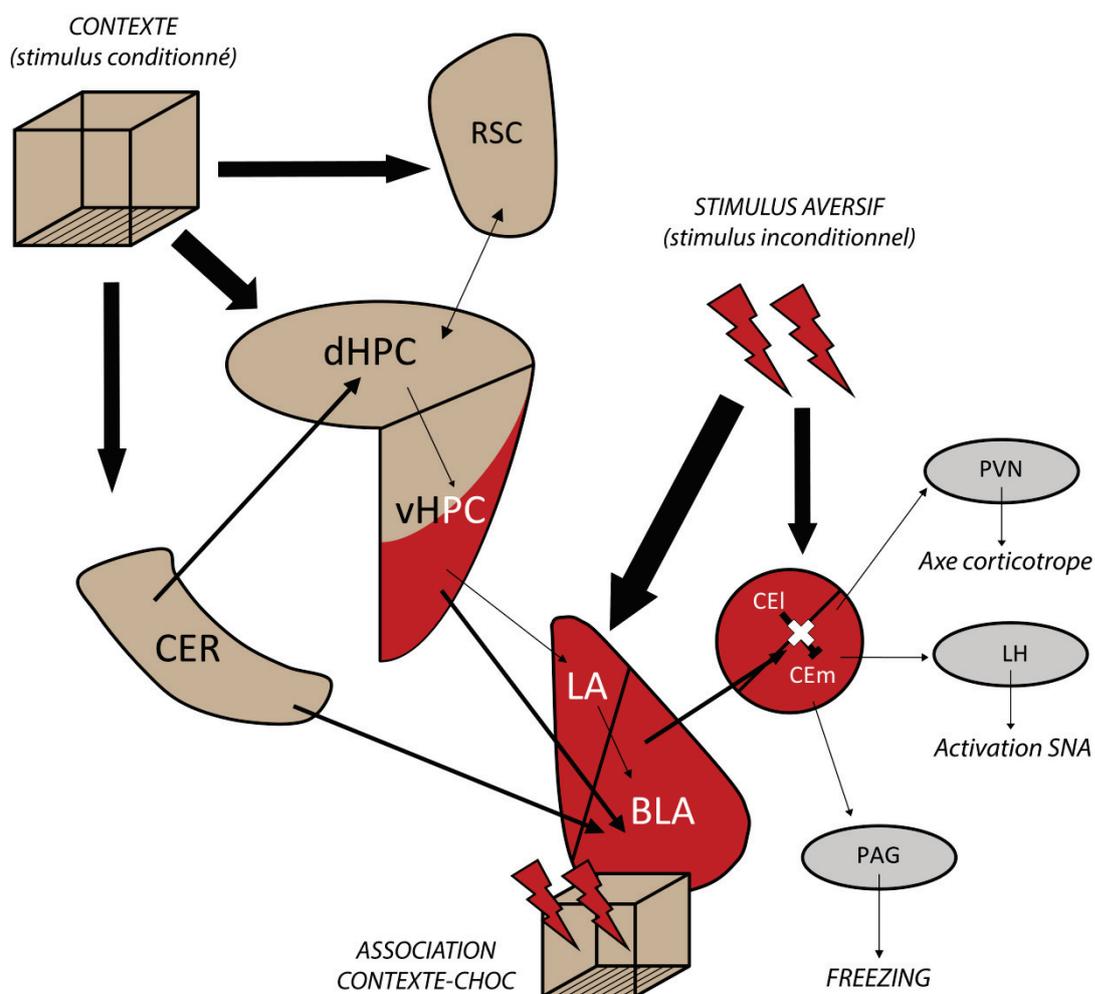


Figure 16 : Représentation schématique du réseau cérébral impliqué dans l'acquisition d'un CPc et l'expression de peur conditionnée. Les informations relatives au contexte sont traitées par un réseau organisé autour de l'hippocampe dorsal (dHPC, marron). L'information

émotionnelle du stimulus aversif est associée au contexte au niveau de l'amygdale basolatérale (BLA). Le BLA lève ensuite l'inhibition que la partie latérale de l'amygdale centrale (CEl) exerce sur la partie médiane (CEm). Le CEm active ensuite des noyaux hypothalamiques et du tronc cérébral pour déclencher la réponse de peur conditionnée (gris). L'hippocampe ventral (vHPC) est représenté avec deux couleurs afin de marquer son rôle de relai entre réseau contextuel et réseau émotionnel (rouge). *RSC : cortex rétrosplénial; CER : cortex entorhinal; vHPC : hippocampe ventral; LA : amygdale latérale; PVN : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus; LH : hypothalamus latéral; PAG : substance grise périaqueducale.*

Le modèle présenté ici est simplifié à différents niveaux. Premièrement, le traitement des informations semble varier en fonction du type de conditionnement (de premier plan ou d'arrière-plan) dans la majorité des structures présentées (HPC, Amy et CER). Deuxièmement, d'autres régions ou groupes de cellules pourraient jouer un rôle primordial lors de l'acquisition d'un CPc, à l'image des cellules intercalées de l'Amy. Les cellules intercalées sont des groupes de cellules inhibitrices au sein de l'Amy, qui ont un rôle majeur de régulation de l'activité amygdalienne et semblent impliquées notamment dans l'extinction d'un CPi (Blaesse et al., 2015; Likhtik et al., 2008). D'autre part, le cortex préfrontal médian (CPFm), et notamment la région cingulaire antérieure, semble également être impliqué dans l'acquisition et l'expression d'un CPc (Courtin et al., 2013; Rozeske et al., 2015). Cette dernière observation peut paraître surprenante car le CPFm a longtemps été impliqué dans la consolidation d'un CPc, mais pas dans son acquisition. La consolidation est un ensemble de processus nécessaires aux renforcements et modifications de la trace mnésique d'un événement. C'est une étape importante du processus de mémorisation qui arrive après l'acquisition de l'événement à mémoriser et qui peut durer plusieurs heures, voire même plusieurs années.

C. La consolidation mnésique

Une fois formée, la mémoire est encore fragile et extrêmement sensible aux interférences qui pourraient l'altérer. La trace mnésique nouvellement formée doit passer par différents processus de consolidation afin de se stabiliser et de s'inscrire dans la durée (Dudai et al., 2015; Frankland and Bontempi, 2005; McGaugh, 2000). Le concept de

consolidation fut introduit originellement par Georg Elias Müller et Alfons Pilzecker en 1900. Ils s'inspirèrent notamment des travaux de Herman Ebbinghaus et conduisirent une série d'expériences dans lesquelles les sujets devaient associer des paires de syllabes dénuées de sens (Lechner et al., 1999). Ils constatèrent alors une amélioration des performances des sujets en fonction du temps (figure 17A). De manière intéressante, cette courbe montrant une amélioration de la mémoire en fonction du temps s'oppose à la courbe de l'oubli d'Ebbinghaus (figure 17B), révélant potentiellement l'aspect sélectif de la consolidation mnésique : l'utile est renforcé tandis que l'inutile est oublié. Néanmoins la différence d'échelle temporelle entre les deux courbes limite leur mise en parallèle.

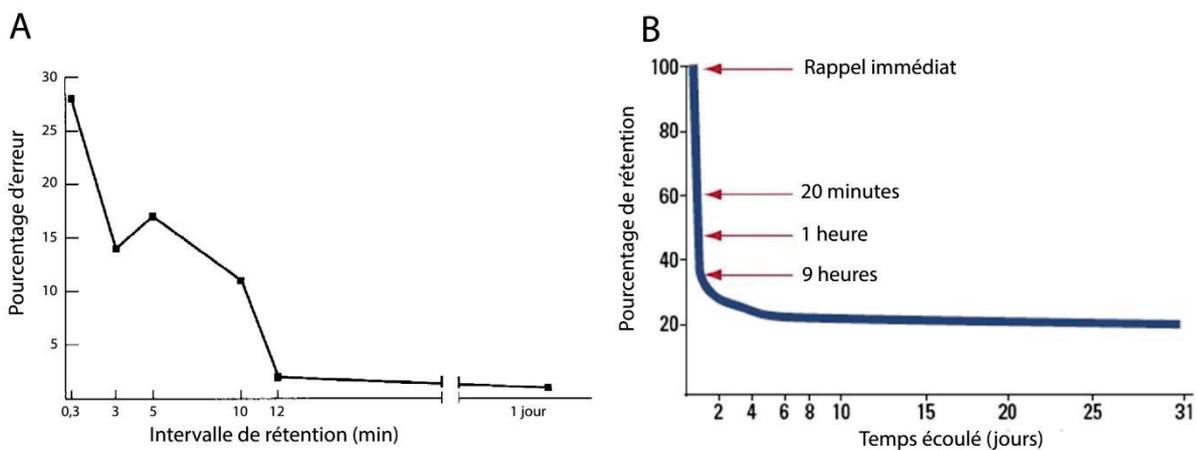


Figure 17 : Evolution de la mémoire au cours du temps : renforcement et oubli. A. Courbe de préservation de Müller et Pilzecker. La mémoire de l'association de paires de syllabes était testée à différents intervalles de temps. On remarque que le taux d'erreurs diminue rapidement pendant les 10 premières minutes après l'apprentissage, révélant une consolidation de la mémoire. Repris de Lechner et al., 1999, Learning & Memory. **B.** Courbe de l'oubli d'Ebbinghaus montrant la cinétique de rétention de l'information au cours du temps. On remarque un oubli très rapide durant les premières heures puis une stabilisation du pourcentage de rétention, mettant en évidence la stabilité des mémoires ayant survécu au processus d'oubli.

A l'image des deux phases de la courbe d'Ebbinghaus, les processus de consolidation passent au travers de deux étapes au cours du temps. La première, prenant place dans les premières minutes ou heures après l'apprentissage, correspond au phénomène dit de consolidation synaptique. Au cours de cette étape, les connexions synaptiques ayant servi de support à l'apprentissage seraient renforcées grâce à l'activation de cascades intracellulaires et de mécanismes de plasticité synaptique de longue durée tels que la LTP (Dudai, 2004). La

seconde étape du processus de consolidation, plus tardive et qui peut se poursuivre pendant plusieurs années après l'apprentissage initial, correspond à la consolidation dite systémique. Au cours de cette étape, les réseaux neuronaux impliqués dans le rappel de la mémoire vont peu à peu se modifier pour permettre à la trace mnésique de se maintenir à long terme, supportée petit à petit par d'autres réseaux neuronaux que les réseaux initialement impliqués dans le stockage de la trace. De manière intéressante, on observe en parallèle des modifications qualitatives de la mémoire qui finit peu à peu par perdre certains détails contextuels des souvenirs. Ce processus appelé sémantisation de la mémoire conduit les souvenirs épisodiques riches en détails à s'intégrer peu à peu dans le savoir général de la mémoire sémantique. La première évidence ayant permis d'avancer l'hypothèse d'une réorganisation au cours du temps des réseaux neuronaux responsables du maintien de la mémoire est l'étude du patient HM (Scoville and Milner, 1957). Comme nous l'avons dit, HM présentait une amnésie totale de sa mémoire déclarative et épisodique, notamment pour des souvenirs ayant eu lieu après son intervention chirurgicale (amnésie antérograde), mais aussi avant celle-ci (amnésie rétrograde). HM était en effet incapable de se rappeler d'événements remontant jusqu'à approximativement 19 mois avant son opération. Le gradient temporel de cette amnésie rétrograde fit émerger l'idée d'un désengagement progressif des structures du LTM dans le rappel de la mémoire. Plusieurs théories existent quant à la nature des modifications subies par les réseaux mnésiques au cours du temps. Nous présenterons ici les trois théories majeures de la consolidation des mémoires déclaratives : la théorie standard de la consolidation, la théorie des traces multiples et la théorie de la transformation.

1. La théorie standard de la consolidation

La théorie standard de la consolidation est inspirée de l'hypothèse formulée par le modélisateur David Marr qui met en parallèle l'activité cérébrale avec celle d'un ordinateur (Marr, 1970, 1971). En se basant sur les observations du patient HM, Marr proposa ainsi que l'HPC ait une fonction d'encodage rapide et de stockage à court terme de l'information, similaire à celle de la mémoire vive (RAM) d'un ordinateur. L'information serait ensuite transférée vers les modules corticaux pour un stockage à long terme, de la même manière

qu'elle est stockée dans le disque dur d'un ordinateur. Ce processus permettrait d'éviter la saturation de l'HPC et de libérer celui-ci pour l'encodage de nouvelles informations. Afin de tester cette hypothèse, de nombreux travaux ont fait appel à une approche lésionnelle chez l'animal. Dans une étude publiée en 1992, Kim et Fanselow ont réalisé un CPc chez le rat puis lésé le dHPC à différents temps après le conditionnement (Kim and Fanselow, 1992). Les résultats de cette étude ont montré une diminution de *freezing* indiquant une mauvaise consolidation de la mémoire en lien avec ce conditionnement lorsque la lésion était réalisée 1 jour après celui-ci. En revanche, ils ont aussi montré que la mémoire du CPc semblait intacte lorsque la lésion était réalisée 28 jours après le conditionnement. Ces résultats semblaient donc révéler un gradient temporel dans l'implication du dHPC dans le rappel du CPc, mimant ainsi d'une certaine manière l'amnésie rétrograde observée chez HM.

Néanmoins, il n'y aurait pas un temps précis auquel la mémoire devient indépendante de l'hippocampe, mais une réorganisation progressive des réseaux au cours du temps. De manière complémentaire aux études lésionnelles, des études d'imagerie ont ensuite été réalisées. Ces études révèlent ainsi chez le rongeur une diminution de l'activité du dHPC lors d'un rappel plusieurs semaines après l'apprentissage par rapport à un rappel réalisé un jour après l'apprentissage, à la fois dans une tâche de mémoire spatiale (Bontempi et al., 1999; Maviel et al., 2004) et au cours d'un CPc (Frankland et al., 2004). Parallèlement à la diminution d'activité du dHPC, une augmentation de l'activité du cortex préfrontal médian (CPFm), et notamment du cortex cingulaire antérieur (CCA) est observée dans ces études lors du rappel à très long terme (environ après un mois). De manière intéressante, l'étude de Frankland suggère que cette réorganisation systémique serait dépendante de la consolidation synaptique. En effet, un déficit dans le rappel à très long terme d'un CPc et dans l'augmentation d'activité du CPFm peut être observé chez des souris dont une enzyme primordiale pour les mécanismes de plasticité synaptique, la Ca^{2+} calmoduline kinase II (CaMKII), est rendue non fonctionnelle dans le CPFm. En plus de ses fonctions dans la régulation des émotions (comportements anxieux et contrôle de l'activité amygdalienne), le CPFm a été de nombreuses fois identifié comme une structure majeure de la réorganisation systémique de la trace mnésique, ainsi que comme lieu privilégié de stockage à très long terme de l'information (Bontempi et al., 1999; Cullen et al., 2015; Frankland and Bontempi, 2005; Frankland et al., 2004; Goshen et al., 2011; Takashima et al., 2006, 2009; Wheeler et

al., 2013). Nous avons déjà décrit les fonctions du CPFm dans la régulation et l'expression des émotions dans le chapitre précédent. Nous allons maintenant décrire plus en détail son anatomie, ainsi que son rôle dans la consolidation à long terme de la mémoire. Il s'agit d'un cortex agrulaire que l'on peut subdiviser en trois régions : le cortex cingulaire antérieur (CCA), le cortex prélimbique (PL) et le cortex infralimbique (IL). En plus des projections thalamiques, le CPFm reçoit de nombreuses afférences en provenance de cortex associatifs, et est donc parfaitement placé pour l'intégration d'informations complexes au sein de réseaux corticaux. Certains travaux montrent d'ailleurs une réorganisation des réseaux de la mémoire au sein du cortex au cours du temps, des couches profondes vers les couches superficielles, qui présentent plus de connexions cortico-corticales (Maviel et al., 2004). Le transfert d'activité de l'HPC vers le CPFm, mais aussi des couches profondes vers les couches plus superficielles du cortex, pourrait donc sous-tendre la stabilisation au niveau cortical d'une trace mnésique sur le long terme et potentiellement sa sémantisation.

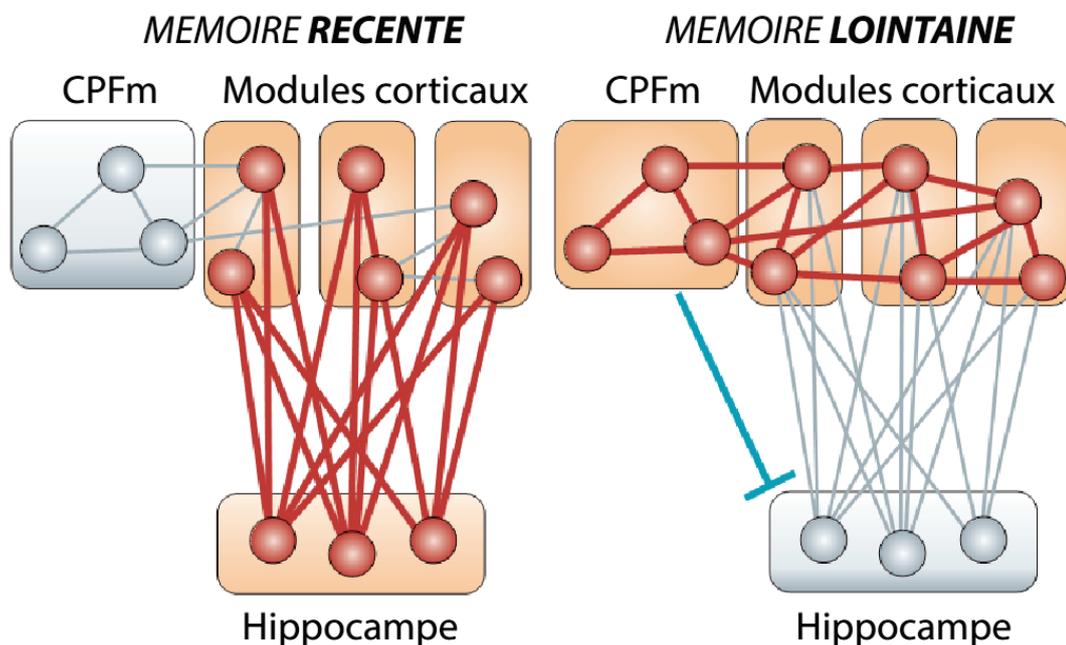


Figure 18 : Théorie standard de la consolidation de la mémoire. Représentation schématique des réseaux neuronaux impliqués dans le rappel d'une mémoire récente (1 jour, gauche) ou lointaine (plusieurs semaines, droite). Selon ce modèle, le rappel d'une mémoire récente impliquerait un réseau hippocampo-cortical, tandis que le rappel d'une mémoire lointaine impliquerait un réseau cortical intégrant notamment le cortex préfrontal médian (CPFm). Dans ce modèle, le CPFm pourrait avoir une fonction inhibitrice sur

l'hippocampe, jouant un rôle important dans son désengagement progressif. Repris de Frankland and Bontempi, 2005, Nature Reviews Neurosciences.

En résumé, la théorie standard de la consolidation propose que l'information soit initialement encodée dans un réseau hippocampo-cortical, puis peu à peu transférée dans des réseaux corticaux incluant notamment le CPFm, qui serait un acteur majeur du désengagement du dHPC par son action inhibitrice, bien que ce dernier point soit purement spéculatif (figure 18 ; Frankland and Bontempi, 2005). Néanmoins, plusieurs observations ont amené à reconsidérer en partie cette théorie et ont notamment fait émerger la théorie des traces multiples.

2. La théorie des traces multiples

La théorie des traces multiples fut proposée pour la première fois en 1997 par Lynn Nadel et Morris Moscovitch (Nadel and Moscovitch, 1997). Cette théorie se base sur des observations contradictoires à ce que prédit la théorie standard de la consolidation. Un gradient temporel dans l'amnésie rétrograde des patients touchés de lésions du LTM n'est que très peu ou pas observé dans le cas des mémoires épisodiques, suggérant une implication permanente de l'HPC dans certaines formes de mémoires. En accord avec cette idée, certaines études ont pu montrer que le dHPC peut, dans certains cas, rester impliqué dans le rappel d'un CPC 30 jours après celui-ci (Goshen et al., 2011). De plus, l'étendue temporelle de l'amnésie semble dépendre de l'étendue de la lésion du LTM. Des patients dont la totalité de la formation hippocampique était lésée présentaient ainsi une amnésie totale, non graduelle. Ces observations conduisirent des auteurs à proposer l'hypothèse suivante : chaque réactivation du réseau lié à un souvenir entraîne la formation d'une nouvelle trace mnésique dans un réseau hippocampo-cortical. Ainsi de multiples traces mnésiques se forment au cours du temps et le LTM, et notamment l'HPC, serait toujours nécessaire au rappel des informations contextuelles liées à la mémoire. Un même souvenir serait alors supporté par de nombreuses traces mnésiques, à la fois corticales et hippocampiques. Les mémoires épisodiques pour lesquelles un rappel des détails du contexte lié à l'épisode mis en mémoire est nécessaire seraient alors très atteintes par des

lésions du LTM, que ces mémoires soient récentes ou plus anciennes. Néanmoins, l'augmentation du nombre de traces au cours du temps amènerait la mémoire sémantique à devenir de plus en plus supportée par des réseaux corticaux, et donc de plus en plus indépendante du LTM. Une lésion du LTM produirait alors une amnésie temporellement graduée dans le cas des mémoires sémantiques, les mémoires plus anciennes étant supportées par un large réseau cortical.

La théorie des traces multiples n'est donc pas entièrement contradictoire avec la théorie standard de la consolidation, notamment en ce qui concerne la mémoire sémantique pour laquelle les deux théories ont les mêmes prédictions. La différence majeure concerne la mémoire épisodique qui resterait complètement dépendante de l'HPC et dont l'amnésie rétrograde ne présenterait pas de gradient temporel selon les prédictions de la théorie des traces multiples. Une autre différence réside dans la nature des réseaux neuronaux impliqués dans le rappel de la mémoire lointaine. Il s'agirait de réseaux corticaux selon la théorie standard, tandis qu'il s'agirait de réseaux hippocampo-corticaux selon la théorie des traces multiples. L'interprétation de nouveaux résultats cherchant à élucider la question ont amené à une nouvelle hypothèse dans la lignée de la théorie des traces multiples : la théorie de la transformation.

3. La théorie de la transformation

Une implication de la théorie des traces multiples est qu'un même souvenir pourrait être supporté à long terme à la fois par le néocortex et par l'HPC. Un bon exemple d'une telle forme de mémoire est donné dans une étude utilisant un CPc chez la souris (Goshen et al., 2011). Dans cette étude, les auteurs réalisaient une inactivation optogénétique de l'aire dCA1 pendant le rappel d'un CPc 30 jours après le conditionnement. Un des objectifs de cette étude était de tester l'existence de mécanismes de compensation en l'absence d'un dHPC fonctionnel lors du rappel à très long terme. Pour cela, les auteurs ont réalisé deux types d'inhibition de dCA1 : une inhibition précise, qui commençait au début du rappel, et une inhibition prolongée qui commençait 30 minutes avant le début du rappel. Les résultats révélaient une diminution importante des quantités de *freezing*, et donc de rappel, dans le

cas d'une inhibition précise, et aucun effet dans le cas d'une inhibition prolongée. Ce résultat indiquait donc que sans préparation l'HPC est bien nécessaire au rappel de l'information. Néanmoins, ce rappel pourrait se faire en l'absence d'HPC lorsque le système a un peu de temps (30 min) pour s'adapter à celle-ci. D'autre part, l'étude a aussi révélé que l'expression du gène c-fos, utilisé comme marqueur indirect d'activité, augmentait dans le CCA dans le cas de l'inhibition prolongée de dCA1. Ces résultats suggèrent donc fortement l'existence de deux traces mnésiques : une hippocampique, recrutée en temps normal, et une corticale, dans le CPFm, qui pourrait prendre le relais au cas où la trace hippocampique serait indisponible. La théorie de la transformation soutient cette idée de deux traces supportant la mémoire : une trace hippocampique contextuelle et détaillée, et une trace corticale plus schématique et intégrée dans le savoir sémantique (Winocur et al., 2010). Cette théorie propose également que le ou les indice(s) déclenchant le rappel déterminent quelle trace serait recrutée. Ainsi, dans le cas d'un CP, la trace hippocampe serait recrutée préférentiellement lors du rappel dans le contexte de conditionnement (mémoire contextuelle détaillée), tandis qu'elle le serait moins lors d'un test effectué dans un contexte différent (mémoire schématique généralisée) (Winocur et al., 2009). Par ailleurs, l'inhibition du CCA dans l'étude de Goshen ne semblait pas pouvoir être compensée, qu'elle soit précise ou prolongée, ce qui suggère une importance primordiale des réseaux corticaux dans le rappel à très long terme de ce type de mémoire.

Les théories concernant la transformation à long terme de la mémoire et de la modification des réseaux neuronaux sous-jacents ont donc évolué au cours du temps. Si le désengagement de l'HPC est de plus en plus remis en cause, les différentes théories s'accordent sur un point : la modification des réseaux entraînerait de manière générale une implication plus importante des aires du néocortex avec le temps. Cependant, le type de mémoire étudié ainsi que les conditions du rappel peuvent faire varier le réseau recruté lors du rappel, et faire ainsi varier les résultats des études. La question des mécanismes mis en jeu dans cette réorganisation systémique reste également en suspens. En effet, nous sommes en droit de nous demander quels mécanismes moléculaires sous-tendent cette transformation de la trace mnésique au niveau cortical, mais aussi quand ont ils lieu ? Une hypothèse est que ces mécanismes pourraient avoir lieu pendant le sommeil.

4. Rôle du sommeil dans la consolidation mnésique

Une des premières évidences d'un lien entre sommeil et consolidation mnésique vient d'une étude de Jenkins et Dallenbach, qui cherchaient à étudier les mécanismes responsables de l'oubli. Une hypothèse était qu'une cause majeure de l'oubli des informations était la création d'interférences lors de nouveaux apprentissages. Pour tester cette hypothèse, ils firent apprendre des paires de syllabes à 2 sujets, dont un dormait après l'apprentissage tandis que l'autre restait éveillé (Jenkins and Dallenbach, 1924). Il apparut que le sujet ayant dormi présentait une courbe de l'oubli plus lente que l'autre, révélant un effet protecteur du sommeil contre l'oubli. Ce résultat fut attribué à une fonction de sommeil de protection contre les interférences. Néanmoins, des résultats ultérieurs mirent en évidence que l'effet bénéfique du sommeil sur la mémoire était également relié à la composition du sommeil, c'est-à-dire de la proportion de SL et de SP. Ces observations amènent l'idée d'un rôle actif du sommeil dans la consolidation mnésique plutôt qu'un rôle passif de protection contre les interférences.

a) Sommeil paradoxal et consolidation mnésique

Plusieurs observations amènent à considérer le SP comme ayant une fonction majeure dans la consolidation mnésique. Le SP présente en effet une activité électro-encéphalographique similaire à celle de l'éveil, et donc particulièrement riche. Il est aussi l'état de sommeil au cours duquel on semble trouver les rêves les plus riches puisque les sujets réveillés au cours d'un épisode de SP ont un récit de ceux-ci très détaillé. Chez l'animal, de nombreuses études semblent confirmer le lien existant entre SP et consolidation mnésique (Poe et al., 2010; Portell-Cortés et al., 1989; Smith, 1996; Vogel, 1975). Tout d'abord, une augmentation des quantités de SP est observée dans les premières heures qui suivent un apprentissage, que ce soit chez le rongeur ou chez le chat (Fishbein et al., 1974; Lecas, 1976; Leconte and Hennevin, 1981; Portell-Cortés et al., 1989; Smith and Wong, 1991). Certaines études ont montré que cette augmentation pouvait s'observer jusqu'à plusieurs jours après l'apprentissage, et suivant un schéma cyclique (augmentations de SP qui reviennent à des moments précis du cycle circadien) (Smith and Lapp, 1986; Smith et al.,

1980). Ces résultats suggèrent donc un rôle prolongé du SP dans la consolidation mnésique : un même événement serait ainsi traité plusieurs fois au cours des phases de sommeil qui suivent cet événement, transformant peu à peu la trace mnésique pour son intégration en mémoire de longue durée. Le délai entre apprentissage et augmentation des quantités de SP observée dans ces études semble hautement dépendant du type de tâche, et des résultats très variables ont pu ainsi être observés. De manière intéressante, l'augmentation des quantités de SP au cours de ces périodes spécifiques semble être prédictive de l'acquisition de la tâche, et marquer la différence entre animaux performants et non performants (Smith and Wong, 1991). Ces observations amenèrent Smith à proposer l'hypothèse d'une « fenêtre de sommeil paradoxal » (Smith, 1996), qui correspond à une fenêtre temporelle critique pour l'influence du SP sur la mémoire, période révélée par l'augmentation des quantités de SP après un apprentissage. Cette hypothèse est appuyée par le fait que les privations de SP ont un effet délétère sur la mémoire principalement lorsqu'elles sont réalisées pendant la fenêtre de sommeil paradoxal (Legault et al., 2010; Smith, 1996; Smith et al., 1998). Cependant, et comme nous l'avons déjà mentionné, les études de privation de SP ont régulièrement été critiquées parce que le stress engendré par la méthode de privation pourrait en lui-même affaiblir la consolidation de la mémoire. En effet, la méthode de privation la plus utilisée jusqu'à ce jour est la méthode du « pot de fleur inversé », dans laquelle l'animal est placé sur une plateforme au dessus de l'eau. L'atonie musculaire du SP entraîne la chute de l'animal dans l'eau, privant ainsi efficacement de SP. Toutefois cette méthode de privation place l'animal dans un environnement aversif, ce qui constitue une source de stress (Born and Gais, 2000; Fishbein, 2000; Horne and McGrath, 1984; Pokk and Väli, 2001) qui peut lui-même interférer avec la consolidation de la mémoire (de Quervain, 2006). Ces critiques sont légitimes et un effet du stress ne peut être écarté dans ces études, mais plusieurs arguments confirment l'idée d'un rôle du SP dans la consolidation de la mémoire. Premièrement, d'autres études de privation ont été réalisées par des méthodes peu stressantes et révèlent un effet délétère de la privation de SP sur la mémoire (Datta, 2004; Inostroza et al., 2013; Ravassard et al., 2016). D'autre part, l'augmentation artificielle des quantités de SP après un apprentissage (par des agents pharmacologiques ou une procédure de rebond) améliore les performances des animaux lors du rappel d'une tâche contextuelle ou spatiale (Ravassard et al., 2016; Wetzel et al., 2003). Enfin, des études s'intéressant aux mécanismes ayant lieu au cours du SP et n'utilisant donc pas de privation

révèlent l'importance du rythme thêta du SP dans la consolidation mnésique (Boyce et al., 2016; Nishida et al., 2009; Popa et al., 2010).

Malgré ces évidences, les résultats des études s'intéressant au rôle du SP dans la consolidation de la mémoire restent variables, notamment chez l'Homme. Plusieurs évidences semblent montrer que le SP aurait une fonction sélective dans la consolidation de certains types de mémoires (Rasch and Born, 2013). La variabilité des résultats concernant le rôle du SP sur la mémoire serait donc une conséquence des différents types de mémoire étudiés. Tout d'abord, comme évoqué au chapitre précédent, le SP semble jouer un rôle dans la consolidation des mémoires émotionnelles. De plus, les privations de SP chez l'Homme semblent affecter la mémoire procédurale ainsi que la mémoire déclarative d'éléments complexes (phrases, histoires) tandis que la mémoire déclarative simple (mots ou syllabes) ne semble pas affectée (Rasch and Born, 2013). Chez le rongeur, le SP semble plus étroitement lié aux mémoires dépendantes de l'hippocampe. En effet, des manipulations du SP post-apprentissage altèrent les performances lors d'un CPc (Boyce et al., 2016; Ravassard et al., 2016) mais semblent épargner la mémoire d'un CPI « non dépendante de l'HPC » (Boyce et al., 2016). De plus, une privation de SP entraîne une altération des mécanismes de plasticité synaptique de longue durée et de synthèse protéique nécessaires à l'acquisition et la consolidation de la mémoire dans le dHPC (McDermott et al., 2003; Prince and Abel, 2013; Ravassard et al., 2009, 2015). Le SP semble donc jouer un rôle dans certaines formes de mémoire, mais sa contribution exacte reste encore aujourd'hui assez peu connue.

b) Modèles de consolidation de la mémoire au cours du sommeil

A ce jour, différentes hypothèses existent concernant le rôle du sommeil dans la mémoire. L'hypothèse de « double processus » propose par exemple que différentes phases de sommeil serviraient différents types de mémoire (Rasch and Born, 2013). Cette hypothèse est majoritairement basée sur l'observation chez l'Homme que des privations de début de nuit ou de fin de nuit semblent affecter différents types de mémoire. Les privations de début de nuit diminuent majoritairement les quantités de sommeil à ondes lentes tandis

que les privations de fin de nuit diminuent préférentiellement les quantités de SP. Les résultats de ces études suggèrent que le sommeil à ondes lentes serait impliqué dans la consolidation de la mémoire déclarative tandis que le SP serait impliqué dans le traitement des mémoires procédurales et émotionnelles (Rasch and Born, 2013). Néanmoins cette dissociation ne semble pas si évidente, et le sommeil à ondes lentes a ainsi été relié à la mémoire procédurale dans certaines études (Aeschbach et al., 2008; Gais et al., 2000). Nous allons présenter ici les principales hypothèses actuelles s'intéressant au rôle du sommeil dans la mémoire.

(1) Les modèles de « consolidation passive » : l'hypothèse séquentielle (HS) et l'hypothèse d'homéostasie synaptique (SHY)

L'hypothèse d'homéostasie synaptique (SHY) formulée originellement par Tononi et Cirelli (Tononi and Cirelli, 2003, 2006) propose que le sommeil à ondes lentes affaiblirait globalement les connexions synaptiques afin d'éviter des phénomènes de saturation des réponses synaptiques, permettant ainsi à de nouveaux apprentissages de se mettre en place par la suite. Cette hypothèse est notamment basée sur l'observation que plus les synapses sont potentialisées durant l'éveil, plus la puissance des ondes lentes au cours du sommeil subséquent semble importante (Rasch and Born, 2013). Les oscillations lentes, notamment inférieures à 1Hz, permettraient la dépotentialisation des synapses qui auraient été potentialisées durant l'éveil. Il a en effet été observé *in vitro* qu'une activité neuronale dans cette bande de fréquence induit une dépression à long terme des synapses (Kemp and Bashir, 2001; Massey and Bashir, 2007). La fonction du sommeil de consolidation de la mémoire serait alors un effet secondaire de cet affaiblissement des synapses, qui engendrerait une disparition des connexions « superflues » supportant les informations inutiles. Il y aurait ainsi une augmentation du ratio signal/bruit (utile/superflue), processus au cours duquel seules les informations utiles persisteraient. Certains résultats vont dans le sens de cette hypothèse, montrant une diminution de l'activité synaptique pendant le sommeil liée à l'activité au cours de l'éveil (pour revue : Rasch and Born, 2013 ; Tononi and Cirelli, 2003, 2006). Cependant, une critique qui peut être adressée à l'hypothèse SHY est le

manque de considération pour les différences importantes qui existent entre les différents stades de sommeil, qui sont probablement révélatrices de fonctions différentes.

L'hypothèse séquentielle (HS) présente beaucoup de points communs avec l'hypothèse SHY, à la différence qu'elle prête une importance capitale à la succession entre états de SL et de SP dans la consolidation de la mémoire et propose un double rôle de ces phases de sommeil. Une diminution de la force des connexions aurait tout d'abord lieu au cours du SL, diminution qui entraînerait un effacement des connexions « superflues ». Les connexions supportant les informations utiles seraient par la suite renforcées et intégrées dans le savoir sémantique au cours du SP (Ambrosini and Giuditta, 2001; Giuditta et al., 1995). La succession des différentes phases de sommeil entraînerait alors une augmentation du ratio signal/bruit (utile/superflue) permettant l'oubli des informations inutiles et le renforcement des informations utiles. L'oubli serait supporté par les oscillations lentes du SL, tandis que la consolidation serait due aux oscillations rapides du SP couplées à la présence de facteurs de transcription (Giuditta et al., 1995). Chez le rongeur, plusieurs études vont dans le sens de cette hypothèse (Ambrosini et al., 1988, 1992; Giuditta et al., 1995), en montrant par exemple une corrélation positive entre le nombre d'épisodes de SL suivis de SP et les performances lors d'une tâche d'évitement actif (Langella et al., 1992). À l'inverse, une corrélation négative entre nombre d'épisodes de SL non suivis de SP et les performances est observée, suggérant un rôle du SL dans l'affaiblissement des connexions. D'autre part, certaines études prenant en considération le sommeil de transition (ST) suggèrent fortement un rôle primordial de ce stade de sommeil dans l'acquisition d'une tâche d'évitement actif (Ambrosini and Giuditta, 2001; Mandile et al., 2000; Vescia et al., 1996).

Les hypothèses « globales » présentées ici prêtent un rôle général du sommeil dans la régulation de la force des connexions synaptiques, qui aurait alors un rôle passif dans la consolidation de la mémoire par l'augmentation du ratio signal/bruit. Cependant, ces hypothèses ne prennent pas en compte l'hétérogénéité de la mémoire, et le fait que certaines formes de mémoires semblent dépendre de différentes phases de sommeil. D'autre part, des évidences de mécanismes spécifiques au cours du sommeil, tels que la réactivation de certaines traces mnésiques, amènent à considérer un rôle plus actif du sommeil dans la consolidation mnésique.

(2) Réactivations au cours du sommeil et consolidation systémique active

Le point central du modèle de consolidation systémique active repose sur l'existence de réactivations des traces mnésiques qui ont été observées au cours du sommeil. La plupart des études de réactivation s'intéressent aux cellules de lieu de l'HPC. Les cellules de lieu sont des neurones de l'HPC dont la fréquence de décharge augmente drastiquement lors du passage de l'animal dans une zone précise de son environnement. L'ensemble des cellules de lieu permet donc une représentation spatiale précise de la position de l'animal dans son environnement (Burgess et al., 1998). Les premiers à mettre en évidence une réactivation de ces cellules au cours du sommeil furent Pavlides et Winson (Pavlides and Winson, 1989), et de nombreuses études ont depuis observé le même phénomène (Lee and Wilson, 2002, 2004; Nádasdy et al., 1999). Plus précisément, c'est le pattern d'activation entre les différentes CL qui semble se répéter, comme révélé par l'enregistrement en parallèle de multiples CL de l'aire dCA1 chez le rat (Wilson and McNaughton, 1994). Ces réactivations sont observées au cours du SL, principalement au cours des *sharp-waves ripples* (SW-R; (Kudrimoti et al., 1999; Nakashiba et al., 2009; O'Neill et al., 2008). Des réactivations sont également observées dans d'autres régions que l'HPC, comme dans le cortex préfrontal médian (CPFm). Ainsi, après l'acquisition d'une nouvelle règle dans un test de labyrinthe en Y chez le rat, une réactivation du pattern de décharge relié à l'apprentissage est observé dans le CPFm au cours du SL (Peyrache et al., 2009). De manière intéressante, cette réactivation survient environ 40 ms après l'occurrence de SW-R dans l'HPC, suggérant que la réactivation corticale serait guidée par l'activité hippocampique. Une autre étude utilisant une tâche spatiale chez le rat révèle une réactivation des neurones du CPFm, observée préférentiellement durant les périodes de SL riches en fuseaux et complexes K (Johnson et al., 2010). Les études citées ci-dessus s'intéressaient aux réactivations neuronales au cours du SL, et assez peu d'évidences existent concernant des phénomènes de réactivation au cours du SP. Quelques études semblent cependant révéler des réactivations neuronales au cours du SP (Hennevin and Hars, 1985; Hennevin et al., 1995; Louie and Wilson, 2001; Pavlides and Winson, 1989; Poe et al., 2000, 2010). De manière intéressante, la réactivation

des neurones du dCA1 semblent glisser peu à peu des pics vers les creux du rythme thêta, au fur et à mesure que les rats se familiarisent avec l'environnement (Poe et al., 2000). Comme il avait précédemment été montré que la décharge des neurones pendant le pic ou le creux du rythme thêta provoquaient respectivement une potentialisation ou une dépression synaptique (Hölscher et al., 1997), ce résultat suggère que les réactivations au cours du SP qui suit cet apprentissage pourraient être liées au désengagement de l'HPC observé lors de la consolidation systémique de cet apprentissage.

De nombreuses évidences révèlent donc des processus de réactivation des traces mnésiques au cours du sommeil, et une question importante qui persiste est de déterminer le rôle fonctionnel de ces réactivations. Une bonne évidence d'un rôle de ces réactivations dans la consolidation mnésique provient d'une étude dans laquelle les auteurs sont parvenus à induire une préférence de place chez la souris (de Lavilléon et al., 2015). Dans cette étude, les auteurs stimulaient automatiquement le circuit de la récompense (*medial forebrain bundle* ou *MFB*) pendant la réactivation spontanée d'une CL particulière au cours du SL, créant ainsi une association artificielle entre la récompense et la zone de décharge (champ) de la CL. Par la suite, l'animal présentait une forte préférence de place pour le champ de la CL, suggérant fortement l'implication de la réactivation des CL dans la consolidation de la mémoire spatiale. Une autre évidence d'un rôle fonctionnel des réactivations au cours du sommeil provient d'une étude dans laquelle les *SW-R* étaient inhibées au cours du SL post-apprentissage (Nakashiba et al., 2009). Le blocage des *SW-R* entraînait une forte altération de la réactivation des neurones de dCA1 ainsi qu'un déficit des performances lors du rappel d'un CPc, suggérant un lien entre *SW-R*, réactivation et consolidation.

L'ensemble des évidences de réactivations neuronales au cours du sommeil et de leurs implications comportementales ont donc permis de développer un modèle de consolidation systémique active au cours du sommeil. L'idée centrale de ce modèle est que les réactivations neuronales ayant lieu au cours du SL entraîneraient le transfert des traces mnésiques vers les sites corticaux de stockage à très long terme de la mémoire (Rasch and Born, 2013). En accord avec l'hypothèse séquentielle, cette réorganisation nécessiterait ensuite une stabilisation de cette trace au sein de ces réseaux par renforcement des connexions synaptiques ayant lieu au cours du SP. En résumé, les informations initialement

encodées dans un réseau hippocampo-cortical seraient peu à peu transférées vers des sites corticaux, et notamment vers le CPFm, au cours des épisodes de *SW-R* et des fuseaux du SL. Les synapses ainsi "marquées" seraient ensuite renforcées grâce au rythme thêta et à l'activation de nombreux mécanismes de plasticité au cours du SP (Prince and Abel, 2013; Ravassard et al., 2015). Le SL et le SP joueraient ainsi un rôle complémentaire dans la consolidation de la mémoire permettant la consolidation à long terme de la mémoire. L'importante activation corticale au cours du SP (Niethard et al., 2016; Renouard et al., 2015) ainsi que le glissement des réactivations hippocampiques du pic vers le creux des oscillations thêta (Poe et al., 2000) suggèrent que le SP soit particulièrement impliqué dans le désengagement hippocampique et l'implication croissante du cortex observés lors de la consolidation systémique à très long terme. Mais cela restait à démontrer et ce fut donc l'objectif principal de ce travail de thèse que je vais vous décrire maintenant.

Dans les pages qui suivent sont exposés les résultats de mes travaux de thèse qui ont consisté essentiellement à répondre à la problématique exposée ci-dessus. Dans un premier chapitre, nous verrons dans quelle mesure une privation courte de SP réalisée immédiatement après l'apprentissage influence la consolidation à très long terme (30 jours) d'un CPc. Ce chapitre répond aux objectifs 1, 2 et 3 décrits en tout début de ce manuscrit. La première partie de ce chapitre est construite sous la forme d'un article à soumettre prochainement. La deuxième partie de ce même chapitre présente les résultats complémentaires de cet article, qui concernent principalement l'objectif 3, mais présentent également une analyse plus poussée du sommeil post-apprentissage. Dans un second chapitre, nous présenterons les travaux de ma thèse qui répondent à l'objectif 4 décrit en début de manuscrit, à savoir l'étude des modifications de la transmission glutamatergique dans le CPFm des souris H/Rouen. Enfin, nous terminerons ce manuscrit par une discussion générale des résultats et une conclusion sur l'ensemble des travaux de cette thèse.

CHAPITRE I

ETUDE DE L'INFLUENCE DES PREMIERES HEURES DE SOMMEIL PARADOXAL POST-APPRENTISSAGE SUR LA CONSOLIDATION A TRES LONG TERME D'UNE MEMOIRE DE PEUR CONTEXTUELLE CHEZ LA SOURIS

I. Article

Post-Learning Paradoxical Sleep Promotes Reorganization of Limbic and Cortical Networks Associated with Consolidation of Remote Fear Memory in Mice

Rosier Marius^{1,2}, Le Barillier Léa^{1,2}, Meunier David^{2,3}, El Yacoubi Malika^{1,2}, Malleret Gaël^{1,2}, Salin Paul-Antoine^{1,2}

Affiliations:

1 Forgetting and cortical dynamics, Lyon Neuroscience Research Center, University Lyon 1, F-69008 Lyon, France

2 Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Unité Mixte de Recherche 5292 ; Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Unité 1028

3 Dycog, Lyon Neuroscience Research Center, Hospital Center Le Vinatier, 69500 Bron, France

Correspondance should be addressed to Dr. Paul A Salin, Forgetting and cortical dynamics Team, Centre de Recherche en Neurosciences Lyon (CRNL), CNRS UMR 5292 - Inserm U 1028, Université Lyon 1, Faculté de Médecine Laënnec, 7-11 rue G. Paradin, 69372 Lyon Cedex 08, France. Paul.salin@sommeil.univ-lyon1.fr.

ABSTRACT

Paradoxical sleep has been shown to play an important role in memory, and in particular in emotional memory processes. In the present study, we tested whether post-learning PS contributes to the long-term consolidation of remote fearful memory in mice. By using an automated method of PS deprivation during 6 hours after contextual fear conditioning, we found that PS deprivation impaired the recall of remote (30 days) - but not recent (24 hrs) - memory of this conditioning. Using as a neuronal marker of activity the immediate early gene Early Growth Response 1 (Egr1) in limbic cortical and subcortical areas involved in memory processing, we also showed that the neuronal populations of the superficial layers of the anterior cingulate cortex were less activated during the retrieval of remote memory after post-learning PS deprivation. In contrast, after such deprivation, retrieval of remote memory activates several areas involved in emotional processing such as the CA1 area of the ventral hippocampus, the basolateral area of the amygdala and the superficial layers of the ventral orbitofrontal cortex. By performing graph-theoretical analyses, we also revealed that post-learning PS is required to promote in time the reorganization of the functional connections between limbic areas in order to reduce the level of global activity in this network. These findings pinpoint a role for PS in the systemic long-term consolidation of remote memory.

INTRODUCTION

Episodic memories can last for a lifetime, especially when they are related to emotional events. Although one may be under the impression that these memories remain stable over time, it has been shown that their biological substrates can be deeply reorganized with time promoting the consolidation of the memory trace (Frankland and Bontempi, 2005; Winocur et al., 2007). This transformation of the engram had been studied in both humans and animals, and studies suggest that a stronger reactivation of neocortical neuronal networks is observed during recall of remote memories than for recall of recent memories (Cullen et al., 2015; Do-Monte et al., 2015; Frankland and Bontempi, 2005; Frankland et al., 2004; Kim and Fanselow, 1992; Maviel et al., 2004; Scoville and Milner, 1957; Sterpenich et al., 2009; Walters and Zovkic, 2015; Wheeler et al., 2013; Winocur and Moscovitch, 2011). This process called systemic consolidation is thought to represent the neuronal basis of memory transformation (Frankland and Bontempi, 2005; Winocur and Moscovitch, 2011). The first evidence of systemic consolidation was the observation of a temporally graded retrograde amnesia in patients suffering from medial temporal lobe lesions such as HM (Scoville and Milner, 1957). This observation led to the idea of a progressive disengagement of the hippocampus (HPC) over time, confirmed thereafter by several studies, especially those using contextual fear conditioning in rodents (Frankland et al., 2004; Kim and Fanselow, 1992). This progressive disengagement of the hippocampus would be accompanied by a progressive engagement of neocortical regions, and particularly of the prefrontal cortex (Bontempi et al., 1999; Cullen et al., 2015; Frankland and Bontempi, 2005; Frankland et al., 2004; Goshen et al., 2011; Takashima et al., 2006, 2009; Wheeler et al., 2013). Since then however, other studies have shown an involvement of the HPC even at remote delays (Goshen et al., 2011; Nadel and Moscovitch, 1997; Winocur et al., 2009). Goshen and

colleagues thus showed that recall of remote contextual fear memory is supported by the dorsal HPC (dHPC) and the anterior cingulate cortex (ACC), an area of the medial prefrontal cortex (mPFC), as the inactivation of either one of these structures impaired recall of remote long-term memory. These results suggest that the consolidation of remote long term-memory involves a balanced reorganization of cortico-hippocampal networks instead of an all or none hippocampal disengagement and neocortical activation as initially proposed by the multiple trace theory (Moscovitch et al., 2006; Nadel and Moscovitch, 1997; Winocur and Moscovitch, 2011).

A largely accepted hypothesis is that post-training sleep plays an important role in memory consolidation (Diekelmann and Born, 2010; Rasch and Born, 2013). In humans, it has been shown that retrieval of remote memory recruits different networks depending on whether subjects were sleep deprived or not after learning (Sterpenich et al., 2009). Sleep can be segregated into two different stages: slow wave sleep (SWS) and paradoxical sleep (PS, also called rapid eye movement sleep or REM sleep). Based on their electrophysiological and neurochemical differences, these two stages are supposed to play different roles on different types of memory (Diekelmann and Born, 2010; Rasch and Born, 2013). PS has thus been closely linked to emotional memory processes (Genzel et al., 2015; Goldstein and Walker, 2014), and several studies in both humans and animals have shown a role for post-learning PS in emotional memory consolidation (Boyce et al., 2016; Nishida et al., 2009; Popa et al., 2010; Ravassard et al., 2016). However, until now, none of these studies has examined whether post-learning PS plays a role in the consolidation and systemic reorganization of remote memory.

Several studies have demonstrated the crucial role played by PS in the expression of long term potentiation (LTP), a form of long term synaptic plasticity critical for memory consolidation (Calais et al., 2015; Prince and Abel, 2013; Ravassard et al., 2016; Sil'kis, 2009). Based on several studies (Dolcos et al., 2004, 2005; Yoo et al., 2007) and on the particular physiology of PS (involving a low level of adrenergic transmission, but a high level of cholinergic activity; Diekelmann and Born, 2010; Saper et al., 2010), Walker and colleagues have suggested that sleep exerts a dual role in memory and forgetting (Goldstein and Walker, 2014; Walker and van der Helm, 2009a). The "*Sleep to Forget, Sleep to Remember*" hypothesis thus poses that PS could erase ("forget") the emotional tone associated with a particular emotional/traumatic event while promoting at the same time the consolidation of the declarative/contextual aspects of this memory. This could explain why, in non-pathological conditions (unlike depression or post-traumatic stress disorder), one is able to remember a negative experience without feeling emotional or traumatized by it. However, conflicting results had been obtained while trying to test this hypothesis (Groch et al., 2013; van der Helm et al., 2011). Here, we tested the role of post-learning PS in the consolidation of recent or remote contextual fear memory in mice tested 24h or 30 days after conditioning. For this purpose, mice were subjected to a selective PS deprivation during 6 hours following conditioning using an automated and non-stressful deprivation method (Libourel et al., 2015). Our results reveal for the first time that such a deprivation is sufficient to specifically impair future recall of remote - but not recent- fear memory, as well as the network of brain structures involved in this recall. Our findings thus reveal a crucial role of post-learning PS in initializing systemic consolidation for remote memory consolidation, and suggest that PS plays an important role in excitability homeostasis which may facilitate memory performance.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

All experiments were conducted on male C57Bl/6J mice (Charles River) between 11 and 13 weeks of age. Animals were housed in groups of two to four mice *per* cage for one week between reception and surgery. Animals had free access to food and water in a room maintained on a mean temperature of 22°C and on a 12:12 light/dark cycle (light phase between 8:00 am and 8:00 pm). The animal care and treatment procedures were in accordance with the regulations of the local (Lyon 1 University DR2013-47) and European (2010/63/EU) ethics committee for the use of experimental animals.

Surgery, polysomnographic recordings and vigilance states quantification

One week after reception, animals were implanted with electroencephalographic (EEG) and electromyographic (EMG) electrodes in order to monitor their vigilance state. They were anesthetized with an intraperitoneal injection of a ketamine (Virbac, 1 mg/kg) and xylazine (Rompun 2%, 0.5 mg/kg) cocktail. Three EEG electrodes made with steel screws (Plastics One Inc.) were implanted on parietal (AP - 2mm; ML +1.5 mm from Bregma) and frontal (AP + 2 mm; ML – 1 mm from Bregma) positions, as well as above the cerebellum for reference (AP – 6 mm; L = 0 from Bregma). Two EMG electrodes were implanted bilaterally in the neck muscles. EMG electrodes were small gold-coated pewter spheres. All electrodes were then plugged to a female connector (Plastic One; Bilaney, Düsseldorf, Germany) and cemented to the skull. Animals were then singly housed (isolated from one another) to prevent them from gnawing implants. They were given seven days to recover from surgery. During this recovery

period, they were habituated to be handled by the experimenter for 10 minutes *per day*, at least two days before being placed in the recording chamber. At the end of the recovery period, they were placed in a 20 cm diameter plexiglas barrel in a sound-attenuated, ventilated, and electrically isolated chamber (40 × 40 × 60 cm), and were connected by a tether to a rotating connector (Plastic One; Bilaney, Düsseldorf, Germany). EEG/EMG activity was amplified (500X), filtered (1 – 100 Hz for EEG and 10 – 100 Hz for EMG, Alpha-Omega, Israel) and recorded continuously using a CED Power1401 converter and Spike2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) or SleepScore (Viewpoint) softwares. EEG and EMG signals were sampled at 512 Hz. Animals freely moved in the recording chambers with free access to food and water and were housed with the same light/dark cycle and temperature than in the housing conditions. The vigilance states were manually scored *post hoc* in 5 s epochs using Spike2 and SleepScore softwares. Vigilance states were scored during five days: three days before fear conditioning (allowing for two days of habituation and one day of baseline) and for 24h after conditioning. Three vigilance states were discriminated: 1) wakefulness (Wk) characterized by strong muscular activity and fast oscillations on the EEG, 2) slow wave sleep (SWS) characterized by a weak muscle tone and slow oscillations (0-4 Hz) on the EEG, and 3) paradoxical sleep (PS) characterized by muscle atonia and theta (4-10 Hz) oscillations on the EEG (Ravassard et al, 2016).

Fear conditioning

Contextual fear conditioning (CFC) and recall sessions of this conditioning were conducted on 50 mice between 8:00 am and 9:00 am in a different room from the one they were sleep-recorded in. Animals were unplugged and kept in an opaque transfer cage between

three and five minutes before being moved in the experimental room and placed in the conditioning chamber. For training, mice were placed in a plexiglas conditioning chamber (25 × 25 × 35 cm, custom-made) that they were allowed to freely explore during four min prior the onset of the unconditioned stimulus (US), a 0.7 mA, 1 s duration electric footshock delivered through the grid floor. After an additional two min, mice were moved back to the recording room and placed in a barrel (30 cm of diameter x 50 cm) to be recorded and PS deprived, or not. CFC was tested either 1 day (RECENT) or 30 days (REMOTE) after training to assess the strength of their memory. During testing, mice were re-exposed to the conditioning chamber (context) for six consecutive minutes without footshock delivery. Freezing behavior, defined as a complete absence of movement, was evaluated before (pre-shock) and immediately after electric foot-shock delivery (post-shock), as well as during testing (contextual recall) by a custom video-based software (FearFactor) developed under Matlab[®] (Mathworks). Camera (PointGreyFirefly MV) had a definition of 640 × 480 pixels at 15 frames *per second*, and video resolution of 11.5 pixels/cm. The animal actimetry was estimated by calculating the number of pixels whose intensity changed more than 10 gray levels between two successive frames. The threshold of number of changing pixels/sec was determined compared to manual scoring of the first animals. Video actimetry was performed with a side view for better detection. The conditioning chamber and the opaque transfer cage were cleaned after each training/testing session using respectively 70% ethanol or water. The same procedures were carried out on two control groups, except that animals from these groups did not receive any footshock (RECENT no-shock and REMOTE no-shock groups). We used these animals as controls, instead of home cage controls, for immunohistochemistry experiments as done previously in several studies (Cullen et al., 2015; Frankland et al., 2004).

Paradoxical sleep deprivation

Immediately after conditioning, mice were placed in a barrel in the recording chamber and half of them were PS deprived for 6 hours (RECENT PSD, REMOTE PSD, RECENT no-shock PSD and REMOTE no-shock PSD groups). Deprivation was performed with an automated method (Libourel et al., 2015). Briefly, this method relies on an online EEG and EMG signals analysis with the software (Spike2 or SleepScore). Several discriminant parameters of EEG and EMG recordings are calculated based on manual scoring of the recordings from the same animal in order to automatically assign a vigilance state (Wk, SWS or PS) for every 1s epoch (see details in Libourel et al., 2015). When a PS episode is detected, a Transistor-Transistor-Logic (TTL) signal is sent to a stimulation box (Libourel et al., 2015) through a software (Shaker) developed under Matlab®, waking up the animal by shaking the floor of the barrel *via* an electromagnet on its base. This technique is much less aversive than other methods such as an upside down flowerpot located in a bucket of water (Mendelson et al., 1974) which induces stress by immobilization and due to the presence of water surrounding the platform (Pokk and Väli, 2002). This method also prevents direct exposure to the experimenter (Kopp et al., 2006) that could also produce stress.

Immunohistochemistry

Ninety minutes after the recall session, mice were deeply anesthetized with an intraperitoneal lethal injection of pentobarbital (0.2 mL; CEVA Santé animale). They were perfused successively at 7mL/min with 30 mL of ringer lactate with heparin (choay®, 1 mL/L) at room temperature then with 50 mL of cold (4°C) 4% paraformaldehyde (PFA; Carlo Erba) diluted in a phosphate buffer (0.1M) at pH 7.4 the day before. Brain were then extracted and

kept 24h in PFA 4% at 4°C then at least 2 days in a 30% sucrose solution diluted in PB 0.1M with 0.1% sodium azide (Millipore). Just before freezing, a small cut was made on the ventro-medial part of the brain left hemisphere in order to identify the hemispheres for immunohistochemistry analysis. Brains were then frozen at -50°C in 2-methylbutane (Sigma Aldrich) for two minutes and conserved less than one week at -20°C before being cut in 30µm thick coronal sections at -20°C with a cryostat (Leica). Brain slices were collected in a phosphate saline buffer 0.02M with 0.3% triton (PBST), and then transferred for one hour in PBST with 0.03% H₂O₂. Slices were conserved in PBST with 0.1% sodium azide (PBST_{AZIDE}) until immunohistochemistry. Egr1 immunohistochemistry was conducted on all brains the same day to avoid variability. Slices were incubated with Egr1 rabbit polyclonal antibody (1:5000 in PBST_{AZIDE}; Santa Cruz Biotechnology, ref sc-189) for five days at 4°C with constant rotation, then washed and incubated with goat anti-rabbit biotinylated IgG (1:1000 in PBST, VectorLab, ref BA-1000) for 24 hours at 4°C with constant rotation. Staining was revealed using the avidin-biotin peroxidase method (1:1000; ABC kit, VectorLab) coupled to diaminobenzidine (DAB; 5 mg/mL) as a chromogen. Egr1-positive neurons were quantified blindly using Mercator software (Explora Nova, France) on two to four sections for each structure. Because EEG implantation sometimes slightly damaged the brain, we quantified Egr1 expression in the right hemisphere for every structure except for the prefrontal, orbitofrontal and retrosplenial cortices and the claustrum, which were quantified on the left hemisphere. An optic density threshold was chosen to quantify the density of positively labeled nuclei *per* structure. Egr1-positive cell density was then normalized relative to the corresponding no-shock control group value taken as 100 % (for instance, REMOTE PSD mice value was normalized using REMOTE PSD no-shock mice values).

Statistical analysis

All statistical tests were performed using Anastats tools (AnaStats Scop ARL, RILLY SUR VIENNE, France). Normality and homoscedasticity were evaluated respectively with Shapiro-Wilks and Bartlett tests. Normally distributed data were compared using ANalysis Of VAriance (ANOVAs) and *post hoc* Student t-tests. Non-normally distributed data were compared using Mann-Whitney or paired Wilcoxon tests. Immunohistochemical data were analyzed using two-way ANOVAs for independent measures with Conditioning (shock *versus* no-shock) or Deprivation (PSD *versus* non-PSD) as main factors.

Correlation matrices

Within each group of conditioned animals, all pairwise correlations between Egr1⁺ cells density in all regions were determined by computing Fisher "r to z" transformation on the Pearson correlation coefficient. Pearson correlation coefficients were obtained from a vector size between 7 and 13 depending on the brain regions. Statistical comparison of each correlation of the matrices were performed by using a bootstrap analysis, *i.e.* randomly resampling data 100 times. Correlation matrices, graphs and statistical analysis were performed in python using the package `neuropype_graph` (https://github.com/davidmeunier79/neuropype_graph). Graph properties were computed using `radatools` software (<http://deim.urv.cat/~sergio.gomez/radatools.php>) and displayed using `PajekXXL` software.

Graph-theoretical analysis and network construction

Graph-theoretical measures were performed to characterize network properties from correlation matrices as in studies on functional or anatomical connectivity in humans (Bullmore and Sporns, 2009). Network properties were computed using the 10% strongest correlations in each group. Several parameters were calculated to characterize network properties. First, the *degree* of a node is equivalent to the number of connections of the node to all the others. The *shortest path length* corresponds to the minimum number of nodes that have to be passed to go from one node to another, and is the inverse of the *efficiency* (Rubinov and Sporns, 2010). The *average path length* is the mean of all shortest path length values for one given node. The *betweenness centrality* of a node is defined as the proportion of all shortest paths that pass through a given node. Finally, the *clustering coefficient* is defined as the fraction of the node's neighbors that are also neighbors of each other (Watts and Strogatz, 1998). Graphs were generated with PajekXXL software (<http://mrvar.fdv.uni-lj.si/pajek/>).

RESULTS

PS deprivation alters remote long-term memory

In order to assess the role of post learning PS on fear memory consolidation, we conditioned mice to fear a new context and immediately exposed them to a 6 hour-long PS deprivation. This short-term PS deprivation allowed the animals to rapidly recover from deprivation, to avoid non-specific effect from tiredness when tested for recent recall 24h later. PS amount was significantly reduced in REMOTE and RECENT PSD groups compared with PS amount the day before conditioning (figure 1B; baseline sleep at Zeitgeber Time (ZT) 0-6h represented by a horizontal line; RECENT PSD: $p < 0.01$; REMOTE PSD: $p < 0.001$) and to non-PSD groups ($p < 0.001$) during the deprivation period (ZT 0-6). As expected, this PS decrease was followed by an increase in PS amount during 4 hours compared with baseline sleep, indicating a PS rebound due to PS homeostasis (at ZT 6-8 and ZT 8-10). In addition, in non-PSD groups, fear conditioning was immediately followed by a transient 2 hours decrease in PS amount compared with baseline sleep (ZT 0-2; figure S1A-B). This conditioning-induced PS decrease was likely due to the stress felt by the animals after having been exposed to the electric footshock (Kim and Dimsdale, 2007; Sanford et al., 2010).

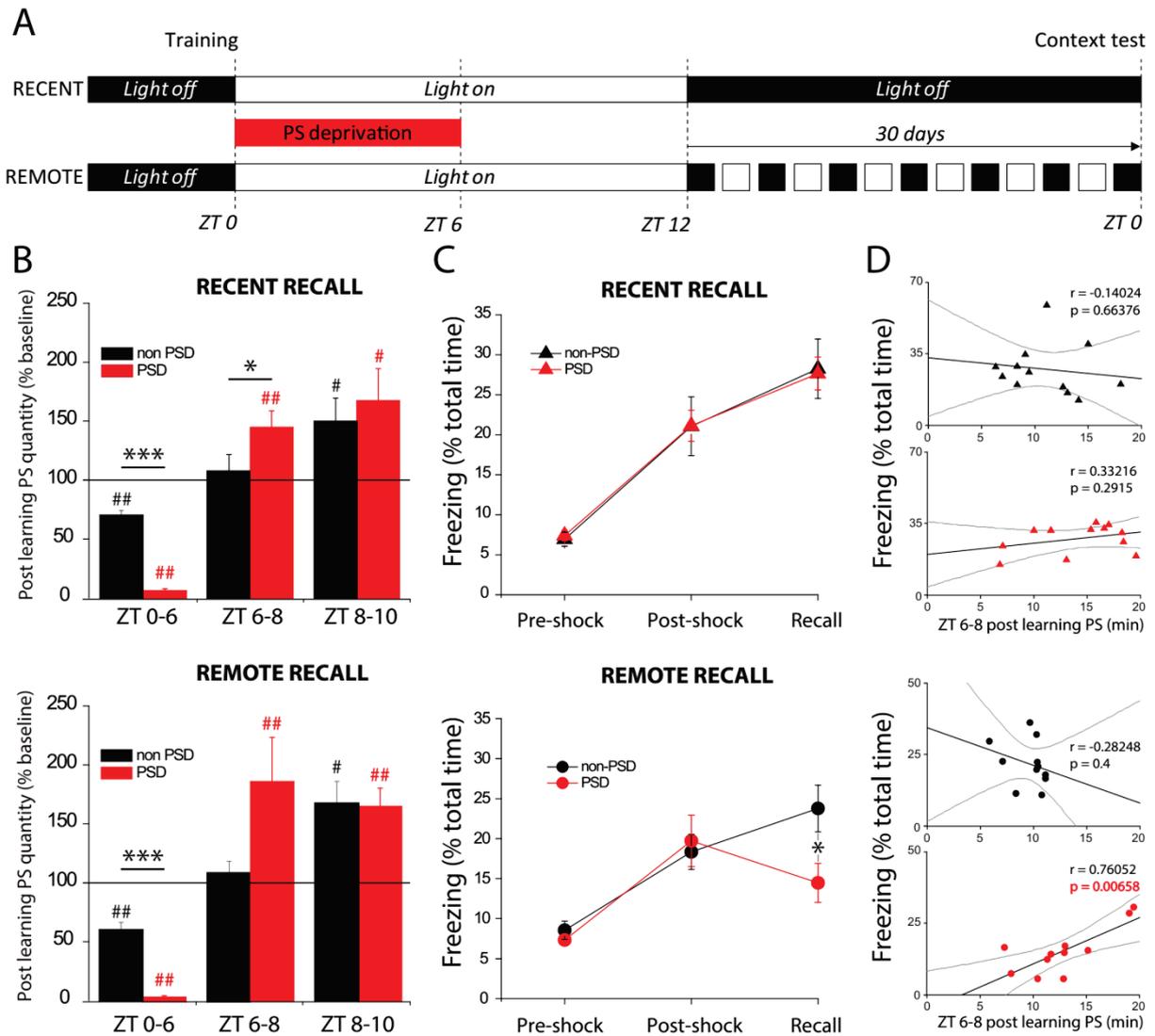


Figure 1. Selective role of post-learning paradoxical sleep on remote memory consolidation. **A.** Timeline of the protocol: PS deprived animals were subjected to a 6h PS deprivation immediately after training given at Zeitgeber 0 (8:00 am, light-on onset). The training protocol consisted of a single electric footshock (0.7 mA during 1s). Mice from the RECENT group were tested 24h later (top timeline), and mice from the REMOTE group were tested 30 days later (bottom timeline). **B.** Post learning PS quantities during the 10 hours following learning (ZT 0-10), expressed as a percentage of the day before (baseline) for the RECENT group (top; $n = 12$ (non-PSD), $n = 12$ (PSD)) and the REMOTE group (bottom; $n = 11$ (non-PSD), $n = 11$ (PSD)). A significant decrease of PS quantities is observed in PSD groups during deprivation (ZT 0-6), followed by an increase (rebound) during the 4 hours post deprivation. An increase in PS is also observed in non-PSD animals between 8 and 10 hours after fear conditioning (ZT 8-10) following the immediate (ZT 0-6) PS decrease due to training. **C.** Freezing of mice during the two training phases (pre-shock and post-shock) and during retrieval (recall) for the RECENT group (top, triangles; $n = 14$ (non-PSD), $n = 12$ (PSD)) and the REMOTE group (bottom, circles; $n = 12$ (non-PSD), $n = 12$ (PSD)). Results are presented as mean \pm SEM values. Freezing amount during recall is decreased in PSD compared to non-PSD animals in the remote condition. **D.** Regression curves between amount of freezing during test session (Y axis) and PS quantities during the first 2 hours of

rebound (ZT 6-8; X axis) for the RECENT groups (two top scatter plots : non-PSD (black triangles) and PSD (red triangles)) and the REMOTE groups (two bottom scatter plots : non-PSD (black circles) and PSD (red circles)). Grey lines represent the 95% confidence interval of the linear regression. A significant positive correlation between PS quantities and freezing is observed only for the REMOTE PSD group *: *significant difference between PSD and non-PSD* (* < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001); #: *significant difference compared to baseline* (# < 0.05, ## < 0.01)

In non-PSD groups, this conditioning-induced PS decrease was also followed by a significant increase in PS amount compared with baseline sleep, an observation in agreement with previous studies (Hennevin et al., 1974; Leconte and Hennevin, 1973; Portell-Cortés et al., 1989; Smith et al., 1974, 1977, 1980). No difference in slow wave sleep amount was observed between non-PSD and PSD animals, demonstrating the selectivity of the PS deprivation (figure S1C-D).

We then assessed the effect of PS deprivation on recent long-term memory. No difference was observed between PSD and non-PSD groups when memory was tested 1 day after conditioning (figure 1C; $p = 0.894$; $n = 14$ non-PSD, $n = 12$ PSD). In contrast with recent long term memory, PS deprivation impaired remote memory performance (expressed as a percentage of time spent in freezing) in PSD mice compared to non-PSD animals (figure 1B red; $p = 0.02277$; $n = 12$ non-PSD, $n = 12$ PSD). Moreover, a positive correlation between PS amount at ZT 6-8 (during PS rebound) and the level of freezing was found in the remote PSD group (figure 1D; Pearson correlation coefficient $r = 0.76052$; $p\text{-value} = 0.00658$). Such correlation was not observed in other groups, suggesting a specific role of PS rebound on remote memory consolidation. Taken together, these results strongly support a selective role for post learning PS in the long-term consolidation of remote memory.

Brain activity during retrieval

We next assessed the impact of PS deprivation on the organization and reorganization of cortical and subcortical networks involved during the consolidation of RECENT or REMOTE memory. In order to characterize neuronal populations activated during retrieval of these two types of memories, we used the immediate early gene Egr1 as an indirect marker of neuronal activity. Using this marker, we then blindly analyzed the distribution of Egr1 positive neurons in 12 cortical and sub-cortical structures divided in 27 sub-regions following classical anatomical criteria (Paxinos and Franklin, 2nd edition). The density of Egr1 positive neurons in test groups was quantified as a percentage relative to the density of non-conditioned animals (not exposed to footshock but solely to the conditioning context) in order to subtract basal neuronal activity associated with the sole exposure to the conditioning context (Cullen et al., 2015; Frankland et al., 2004). First, in all areas except one, we did not observe an effect of PS deprivation in the density of Egr1 positive neurons in non-conditioned animals (see supplementary figure S4). We then examined the effect of post-learning PS deprivation in the dorsal hippocampus (dHPC) and related networks of conditioned animals. ANOVAs showed a significant effect of Conditioning on the activity of the dHPC (dCA1: $F_{3,41} = 27.23$, $p < 0.0001$; dCA3: $F_{3,41} = 12.34$, $p = 0.0011$; DG: $F_{3,41} = 14.63$, $p = 0.00044$) in the RECENT groups (figure 2B, top left). *Post hoc* t-tests revealed a significant increase in the density of Egr1 positive cell in the dCA1 and dentate gyrus (DG) compared with no-shock groups in both non-PSD and PSD groups (dCA1: $p = 0.0064$ (non-PSD), $p = 0.0001$ (PSD); DG: $p = 0.008$ (non PSD), $p = 0.026$ (PSD)). A significant increase in the density of Egr1 positive cells in the dCA3 was observed for non-PSD animals ($p = 0.002$, top right), whereas only a non-significant trend towards such increase was observed in the PSD group ($p = 0.0609$).

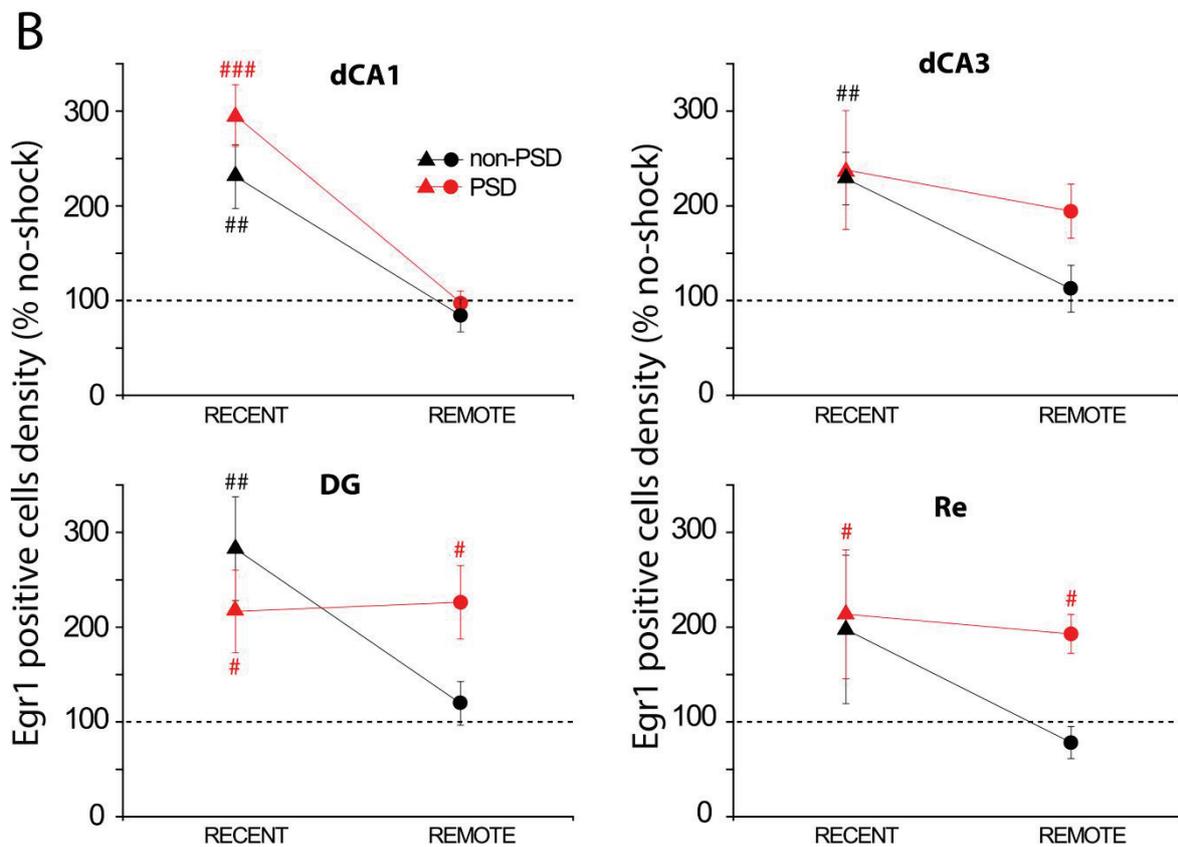
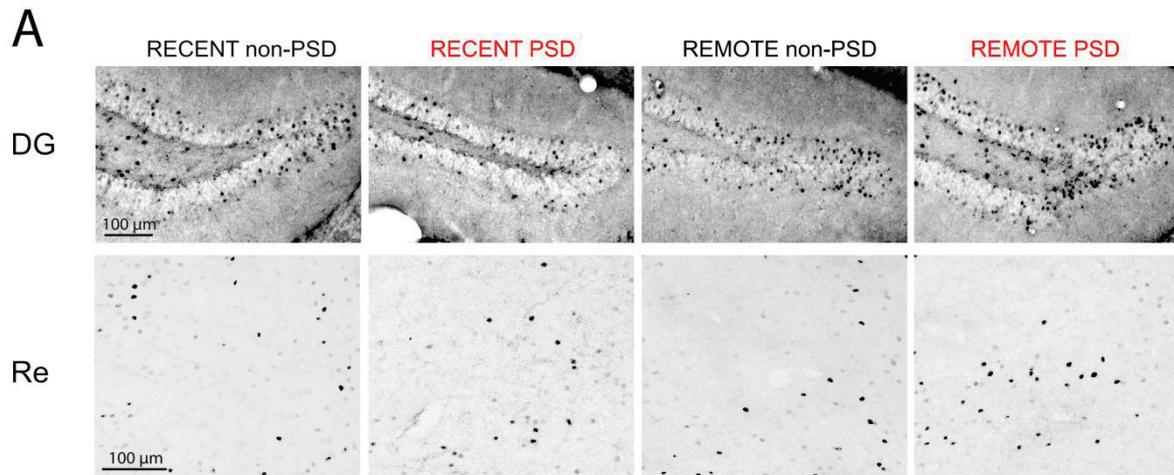


Figure 2. Egr1 expression in the dorsal hippocampus and the reuniens nucleus of the thalamus after retrieval of contextual fear conditioning. **A.** Photomicrographs showing Egr1 immunostaining in the dentate gyrus (DG) and the nucleus reuniens (Re) in the 4 experimental groups. **B.** Density of Egr1 positive cells expressed as a percentage of the no-shock groups value in dCA1 (top left), dCA3 (top right), dentate gyrus (DG, bottom left) and reuniens nucleus of the thalamus (Re, top right). In each plot, results are shown for non-PSD groups (black triangles (RECENT non-PSD, $n = 13$) and black circles (REMOTE non-PSD, $n = 11$)) and PSD groups (red triangles (RECENT PSD, $n = 11$) and red circles (REMOTE PSD, $n = 11$)). Results are presented as mean \pm SEM values. An overall hyperactivation of dorsal hippocampus is observed after RECENT recall. The dentate gyrus and the thalamic nucleus of

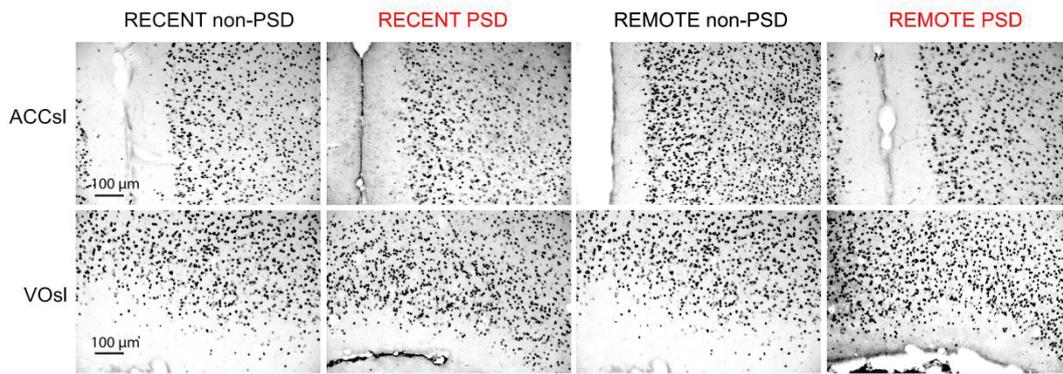
reuniens are hyperactivated in the REMOTE PSD group. #: significant difference compared to no-shock group (#: $p < 0.05$, ##: $p < 0.01$, ###: $p < 0.001$). dCA1/dCA3: CA1 and CA3 regions of dorsal Ammon's horn; DG: dorsal dentate gyrus; Re: nucleus reuniens.

In contrast, we did not find any increase in the density of Egr1 positive cells in the dCA1 when animals were tested 30 days after conditioning (REMOTE groups), whether animals were PS deprived or not (figure 2B). ANOVA revealed also a significant effect of Conditioning on DG activity in REMOTE animals ($F_{3,36}=5.70$, $p = 0.022$, figure 2B), but no significant effect of Deprivation ($F_{3,36}=3.05$, $p = 0.0895$). However, *post hoc* t-test revealed a significant increase in the density in the DG of PSD group compared with PS deprived no-shock controls ($p = 0.0267$). No significant effect of Deprivation ($F_{3,36}=1.99$, $p = 0.167$) or Conditioning ($F_{3,36}=3.40$, $p = 0.074$) was observed in dCA3 in REMOTE groups. We next investigated Egr1 expression in the nucleus reuniens since this thalamic nucleus is a major anatomical and functional relay between the dHPC and the medial prefrontal cortex (PFC) (Çavdar et al., 2008; Eleore et al., 2011; Griffin, 2015; Varela et al., 2014; Vertes, 2002), and is potentially involved in remote fear memory recall (Wheeler et al., 2013). A significant effect of Conditioning ($F_{3,32}=9.85$, $p = 0.0036$) but not of Deprivation ($F_{3,32}=1.53$, $p = 0.2253$) was observed on the nucleus reuniens activity during RECENT recall. *Post-hoc* t-test revealed a significant increase in activation of nucleus reuniens only in the PSD group ($p = 0.027$) whereas only a trend for such increase was observed in the non-PSD group ($p = 0.081$). A significant increase in Egr1 positive cells in the nucleus reuniens was observed in the REMOTE PSD group compared to no-shock group (ANOVA (Conditioning): $F_{3,33}=6.25$, $p = 0.0176$; *post hoc* t-test: $p = 0.0137$) but this hyperactivation failed to reveal a significant effect of PS Deprivation (ANOVA (Deprivation): $F_{3,33}=3.12$, $p = 0.0864$). Overall, these results suggest that the dHPC and its related structures might be hyper-activated during REMOTE memory recall in the PS

deprivation group. To further test this hypothesis, we next investigated PFC activity during recall.

We thus assessed the density of Egr1 positive cell in areas of the PFC involved in fear conditioning: the ventral orbitofrontal cortex (VO), the anterior cingulate (ACC), as well as the prelimbic (PL) and the infralimbic (IL) areas. We computed the density of labeled cells separately in the deep (V/VI) and superficial (II/III) layers of these areas. In the RECENT groups, ANOVAs revealed a significant effect of Conditioning on the activity of the deep layers of the prelimbic (PLdl) and infralimbic (ILdl) cortices ($F_{3,31} = 5.41$, $p = 0.027$ (PLdl); $F_{3,38} = 8.00$, $p = 0.008$ (ILdl)). *Post-hoc* student t-tests confirmed a significant increase in ILdl activity in the RECENT PSD group ($p = 0.038$) but the other differences remained non significant. A significant effect of Deprivation on the activity of the deep layers of the ventral part of the orbitofrontal cortex (VOdl) was revealed (ANOVA : $F_{3,35} = 4.40$, $p = 0.043$ (VOdl)) that remained non significant after *post-hoc* t-test (PSD vs non-PSD : $p = 0.066$). We did not find any difference in the density of Egr1 positive cells for these areas in the other brain regions in RECENT groups (ANOVAs (Deprivation): $F_{3,38} = 0.62$, $p = 0.437$ (ACCsl); $F_{3,32} = 0.04$, $p = 0.845$ (ACCdl); $F_{3,38} = 0.08$, $p = 0.778$ (PLsl); $F_{3,31} = 0.02$, $p = 0.887$ (PLdl); $F_{3,35} = 0.02$, $p = 0.887$ (ILsl); $F_{3,38} = 0.11$, $p = 0.737$ (ILdl); $F_{3,35} = 0.61$, $p = 0.44$ (VOsl);); ANOVAs (Conditioning): $F_{3,38} = 0.00$, $p = 0.945$ (ACCsl); $F_{3,32} = 1.92$, $p = 0.176$ (ACCdl); $F_{3,38} = 0.20$, $p = 0.66$ (PLsl); $F_{3,35} = 3.17$, $p = 0.084$ (ILsl); $F_{3,35} = 3.31$, $p = 0.078$ (VOsl); $F_{3,35} = 0.02$, $p = 0.887$ (VOdl))

A



B

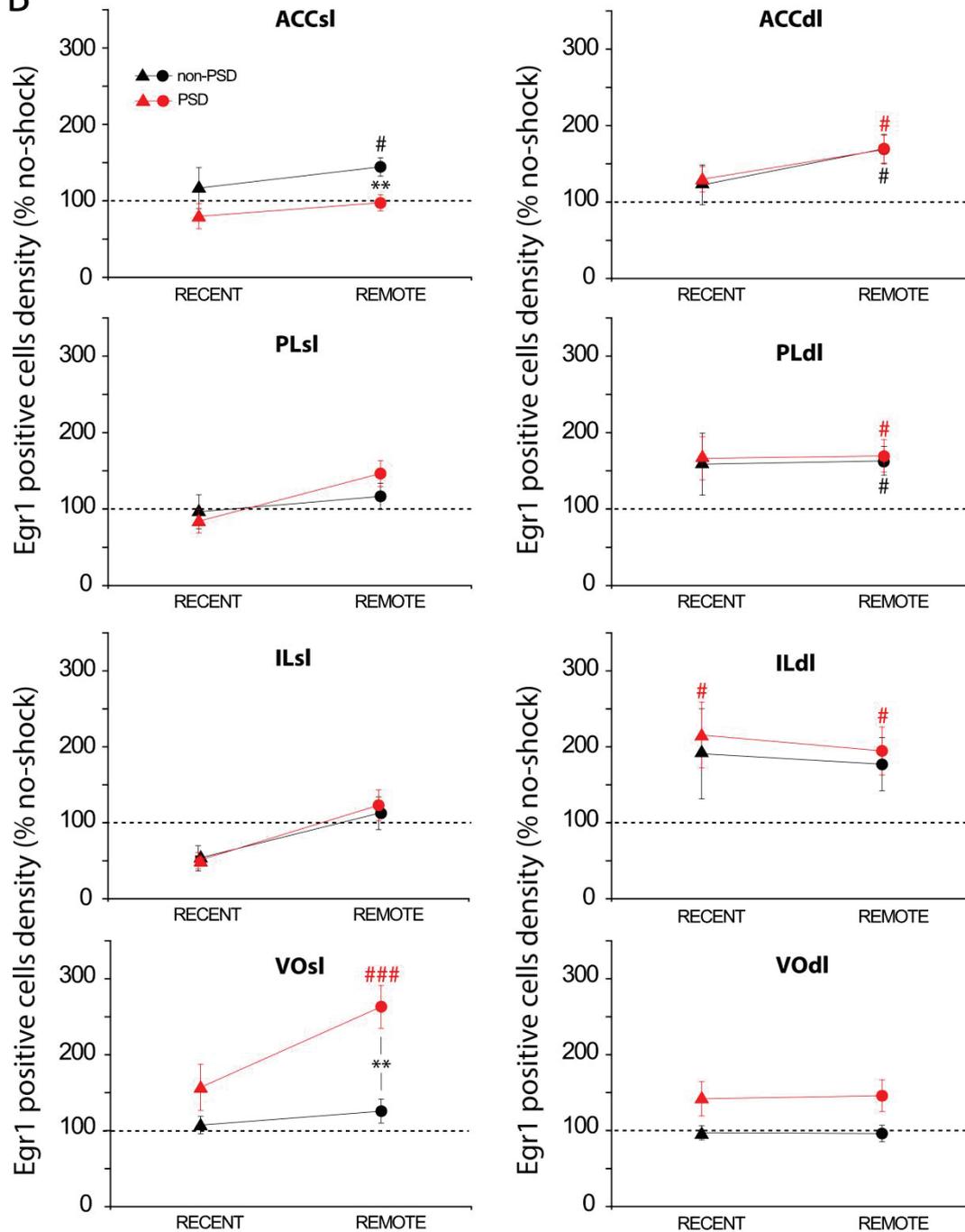


Figure 3. Egr1 expression in the prefrontal cortex after retrieval of contextual fear conditioning. A. Photomicrographs showing Egr1 immunostaining in the superficial layers of ACC (ACCsl) and VO (VOsl) in the four experimental groups **B.** Density of Egr1 positive cells expressed as a percentage of the no-shock groups value in the anterior cingulate cortex (ACC), prelimbic cortex (PL), infralimbic cortex (IL) and the ventral part of the orbitofrontal cortex (VO). The left columns show results in the superficial layers of the cortices (II/III, sl) and the right columns show results in the deep layers (V/VI, dl). In each plot, results are shown for non-PSD groups (black triangles (RECENT non-PSD, n = 13) and black circles (REMOTE non-PSD, n = 11)) and PSD groups (red triangles (RECENT PSD, n = 11) and red circles (REMOTE PSD, n = 11)). Results are presented as mean \pm SEM values. Hyper-activation of superficial layers of ACC (ACCsl) is observed only in the REMOTE non-PSD group, whereas superficial layers of VO (VOsl) are hyper-activated only in the REMOTE PSD group. *: significant difference between non-PSD and PSD groups (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$); #: significant difference compared to no-shock group (#: $p < 0.05$, ##: $p < 0.01$, ###: $p < 0.001$). ACC: anterior cingulated cortex; PL: prelimbic cortex; IL: infralimbic cortex; VO: ventral orbitofrontal cortex; ACCsl: superficial layers of ACC; VOsl: superficial layers of VO.

For REMOTE groups, ANOVAs revealed a significant effect of Deprivation ($F_{3,36} = 6.14$, $p = 0.018$), Conditioning ($F_{3,36} = 4.94$, $p = 0.0326$) and of the interaction between these two factors ($F_{3,36} = 6.14$, $p = 0.018$) on the density of Egr1 positive cell of the ACC superficial layers (ACCsl, figure 3B top left). *Post hoc* student t-test showed a significant increase in the density of Egr1 positive cell in the ACCsl in the non-PSD group compared with no-shock group ($p = 0.045$) and to PSD group ($p = 0.0086$). On the contrary, the density of Egr1 positive cells was increased in superficial layers of VO (VOsl) in REMOTE PSD animals compared to non-PSD and no-shock groups (ANOVA: $F_{3,28} = 5.45$, $p = 0.027$ (Deprivation); $F_{3,28} = 10.29$, $p = 0.0033$ (Conditioning); $F_{3,28} = 5.45$, $p = 0.027$ (Interaction); *post hoc* t-test: $p = 0.0012$ (vs non-PSD), $p = 0.0002$ (vs no-shock)). These effects of PS deprivation on Egr1 expression in the PFC were observed only in the ACCsl and VOsl. ANOVAs revealed also a significant effect of Conditioning in the density of Egr1 positive cells of deep layers of the ACC (ACCdl), PL (PLdl) and IL (ILdl) in both REMOTE non-PSD and PSD groups ($F_{3,35} = 13.54$, $p = 0.0008$ (ACCdl); $F_{3,35} = 10.56$, $p = 0.0026$ (PLdl); $F_{3,31} = 11.88$, $p = 0.0017$ (ILdl)). *Post hoc* t-tests showed a significant increase in Egr1 positive cells in the ACCdl and PLdl of both groups compared to no-shock

controls (ACC: $p = 0.0174$ (non-PSD), $p = 0.0149$ (PSD); PL: 0.0346 (non-PSD), $p = 0.021$ (PSD)), and in the ILdl of PSD animals only ($p = 0.0269$).

Altogether, the results in the dHPC, Reuniens and PFC suggest that few hours of post learning PS are critical to the future reorganization of the hippocampo-prefrontal network involved in the long-term consolidation of remote memory. We next measured Egr1 expression in several cortices known to be involved in memory processes: the agranular and granular retrosplenial cortices and the lateral entorhinal cortex. We also analyzed Egr1 expression in the claustrum, a major cortical input previously shown to be involved in cortical activation during PS (Renouard et al., 2015).

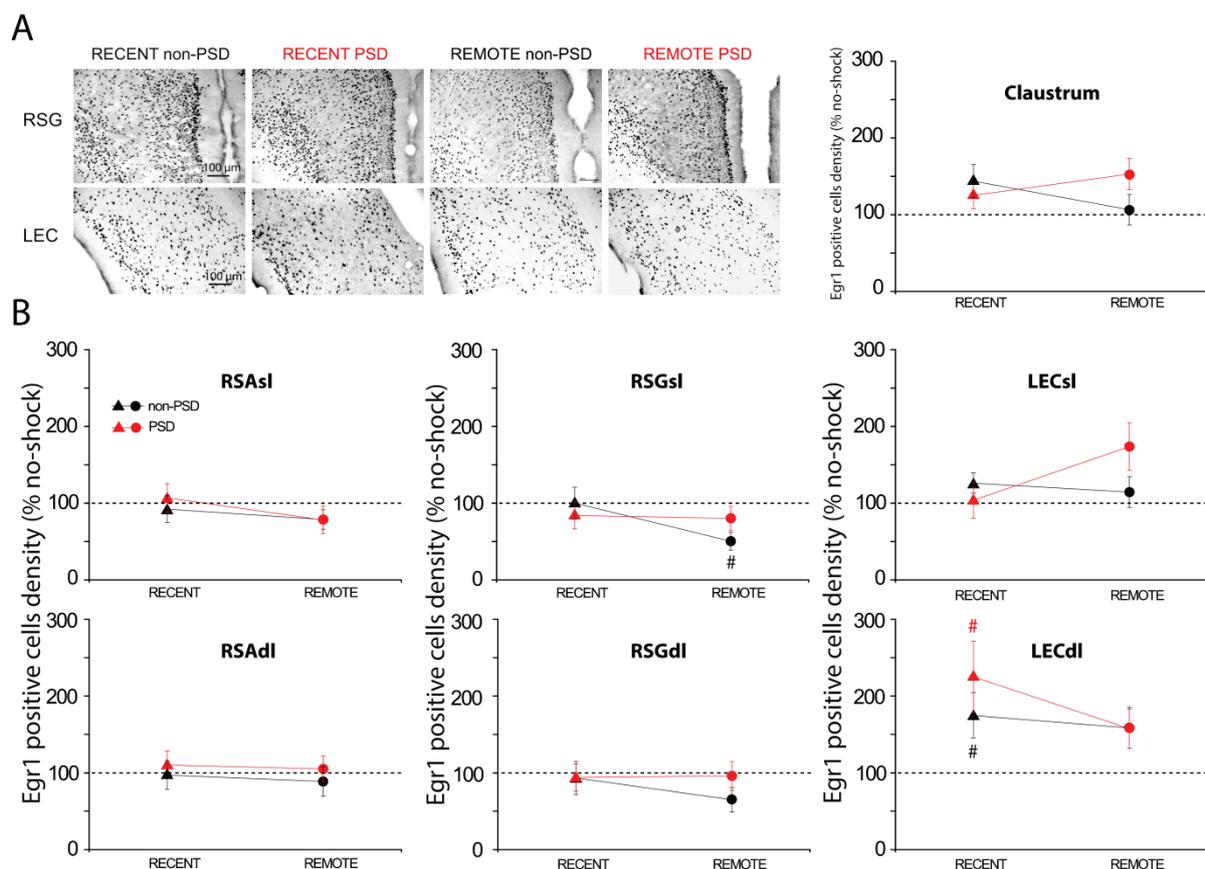


Figure 5. Egr1 expression in cortical network after retrieval of contextual fear conditioning. **A.** Photomicrographs showing Egr1 immunostaining in the retrosplenial granular cortex (RSG) and in the lateral entorhinal cortex (LEC) in the four experimental groups. **B.** Density of Egr1 positive cells expressed as a percentage of the no-shock groups value in the retrosplenial agranular (RSA) and granular cortices (RSG), in the lateral entorhinal cortex (LEC) and in the claustrum. The top line shows results in the superficial

layers of the cortices (II/III, sl) and the bottom line shows results in the deep layers (V/VI, dl). In each plot, results are shown for non-PSD groups (black triangles (RECENT non-PSD, n = 13) and black circles (REMOTE non-PSD, n = 11)) and PSD groups (red triangles (RECENT PSD, n = 11) and red circles (REMOTE PSD, n = 11)). Results are presented as mean \pm SEM values. We can see a significant hyper-activation of the deep layers of the lateral entorhinal cortex (LECdl) in the RECENT groups. A significant reduction of activity is observed in the superficial layers (II/III) of the granular retrosplenial cortex (RSG) in the REMOTE non-PSD group. #: $p < 0.05$ vs no-shock group. RSA: agranular retrosplenial cortex; RSG: granular retrosplenial cortex; LEC: lateral entorhinal cortex; Cla: claustrum.

ANOVA showed a significant effect of Conditioning on the activity of the LEC deep layers (V/VI) during RECENT recall (figure 5B; $F_{3,36} = 8.76$, $p = 0.0054$). *Post hoc* t-tests revealed an increase in the density of Egr1 positive cells in this region in both non-PSD ($p = 0.0462$) and PSD ($p = 0.0422$) conditions. In the REMOTE condition, ANOVA shows a significant effect of Conditioning on the density of Egr1 positive cells in the superficial layers (II/III) of the granular retrosplenial cortex ($F_{3,34} = 4.56$, $p = 0.04$). *Post hoc* t-test reveals a significant reduction of activity in this region in non-PSD animals ($p = 0.0346$), that is not observed in PSD animals ($p = 0.3993$). Thus PS deprivation prevented the apparent disengagement of granular retrosplenial cortex during remote recall but had a weaker effect on these cortical areas than on prefrontal cortical areas.

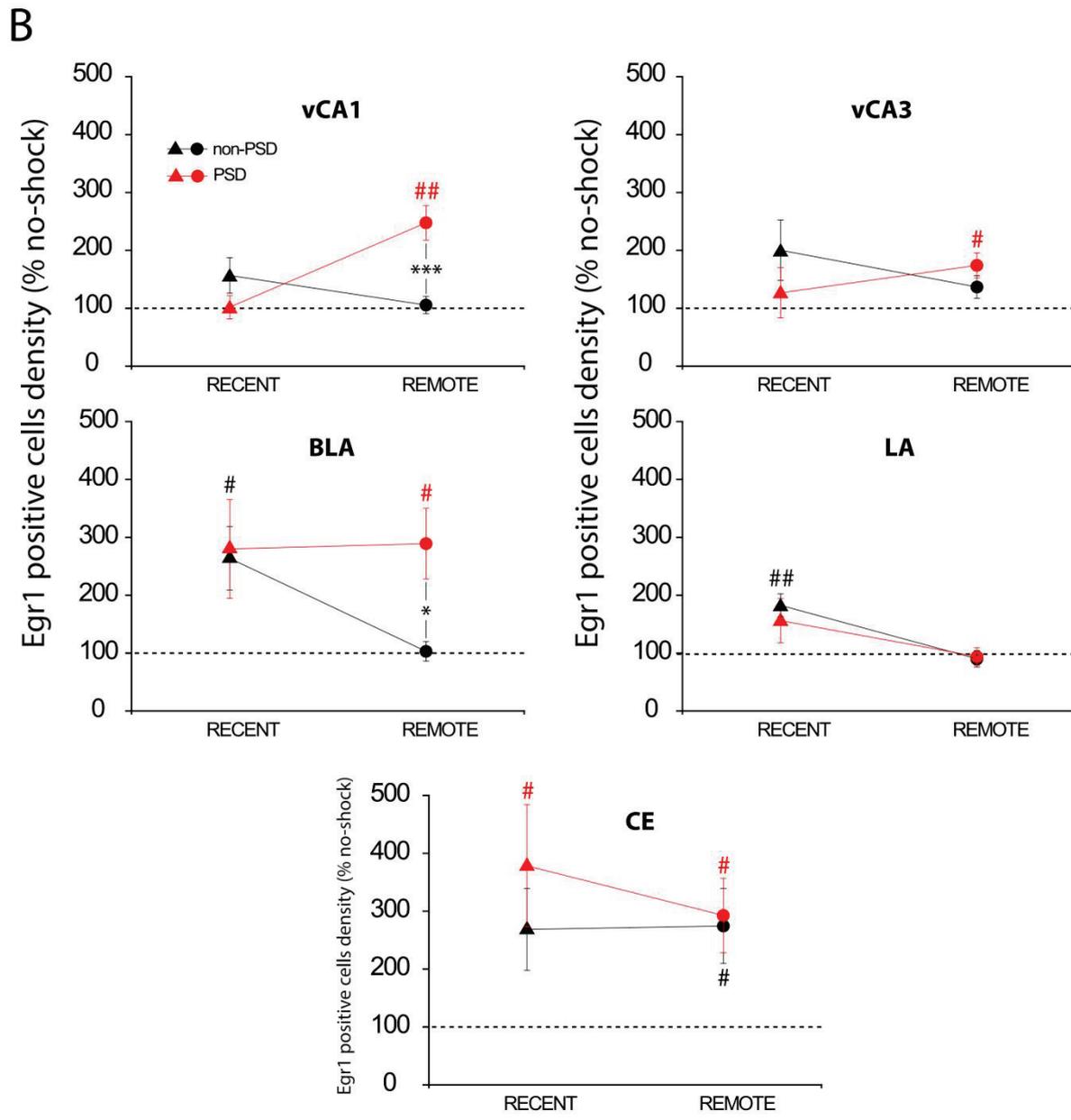
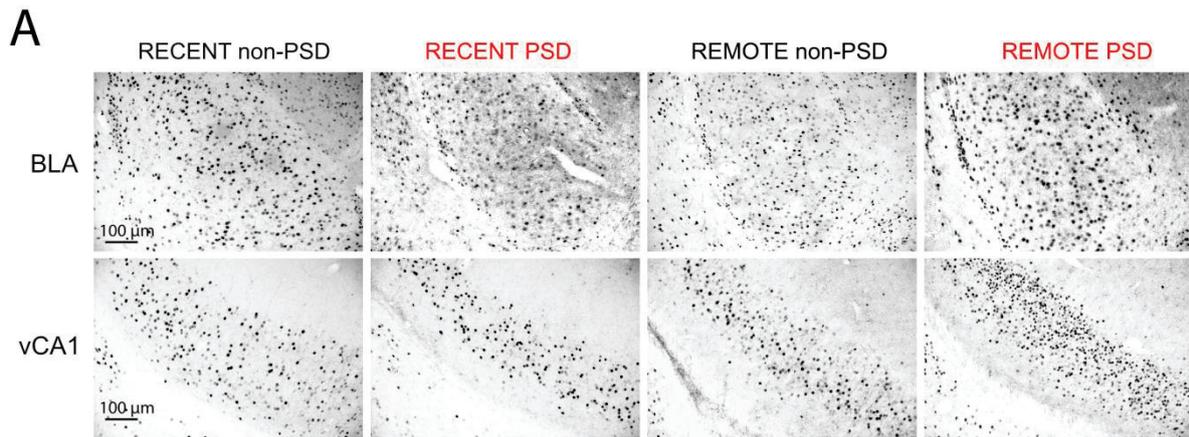


Figure 5. Egr1 expression in the ventral hippocampus and amygdala after retrieval of contextual fear conditioning. **A.** Photomicrographs showing Egr1 immunostaining in the basolateral amygdala (BLA) and in the CA1 region of the ventral hippocampus (vCA1) in the

four experimental groups. **B.** Density of Egr1 positive cells expressed as a percentage of the no-shock groups value in the CA1 (vCA1) and CA3 (vCA3) regions of the ventral hippocampus and in the lateral (LA), basolateral (BLA) and central (CE) amygdala. In each plot, results are shown for non-PSD groups (black triangles (RECENT non-PSD, n = 13) and black circles (REMOTE non-PSD, n = 11)) and PSD groups (red triangles (RECENT PSD, n = 11) and red circles (REMOTE PSD, n = 11)). Results are presented as mean \pm SEM values. A significant hyper-activation of the ventral hippocampus and basolateral nucleus of amygdala can be observed in REMOTE PSD mice. *: *significant difference between non-PSD and PSD groups* (*: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$); #: *significant difference compared to no-shock group* (#: $p < 0.05$, ##: $p < 0.01$). BLA: *basolateral nucleus of the amygdala*; LA: *lateral nucleus of the amygdala*; CE: *central nucleus of the amygdala*; vCA1/vCA3: *CA1 and CA3 regions of ventral Ammon's horn*.

We finally investigated the activity of structures known to play an important role in the processing of emotional information. ANOVAs showed a significant effect of Conditioning on the activity of the basolateral (BLA), lateral (LA) and central (CE) nuclei of the amygdala in the RECENT groups (figure 5B; $F_{3,41} = 9.68$, $p = 0.0034$ (BLA); $F_{3,41} = 10.08$, $p = 0.0029$ (LA); $F_{3,38} = 8.39$, $p = 0.0062$ (CE)). *Post hoc* t-tests revealed a significant increase in the density of Egr1 positive cells in the BLA ($p = 0.0171$) and LA ($p = 0.0022$) compared with no-shock controls in non-PSD animals; such an increase in Egr1 positive cell counts was also observed in the CE, but it remained non-significant ($p = 0.0586$). In contrast, significant increase in the density of Egr1 positive cells was observed in the CE of PSD animals ($p = 0.0419$), while remaining a non-significant trend in the BLA nucleus ($p = 0.0668$). No effect of Deprivation or Conditioning on the ventral hippocampus Egr1 positive cells count was observed in the RECENT groups.

In the REMOTE groups, ANOVAs revealed a significant effect of Deprivation, Conditioning and of the interaction between these two factors in the BLA and vCA1 (figure 5B; Deprivation: $F_{3,36} = 4.57$, $p = 0.0394$ (BLA); $F_{3,36} = 8.12$, $p = 0.0072$ (vCA1); Conditioning: $F_{3,36} =$

4.88, $p = 0.0336$ (BLA), $F_{3,36} = 9.45$, $p = 0.004$ (vCA1); Interaction: $F_{3,36} = 4.57$, $p = 0.0394$ (BLA); $F_{3,36} = 8.12$, $p = 0.0072$ (vCA1)). *Post hoc* t-tests showed a significant increase in the density of Egr1 positive cells in these structures in PSD animals compared to non-PSD (figure 5B; $p = 0.0103$ (BLA); $p = 0.0005$ (vCA1)) and no shock controls (figure 5B; $p = 0.0263$ (BLA); $p = 0.004$ (vCA1)). An increase in the density of Egr1 positive cells in the CE could also be observed in non-PSD and PSD groups compared to no-shock controls (figure 5B; ANOVA (Conditioning): $F_{3,36} = 10.87$, $p = 0.022$; *post hoc* t-test: $p = 0.0334$ (non-PSD), $p = 0.0298$ (PSD)). Finally, a significant effect of Conditioning was observed in vCA3 (ANOVA: $F_{3,36} = 7.82$, $p = 0.0082$), and *post hoc* t-test revealed a significant increase in the density of Egr1 positive cells in this region in PSD animals compared to no-shock controls ($p = 0.0203$). Taken together, these results show that brain structures known to play an important role in emotional processes (*i.e.* amygdala and vHPC) may be hyper-activated in REMOTE PSD animals compared to REMOTE non-PSD, and show a specific effect of PS deprivation on remote memory consolidation as we do not see any difference between RECENT non-PSD and RECENT PSD animals. These results thus highlight a selective role of post-learning PS in the consolidation of remote memory in the conditions we tested in this study.

Functional connectivity matrices and network analysis

The modulation of Egr1 positive cell density we observed could reflect potential co-activities between different brain areas during the recall of recent and remote memory. In order to examine such network co-activation, we computed the correlation of the density of Egr1

positive cells between all different areas. The correlation matrices thus generated allowed us to build connectivity matrices or connectomes (Poirier et al., 2008; Wheeler et al., 2013).

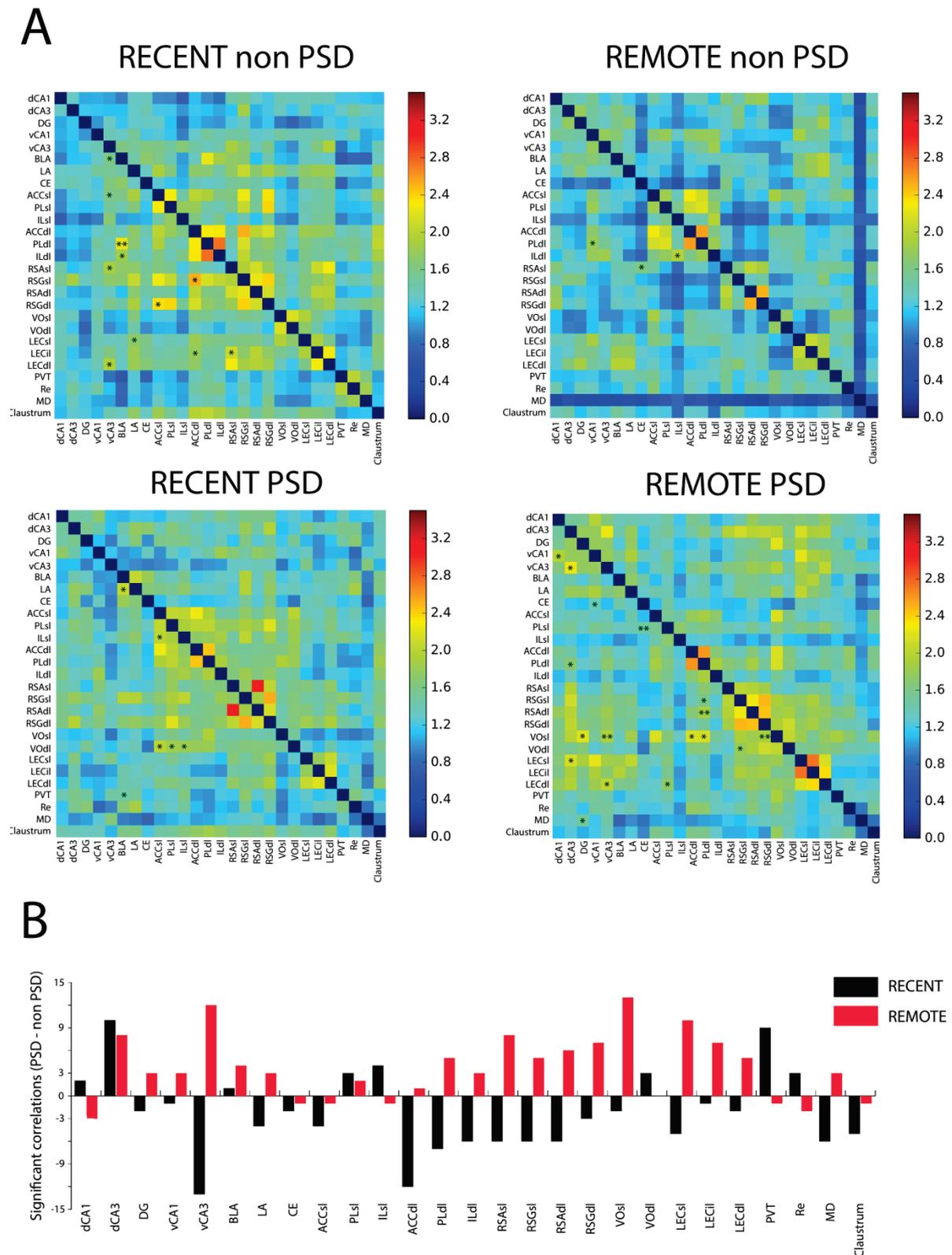


Figure 6. Co-expression of Egr1 during recall of contextual fear memory. **A**. Inter-regional

correlation matrices for Egr1 expression in the RECENT non-PSD (top left), RECENT PSD (bottom left), REMOTE non-PSD (top right) and REMOTE PSD (bottom right) groups. Colors reflect correlation strength, measured as a value of Z obtained from Fisher transformation of Pearson correlation coefficient r . Z value for auto-correlations of regions with themselves was artificially put at 0. Stars reveal significant correlations that are also significantly superior compared to the corresponding non-PSD or PSD group. PS deprivation seems to lead to a less connected network in the RECENT condition, and to a more connected network in the REMOTE condition **B**. Differences in the amount of significant correlations in each region between PSD and non-PSD groups for the RECENT (black bars) and the REMOTE (red bars) groups. Histogram is obtained by subtracting the number of significant correlations from non-PSD group to PSD group in each region. This analysis reveals the opposite effect of PS deprivation between RECENT and REMOTE conditions, leading to a global reduction of correlations in the RECENT PSD group (mainly negative values), and a global enhancement in the REMOTE PSD group (mainly positive values). *dCA1/dCA3*: CA1 and CA3 regions of dorsal Ammon's horn; *DG*: dorsal dentate gyrus; *vCA1/vCA3*: CA1 and CA3 regions of ventral Ammon's horn; *BLA*: basolateral nucleus of the amygdala; *LA*: lateral nucleus of the amygdala; *CE*: central nucleus of the amygdala; *ACCsl*: superficial layers of the anterior cingulate cortex; *PLsl*: superficial layers of the prelimbic cortex; *ILsl*: superficial layers of the infralimbic cortex; *ACCdl*: deep layers of the anterior cingulate cortex; *PLdl*: deep layers of the prelimbic cortex; *ILdl*: deep layers of the infralimbic cortex; *RSAsl*: superficial layers of the agranular retrosplenial cortex; *RSGsl*: superficial layers of the granular retrosplenial cortex; *RSAdl*: deep layers of the agranular retrosplenial cortex; *RSGdl*: deep layers of the granular retrosplenial cortex; *VOsl*: superficial layers of the ventral orbitofrontal cortex; *VOdl*: deep layers of the ventral orbitofrontal cortex; *LECsl*: superficial layers of the lateral entorhinal cortex; *LECil*: intermediate layers of the lateral entorhinal cortex; *LECdl*: deep layers of the lateral entorhinal cortex; *PVT*: paraventricular nucleus of the thalamus; *Re*: nucleus reuniens; *MD*: medio-dorsal nucleus of the thalamus. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

We calculated Pearson correlation coefficient between all areas, performed a Fisher “r to Z” transformation and computed correlation matrices for all experimental groups using Z value as an index of correlation strength (figure 6A). Our results revealed that the REMOTE non-PSD network presented the smaller amount of significant correlations compared with REMOTE PSD network and RECENT networks. Moreover, we found an opposite effect of PS deprivation in our RECENT and REMOTE conditions. Indeed, PS deprivation seems to diminish the total number of significant correlations during the recent recall, whereas it seems to enhance the number of significant correlations during the remote recall (figure 6B). In the REMOTE condition, this effect was mainly observed in cortical networks (correlations

involving PL, IL, RSA, RSG, VO and LEC). We also performed a graph-theoretical analysis (Watts and Strogatz, 1998; Wheeler et al., 2013) which suggests that post-learning PS tends to regularize memory network activity during remote recall (figure S3, table S1). Overall, these results are in accordance with the analysis of Egr1 positive cell density revealing a stronger activation of memory networks in REMOTE PSD compared with REMOTE non-PSD mice.

DISCUSSION

In the present study, we found that PS deprivation given immediately after fear conditioning impaired the long-term (remote), but not short-term (recent) consolidation of this emotional memory (figure 1). By analyzing the expression of the IEG Egr1 in a large number of cortical and subcortical areas involved in memory processing, we also showed that neuronal populations of the superficial layers of the anterior cingulate cortex are less activated during retrieval of remote long-term memory after post-learning PS deprivation. In contrast, after post-learning PS deprivation, retrieval of remote long term memory activates several areas involved in fear-related processing such as the CA1 area of the ventral hippocampus (Adhikari et al., 2010; Cullen et al., 2015; Kjelstrup et al., 2002; Moser and Moser, 1998; Padilla-Coreano et al., 2016), the basolateral area of the amygdala (Johansen et al., 2011; LeDoux, 2007, 2000) and the superficial layers of the ventral orbitofrontal cortex (Chakraborty et al., 2016; Panayi and Killcross, 2014; Shiba et al., 2016; Sierra et al., 2016). These findings pinpoint a role for post-learning PS in the systemic consolidation of remote long-term memory.

Post-learning PS deprivation impairs remote long term memory

Our results suggest that post-learning PS may facilitate the consolidation of remote long-term emotional memory. Our work also reveals that even after PS deprivation, post-learning PS is able to modulate remote long-term memory consolidation since we showed a positive correlation between the amount of PS rebound occurring after PS deprivation and memory performance at recall 30 days later (figure 1D). The homeostatic PS rebound following deprivation in the REMOTE PSD group (figure 1B) may thus alleviate the detrimental effect of PS deprivation on memory performance. It has been shown that PS rebound after PS deprivation, but also increase in PS amount by pharmacological means, are able to facilitate spatial or contextual memory (Ravassard et al., 2016; Wetzell et al., 2003). It could be interesting to test whether an increase in PS amount is able to enhance remote memory, to determine if PS regulates long-term remote memory as well as long-term recent memory.

Long-term modulation of neuronal activity in limbic areas by post-learning PS

Using the expression of *Egr1* as an indirect marker of neuronal activity, we quantified the density of neurons expressing *Egr1* (*Egr1+*) in a large number of limbic and cortical regions during retrieval of recent and remote memory. To assess the level of brain activity specific to the retrieval of these emotional memories, we compared our test groups with control context groups (no-shock controls see Methods) as previously done in other studies (Cullen et al., 2015; Do-Monte et al., 2015; Frankland et al., 2004). As expected, we observed a significant hyper-activation (*i.e.* an increase in the density of *Egr1+* cells) of the dorsal HPC (dHPC) when animals were tested 24 hours after conditioning (figure 2B), a result in agreement with several studies showing an involvement of this structure at recall of recent

memory (Cullen et al., 2015; Frankland et al., 2004; Goshen et al., 2011; Kim and Fanselow, 1992). Moreover, recent studies also reveal a progressive involvement of several midline thalamic nuclei in fear memory retrieval (Wheeler et al., 2013; Marchand et al., 2014; Do-Monte et al., 2015). Among them, the nucleus reuniens may play a crucial role in the interaction between the dHPC and the PFC during systemic consolidation, as it is the most important anatomical link between the dHPC and the prefrontal cortex (PFC) (Vertes et al., 2015). We did not see any effect of Conditioning or Deprivation on the activity of the nucleus reuniens in our RECENT groups (figure 2B). However, likely due the small amount of Egr1+ cells in some of these areas, the variability of the results observed in several thalamic areas in our RECENT groups was important (figure S2). Overall, our results did not reveal any significant effect of PS deprivation on brain activity during retrieval of RECENT long-term memory. Memory performance and level of Egr1 expression seem thus similar in deprived and non-deprived RECENT tested animals.

On the contrary, our study revealed important differences in Egr1 expression during REMOTE recall between PSD and non-PSD animals. First of all, a significant hyper-activation of the dentate gyrus (DG) and the nucleus reuniens, were observed in the REMOTE PSD but not the REMOTE non-PSD group (figure 2B). Interestingly, in addition to DG activation, there was a trend toward dCA3 activation in REMOTE PSD animals (figure 2B; $p = 0.07$). This stronger involvement of DG and dCA3 for REMOTE PSD mice was also observed in our connectome analysis. Indeed, both of these regions showed an enhanced number of significant correlations in PSD compared to non-PSD group (figure 6B). Finally, our graph analysis identified dCA3 as a major hub of brain activity during recall of REMOTE PSD mice (figure S3). Altogether, these results strongly support an important role of dCA3 and DG for remote recall when mice were PS deprived after conditioning. The hyper-activation of part

of the dHPC and of its principal relays to the PFC thus suggests that PS deprivation might have altered the transformation of the memory trace from a dHPC based trace to a PFC based one.

In addition to the dHPC, a significant hyper-activation of the ventral hippocampus (vHPC) is observed in REMOTE PSD animals (figure 5B). This hyper-activation is much stronger in the vCA1 area, where it is also significantly higher compared to non-PSD animals. Interestingly, a previous study from our team revealed that vCA1 was strongly activated following a PS rebound (Ravassard et al., 2016). The hyper-activation of this structure observed in the REMOTE PSD group could thus be due to PS rebound following deprivation. However, we do not see any correlation between vHPC activation and PS amount during rebound (data not shown). In consequence, no direct evidence supports this hypothesis in the present study. We also see hyper-activation of the BLA in REMOTE PSD group compared to non-PSD and no-shock groups (figure 5B). The vHPC and the amygdala are part of the limbic emotional network known to be involved in the expression of fear and anxiety (Adhikari et al., 2010, 2015; Downer, 1961; Goosens and Maren, 2001; Johansen et al., 2011; LeDoux, 2007, 2000; Padilla-Coreano et al., 2016; Sladky et al., 2015). According to the “*Sleep to Forget, Sleep to Remember*” hypothesis (Goldstein and Walker, 2014; Walker and van der Helm, 2009b), PS could be crucial for the long-term reduction of activity in emotional brain areas that are activated after a traumatic/emotional event. This reduction of activity would thus lead to a decrease in the emotional tone associated to the memory of this emotional event (Goldstein and Walker, 2014). As no clear difference is observed in RECENT groups, this suggests that the first hours of post-learning PS are crucial to initiate the process of decrease in excitability in this emotional network. Moreover, it has been shown that the BLA would be specifically involved in contextual fear conditioning, in opposition to the lateral nucleus of the amygdala

(LA) whose activity would be more specific of cued fear conditioning (Goosens and Maren, 2001; Onishi and Xavier, 2010). As the hyper-activation of the amygdala was only observed in the BLA (figure 5B), this strongly suggests that activation of the amygdala was driven by regions involved in the processing of contextual information such as the dHPC and retrosplenial cortex, which were also more activated in REMOTE PSD than in REMOTE non-PSD mice (figures 3B and 5B).

This overall hyper-activation of the emotional network in the REMOTE PSD group seems paradoxical as the animals expressed less emotional behavior (freezing) than REMOTE non-PSD animals. One possibility is that mice expressed fear in a different way than freezing, such as ultrasound vocalizations (Ko et al., 2005). Indeed, we did not control the actual emotional state of mice during recall, for example by measuring such vocalizations or corticosterone levels. Therefore, we cannot conclude that the emotional network hyper-activation we observed in REMOTE PSD animals led to higher emotional arousal. Another possibility is that this hyper-activity of the emotional network seen in our REMOTE PSD animals would be due to an abnormal activation of the initial memory network, thereby non functional, due to a lack of homeostasis regulation during post-learning PS. It has been recently suggested that PS plays an important role in the homeostasis of hippocampal excitability (Grosmark et al., 2012; Miyawaki and Diba, 2016; Niethard et al., 2016; Steriade et al., 2001). Thus, the enhanced expression of *Egr1* in emotional limbic areas at remote delays could result from a decrease in the sleep dependent excitability homeostasis during post-learning period of PSD. Synaptic metaplasticity which regulates mechanisms of memory such as LTP could be dependent on PS amount (Abraham and Bear, 1996). Thus, following the Bienenstock, Cooper and Munro model (Bienenstock et al., 1982), PSD which enhanced excitability could lead to an increase in the threshold for LTP induction in limbic networks and therefore to

decrease in memory performance. Conversely, an increase in PS amount will decrease post-learning neuronal activity level and increase the probability to evoke LTP in limbic networks. Nevertheless, the results we obtained in limbic areas strongly support a crucial role of immediate post-learning PS in initiating the processes of reduction of activity in the emotional network observed at remote delays (Goldstein and Walker, 2014).

Reorganization of cortical networks by post learning PS

Our findings suggest that post-learning PS is involved in the laminar reorganization of the cortical network involved in the long-term consolidation of remote memory. All cortical effects of PS deprivation are observed in the superficial layers, suggesting a more important role of PS in the regulation of cortico-cortical connections. Notably, neuronal populations of the superficial layers of the ACC are more activated in the REMOTE non-PSD group than the REMOTE PSD group. Several studies have shown a cortical laminar reorganization during the long-term consolidation of remote memory, in particular after fear conditioning (Maviel et al., 2004; Sacco and Sacchetti, 2010). This systemic consolidation by cortical laminar reorganization tends to facilitate information transfer through cortico-cortical connections instead of cortico-subcortical pathways. Thus, remote memory storage could be accomplished *via* a laminar redistribution of activity or plasticity and a strengthening of cortico-cortical connections without an energy consuming increase in the global activity of cortical areas (Frankland and Bontempi, 2005). Moreover, mPFC, and particularly ACC, has been shown to exert an inhibitor control on amygdala activity (Likhtik, 2005) that could explain the decrease activity of the BLA we observed at remote delays in the non-PSD group

(figure 5B). In consequence, the lack of activation of the ACC when mice are PS deprived could result in the BLA hyper-activation in our REMOTE PSD group.

In opposition to the results obtained in the ACC, we observed a hyper-activation in the superficial layers of the ventral part of the orbitofrontal cortex (VO) in REMOTE PSD animals compared with REMOTE non-PSD and no shock controls (figure 3B). Moreover, our graph analysis revealed that the superficial layers of VO is the most important hub of REMOTE PSD network, with the higher *degree* (number of connections with other nodes) and the higher value of “*betweenness centrality*” (figure S3; table S1). *Betweenness centrality* value is linked to the number of total shortest paths passing through the node, and is thus an indicator of its functional centrality. These results are very interesting knowing the involvement of the orbitofrontal cortex in emotional processes (Hornak, 2003; Izquierdo, 2005; Padoa-Schioppa and Assad, 2008; Panayi and Killcross, 2014; Schoenbaum et al., 1998; Shiba et al., 2016), and particularly in fear conditioning in both rodents and human (Alvarez et al., 2008; Chakraborty et al., 2016). Indeed, the interaction of VO with the amygdala seems important for the acquisition of contextual fear conditioning in humans (Alvarez et al., 2008). Our data thus confirm that the recall of remote fear memory after post-learning PS deprivation would involve a more emotional network not only in sub-cortical structures, but also in neocortical areas. Altogether, our findings concerning cortical activity suggest that post-learning PS could tag the cortical network that supports with time the long-term consolidation of remote memory, and that the disruption of this post-learning PS would lead to a switch from a ACC-based memory trace to a VO-based trace for remote memory recall, thereby driving a stronger activation of limbic emotional areas.

Fear memory network connectivity

Using graph analysis methods to quantify Egr1 results (Figure S3), we revealed that post-learning PS selectively increases the clustering coefficient. The clustering coefficient quantifies the number of connections between the nearest neighbours and reflects the number of possible functional connections between structures. Random networks have low clustering coefficient whereas complex networks and regular lattice have high clustering coefficient. Thus, this increase in clustering in non-PSD groups compared with PSD groups suggests that PS may increase the complexity level in the networks involved in emotional memory. The graph analysis also indicates an increase in mean Path Lengths by post-learning PS in recent and remote long-term memory. Path length is the minimum number of edges that must be traversed to go from one node to another. In contrast with random and complex networks (such as “small world”) which have short mean path lengths, regular networks (lattices) have long mean path lengths (Watts and Strogatz, 1998). PS would thus tend to regularize networks involved in emotional long-term memory, meaning that all neighbours (here subcortical and cortical areas) are more connected by post-learning PS, without shortcut as in small worlds. The main functional advantage of lattice organization could be to reduce the level of synchronization and propagation of activity. This decrease in dense code and increase in sparseness reduces the neuronal energy budget of the neuronal populations in the limbic areas. Altogether, these results suggests a new role for PS in long-term emotional processing by enhancing memory and decreasing the amount of activity in limbic areas according to the proposed free energy principle in sleep function (Hobson and Friston, 2012).

REFERENCES

- Abraham, W.C., and Bear, M.F. (1996). Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* *19*, 126–130.
- Adhikari, A., Topiwala, M.A., and Gordon, J.A. (2010). Synchronized Activity between the Ventral Hippocampus and the Medial Prefrontal Cortex during Anxiety. *Neuron* *65*, 257–269.
- Adhikari, A., Lerner, T.N., Finkelstein, J., Pak, S., Jennings, J.H., Davidson, T.J., Ferenczi, E., Gunaydin, L.A., Mirzabekov, J.J., Ye, L., et al. (2015). Basomedial amygdala mediates top-down control of anxiety and fear. *Nature* *527*, 179–185.
- Alvarez, R.P., Biggs, A., Chen, G., Pine, D.S., and Grillon, C. (2008). Contextual Fear Conditioning in Humans: Cortical-Hippocampal and Amygdala Contributions. *Journal of Neuroscience* *28*, 6211–6219.
- Bienenstock, E.L., Cooper, L.N., and Munro, P.W. (1982). Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J. Neurosci.* *2*, 32–48.
- Bontempi, B., Laurent-Demir, C., Destrade, C., and Jaffard, R. (1999). Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* *400*, 671–675.
- Boyce, R., Glasgow, S.D., Williams, S., and Adamantidis, A. (2016). Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Science* *352*, 812–816.
- Bullmore, E., and Sporns, O. (2009). Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews Neuroscience* *10*, 186–198.
- Calais, J.B., Ojopi, E.B., Morya, E., Sameshima, K., and Ribeiro, S. (2015). Experience-dependent upregulation of multiple plasticity factors in the hippocampus during early REM sleep. *Neurobiology of Learning and Memory* *122*, 19–27.
- Çavdar, S., Onat, F.Y., Çakmak, Y.Ö., Yananli, H.R., Gülçebi, M., and Aker, R. (2008). The pathways connecting the hippocampal formation, the thalamic reuniens nucleus and the thalamic reticular nucleus in the rat. *Journal of Anatomy* *212*, 249–256.
- Chakraborty, T., Asok, A., Stanton, M.E., and Rosen, J.B. (2016). Variants of contextual fear conditioning induce differential patterns of Egr-1 activity within the young adult prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research* *302*, 122–130.
- Cullen, P.K., Gilman, T.L., Winiecki, P., Riccio, D.C., and Jasnow, A.M. (2015). Activity of the anterior cingulate cortex and ventral hippocampus underlie increases in contextual fear generalization. *Neurobiology of Learning and Memory* *124*, 19–27.
- Diekelmann, S., and Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience*.
- Dolcos, F., LaBar, K.S., and Cabeza, R. (2004). Interaction between the Amygdala and the Medial Temporal Lobe Memory System Predicts Better Memory for Emotional Events. *Neuron* *42*, 855–863.
- Dolcos, F., LaBar, K.S., and Cabeza, R. (2005). Remembering one year later: Role of the amygdala and the medial temporal lobe memory system in retrieving emotional memories. *PNAS* *102*, 2626–2631.

- Do-Monte, F.H., Quiñones-Laracuenta, K., and Quirk, G.J. (2015). A temporal shift in the circuits mediating retrieval of fear memory. *Nature* 519, 460–463.
- Downer, J.L. deC. (1961). Changes in Visual Gnostic Functions and Emotional Behaviour Following Unilateral Temporal Pole Damage in the “Split-Brain” Monkey. *Nature* 191, 50–51.
- Eleore, L., López-Ramos, J.C., Guerra-Narbona, R., and Delgado-García, J.M. (2011). Role of Reuniens Nucleus Projections to the Medial Prefrontal Cortex and to the Hippocampal Pyramidal CA1 Area in Associative Learning. *PLoS ONE* 6, e23538.
- Frankland, P.W., and Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6, 119–130.
- Frankland, P.W., Bontempi, B., Talton, L.E., Kaczmarek, L., and Silva, A.J. (2004). The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* 304, 881–883.
- Genzel, L., Spoomaker, V.I., Konrad, B.N., and Dresler, M. (2015). The role of rapid eye movement sleep for amygdala-related memory processing. *Neurobiology of Learning and Memory* 122, 110–121.
- Goldstein, A.N., and Walker, M.P. (2014). The Role of Sleep in Emotional Brain Function. *Annual Review of Clinical Psychology* 10, 679–708.
- Goosens, K.A., and Maren, S. (2001). Contextual and Auditory Fear Conditioning are Mediated by the Lateral, Basal, and Central Amygdaloid Nuclei in Rats. *Learn. Mem.* 8, 148–155.
- Goshen, I., Brodsky, M., Prakash, R., Wallace, J., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C., and Deisseroth, K. (2011). Dynamics of Retrieval Strategies for Remote Memories. *Cell* 147, 678–689.
- Griffin, A.L. (2015). Role of the thalamic nucleus reuniens in mediating interactions between the hippocampus and medial prefrontal cortex during spatial working memory. *Frontiers in Systems Neuroscience* 9.
- Groch, S., Wilhelm, I., Diekelmann, S., and Born, J. (2013). The role of REM sleep in the processing of emotional memories: evidence from behavior and event-related potentials. *Neurobiol Learn Mem* 99, 1–9.
- Grosmark, A.D., Mizuseki, K., Pastalkova, E., Diba, K., and Buzsaki, G. (2012). REM Sleep Reorganizes Hippocampal Excitability. *Neuron* 75, 1001–1007.
- van der Helm, E., Yao, J., Dutt, S., Rao, V., Saletin, J.M., and Walker, M.P. (2011). REM sleep de-potentiates amygdala activity to previous emotional experiences. *Curr Biol* 21, 2029–2032.
- Hennevin, E., Leconte, P., and Bloch, V. (1974). Augmentation du sommeil paradoxal provoquée par l’acquisition, l’extinction et la réacquisition d’un apprentissage à renforcement positif. *Brain Research* 70, 43–54.
- Hobson, J.A., and Friston, K.J. (2012). Waking and dreaming consciousness: neurobiological and functional considerations. *Prog. Neurobiol.* 98, 82–98.
- Hornak, J. (2003). Changes in emotion after circumscribed surgical lesions of the orbitofrontal and cingulate cortices. *Brain* 126, 1691–1712.

- Izquierdo, A. (2005). Comparison of the Effects of Bilateral Orbital Prefrontal Cortex Lesions and Amygdala Lesions on Emotional Responses in Rhesus Monkeys. *Journal of Neuroscience* 25, 8534–8542.
- Johansen, J.P., Cain, C.K., Ostroff, L.E., and LeDoux, J.E. (2011). Molecular Mechanisms of Fear Learning and Memory. *Cell* 147, 509–524.
- Kim, E.-J., and Dimsdale, J.E. (2007). The Effect of Psychosocial Stress on Sleep: A Review of Polysomnographic Evidence. *Behav Sleep Med* 5, 256–278.
- Kim, J., and Fanselow, M. (1992). Modality-Specific Retrograde-Amnesia of Fear. *Science* 256, 675–677.
- Kjelstrup, K.G., Tuvnes, F.A., Steffenach, H.-A., Murison, R., Moser, E.I., and Moser, M.-B. (2002). Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 10825–10830.
- Ko, S.W., Chatila, T., and Zhuo, M. (2005). Contribution of CaMKIV to injury and fear-induced ultrasonic vocalizations in adult mice. *Molecular Pain* 1, 1.
- Kopp, C., Longordo, F., Nicholson, J.R., and Lüthi, A. (2006). Insufficient Sleep Reversibly Alters Bidirectional Synaptic Plasticity and NMDA Receptor Function. *J. Neurosci.* 26, 12456–12465.
- Ld, S., L, Y., Ll, W., X, L., and X, T. (2010). Differential effects of controllable and uncontrollable footshock stress on sleep in mice. *Sleep* 33, 621–630.
- Leconte, P., and Hennevin, E. (1973). Caractéristiques temporelles de l’augmentation de sommeil paradoxal consécutif à l’apprentissage chez le Rat. *Physiology & Behavior* 11, 677–686.
- LeDoux, J. (2007). The amygdala. *Current Biology* 17, R868–R874.
- LeDoux, J.E. (2000). Emotion Circuits in the Brain. *Annual Review of Neuroscience* 23, 155–184.
- Libourel, P.-A., Corneillie, A., Luppi, P.-H., Chouvet, G., and Gervasoni, D. (2015). Unsupervised Online Classifier in Sleep Scoring for Sleep Deprivation Studies. *SLEEP*.
- Likhtik, E. (2005). Prefrontal Control of the Amygdala. *Journal of Neuroscience* 25, 7429–7437.
- Maviel, T., Durkin, T.P., Menzaghi, F., and Bontempi, B. (2004). Sites of Neocortical Reorganization Critical for Remote Spatial Memory. *Science* 305, 96–99.
- Mendelson, W., Guthrie, R.D., Guynn, R., Harris, R.L., and Wyatt, R.J. (1974). Rapid eye movement (REM) sleep deprivation, stress and intermediary metabolism. *Journal of Neurochemistry* 22, 1157–1159.
- Miyawaki, H., and Diba, K. (2016). Regulation of Hippocampal Firing by Network Oscillations during Sleep. *Current Biology* 26, 893–902.
- Moscovitch, M., Nadel, L., Winocur, G., Gilboa, A., and Rosenbaum, R.S. (2006). The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology* 16, 179–190.

- Moser, M.-B., and Moser, E.I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* *8*, 608–619.
- Nadel, L., and Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology* *7*, 217–227.
- Niethard, N., Hasegawa, M., Itokazu, T., Oyanedel, C.N., Born, J., and Sato, T.R. (2016). Sleep-Stage-Specific Regulation of Cortical Excitation and Inhibition. *Current Biology*.
- Nishida, M., Pearsall, J., Buckner, R.L., and Walker, M.P. (2009). REM Sleep, Prefrontal Theta, and the Consolidation of Human Emotional Memory. *Cerebral Cortex* *19*, 1158–1166.
- Onishi, B.K.A., and Xavier, G.F. (2010). Contextual, but not auditory, fear conditioning is disrupted by neurotoxic selective lesion of the basal nucleus of amygdala in rats. *Neurobiology of Learning and Memory* *93*, 165–174.
- Padilla-Coreano, N., Bolkan, S.S., Pierce, G.M., Blackman, D.R., Hardin, W.D., Garcia-Garcia, A.L., Spellman, T.J., and Gordon, J.A. (2016). Direct Ventral Hippocampal-Prefrontal Input Is Required for Anxiety-Related Neural Activity and Behavior. *Neuron* *89*, 857–866.
- Padoa-Schioppa, C., and Assad, J.A. (2008). The representation of economic value in the orbitofrontal cortex is invariant for changes of menu. *Nature Neuroscience* *11*, 95–102.
- Panayi, M.C., and Killcross, S. (2014). Orbitofrontal cortex inactivation impairs between- but not within-session Pavlovian extinction: An associative analysis. *Neurobiology of Learning and Memory* *108*, 78–87.
- Poirier, G.L., Amin, E., and Aggleton, J.P. (2008). Qualitatively Different Hippocampal Subfield Engagement Emerges with Mastery of a Spatial Memory Task by Rats. *Journal of Neuroscience* *28*, 1034–1045.
- Pokk, P., and Väli, M. (2002). The effects of the nitric oxide synthase inhibitors on the behaviour of small-platform-stressed mice in the plus-maze test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* *26*, 241–247.
- Popa, D., Duvarci, S., Popescu, A.T., Lena, C., and Pare, D. (2010). Coherent amygdalocortical theta promotes fear memory consolidation during paradoxical sleep. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *107*, 6516–6519.
- Portell-Cortés, I., Martí-Nicolovius, M., Segura-Torres, P., and Morgado-Bernal, I. (1989). Correlations between paradoxical sleep and shuttle-box conditioning in rats. *Behavioral Neuroscience* *103*, 984–990.
- Prince, T.-M., and Abel, T. (2013). The impact of sleep loss on hippocampal function. *Learn. Mem.* *20*, 558–569.
- 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., et al. (2016). REM Sleep-Dependent Bidirectional Regulation of Hippocampal-Based Emotional Memory and LTP. *Cerebral Cortex* *26*, 1488–1500.

- Renouard, L., Billwiller, F., Ogawa, K., Clement, O., Camargo, N., Abdelkarim, M., Gay, N., Scote-Blachon, C., Toure, R., Libourel, P.-A., et al. (2015). The supramammillary nucleus and the claustrum activate the cortex during REM sleep. *Science Advances* *1*, e1400177–e1400177.
- Rubinov, M., and Sporns, O. (2010). Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *NeuroImage* *52*, 1059–1069.
- Sacco, T., and Sacchetti, B. (2010). Role of secondary sensory cortices in emotional memory storage and retrieval in rats. *Science* *329*, 649–656.
- Saper, C.B., Fuller, P.M., Pedersen, N.P., Lu, J., and Scammell, T.E. (2010). Sleep State Switching. *Neuron* *68*, 1023–1042.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A., and Gallagher, M. (1998). Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nature Neuroscience* *1*, 155–159.
- Scoville, W.B., and Milner, B. (1957). LOSS OF RECENT MEMORY AFTER BILATERAL HIPPOCAMPAL LESIONS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* *20*, 11–21.
- Shiba, Y., Santangelo, A.M., and Roberts, A.C. (2016). Beyond the Medial Regions of Prefrontal Cortex in the Regulation of Fear and Anxiety. *Frontiers in Systems Neuroscience* *10*.
- Sierra, R.O., Nítola, L.P., Duran, J.M., Prieto, D.R., León, L.A., and Cardenas, F.P. (2016). Medial orbitofrontal cortex lesion prevents facilitatory effects of d-cycloserine during fear extinction. *Behavioural Brain Research* *296*, 379–383.
- Sil'kis, I.G. (2009). Paradoxical sleep as a tool for understanding hippocampal mechanisms of contextual memory. *ResearchGate* *40*, 5–19.
- Sladky, R., Hoflich, A., Kublbock, M., Kraus, C., Baldinger, P., Moser, E., Lanzenberger, R., and Windischberger, C. (2015). Disrupted Effective Connectivity Between the Amygdala and Orbitofrontal Cortex in Social Anxiety Disorder During Emotion Discrimination Revealed by Dynamic Causal Modeling for fMRI. *Cerebral Cortex* *25*, 895–903.
- Smith, C., Kitahama, K., Valatx, J.-L., and Jouvet, M. (1974). Increased paradoxical sleep in mice during acquisition of a shock avoidance task. *Brain Research* *77*, 221–230.
- Smith, C., Lowe, D., and Smith, M.J. (1977). Increases in paradoxical and slow sleep during the acquisition of an appetitive task in rats. *Physiological Psychology* *5*, 364–372.
- Smith, C., Young, J., and Young, W. (1980). Prolonged increases in paradoxical sleep during and after avoidance-task acquisition. *Sleep* *3*, 67–81.
- Steriade, M., Timofeev, I., and Grenier, F. (2001). Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J. Neurophysiol.* *85*, 1969–1985.
- Sterpenich, V., Albouy, G., Darsaud, A., Schmidt, C., Vandewalle, G., Dang Vu, T.T., Desseilles, M., Phillips, C., Degueldre, C., Balteau, E., et al. (2009). Sleep Promotes the Neural Reorganization of Remote Emotional Memory. *Journal of Neuroscience* *29*, 5143–5152.
- Takashima, A., Petersson, K.M., Rutters, F., Tendolkar, I., Jensen, O., Zwarts, M.J., McNoughton, B.L., and Fernández, G. (2006). Declarative memory consolidation in humans: a prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *103*, 756–761.

- Takashima, A., Nieuwenhuis, I.L.C., Jensen, O., Talamini, L.M., Rijpkema, M., and Fernández, G. (2009). Shift from hippocampal to neocortical centered retrieval network with consolidation. *J. Neurosci.* *29*, 10087–10093.
- Varela, C., Kumar, S., Yang, J.Y., and Wilson, M.A. (2014). Anatomical substrates for direct interactions between hippocampus, medial prefrontal cortex, and the thalamic nucleus reuniens. *Brain Structure and Function* *219*, 911–929.
- Vertes, R.P. (2002). Analysis of projections from the medial prefrontal cortex to the thalamus in the rat, with emphasis on nucleus reuniens. *The Journal of Comparative Neurology* *442*, 163–187.
- Walker, M.P., and van der Helm, E. (2009a). Overnight therapy? The role of sleep in emotional brain processing. *Psychological Bulletin* *135*, 731–748.
- Walker, M.P., and van der Helm, E. (2009b). Overnight therapy? The role of sleep in emotional brain processing. *Psychological Bulletin* *135*, 731–748.
- Walters, B.J., and Zovkic, I.B. (2015). Building up and knocking down: An emerging role for epigenetics and proteasomal degradation in systems consolidation. *Neuroscience* *300*, 39–52.
- Watts, D.J., and Strogatz, S.H. (1998). Collective dynamics of “small-world” networks. *Nature* *393*, 440–442.
- Wetzel, W., Wagner, T., and Balschun, D. (2003). REM sleep enhancement induced by different procedures improves memory retention in rats. *Eur. J. Neurosci.* *18*, 2611–2617.
- Wheeler, A.L., Teixeira, C.M., Wang, A.H., Xiong, X., Kovacevic, N., Lerch, J.P., McIntosh, A.R., Parkinson, J., and Frankland, P.W. (2013). Identification of a Functional Connectome for Long-Term Fear Memory in Mice. *PLoS Computational Biology* *9*, e1002853.
- Winocur, G., and Moscovitch, M. (2011). Memory Transformation and Systems Consolidation. *Journal of the International Neuropsychological Society* *17*, 766–780.
- Winocur, G., Moscovitch, M., and Sekeres, M. (2007). Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nature Neuroscience* *10*, 555–557.
- Winocur, G., Frankland, P.W., Sekeres, M., Fogel, S., and Moscovitch, M. (2009). Changes in context-specificity during memory reconsolidation: Selective effects of hippocampal lesions. *Learning & Memory* *16*, 722–729.
- Yoo, S.-S., Gujar, N., Hu, P., Jolesz, F.A., and Walker, M.P. (2007). The human emotional brain without sleep—a prefrontal amygdala disconnect. *Current Biology* *17*, R877–R878.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

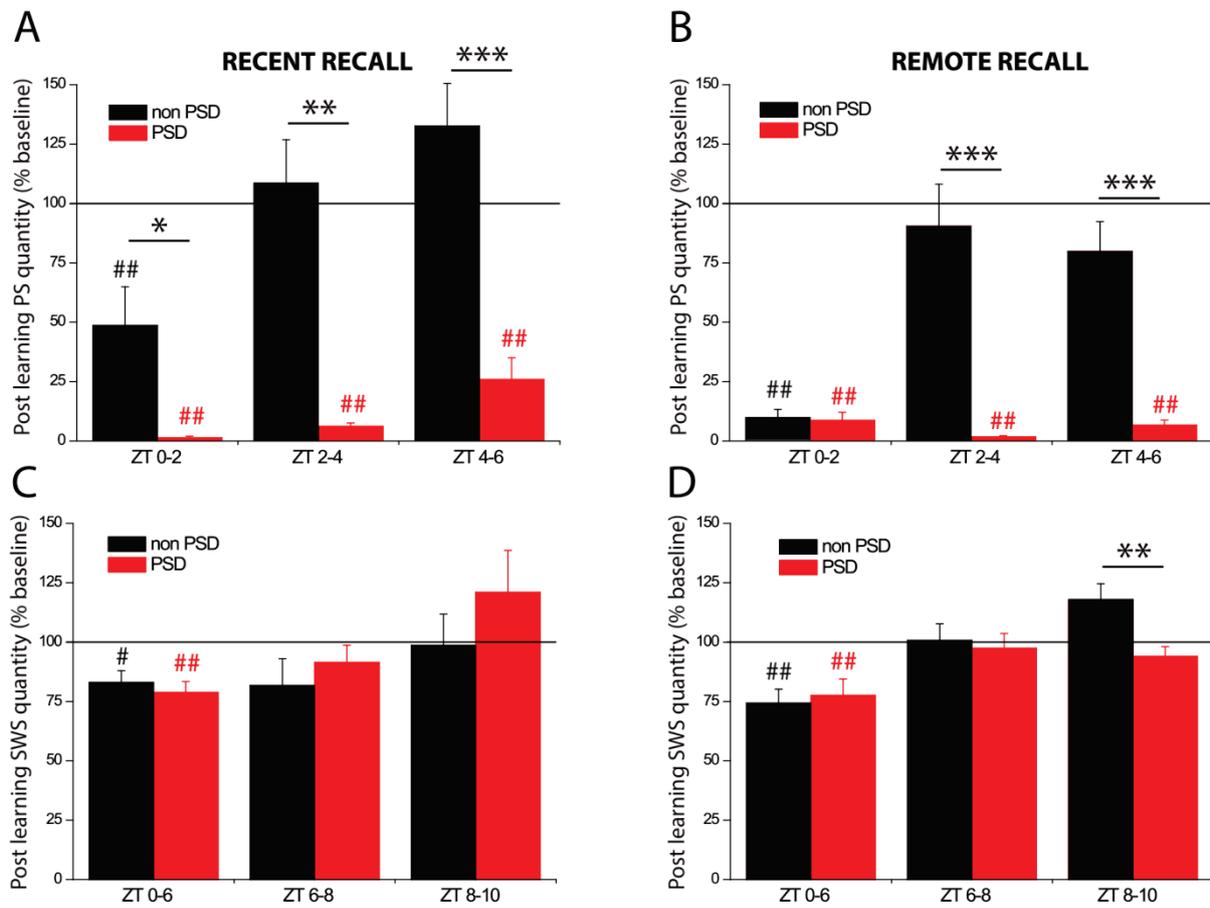


Figure S1: Specificity of paradoxical sleep deprivation. A-B. Post learning paradoxical sleep (PS) quantities during the deprivation period (ZT 0-6), expressed as a percentage of the day before (baseline) for the RECENT group (A; n = 12 (non-PSD), n = 12 (PSD)) and the REMOTE group (B; n = 11 (non-PSD), n = 11 (PSD)). A significant decrease of PS quantities is observed in PSD groups during all deprivation (ZT 0-6), and during the first 2 hours following conditioning (ZT 0-2) in non-PSD groups. C-D. Post learning slow wave sleep (SWS) quantities during the 10 hours following conditioning (ZT 0-10), expressed as a percentage of the day before (baseline) for the RECENT group (C; n = 12 (non-PSD), n = 12 (PSD)) and the REMOTE group (D; n = 11 (non-PSD), n = 11 (PSD)). A significant decrease of SWS quantities is observed in all groups during the deprivation period (ZT 0-6). No difference is observed between non-PSD and PSD groups during the deprivation period (ZT 0-6), revealing the specificity of our deprivation method.

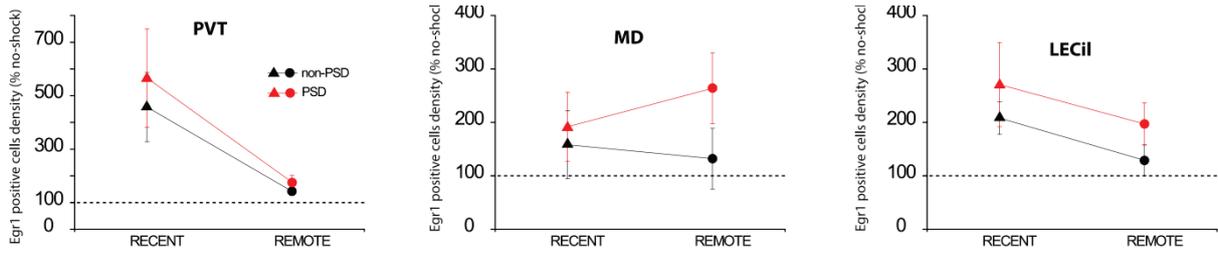


Figure S2: Egr1 expression during recall in two thalamus nuclei and intermediate layer of the entorhinal cortex. Density of Egr1 positive cells expressed as a percentage of the no-shock groups value in the paraventricular (PVT) and mediodorsal (MD) nuclei of the thalamus, and in the intermediate layer of the entorhinal cortex (LEC*i*l). In each plot, results are shown for non-PSD groups (black triangles (RECENT non-PSD) and black circles (REMOTE non-PSD)) and PSD groups (red triangles (RECENT PSD) and red circles (REMOTE PSD)).

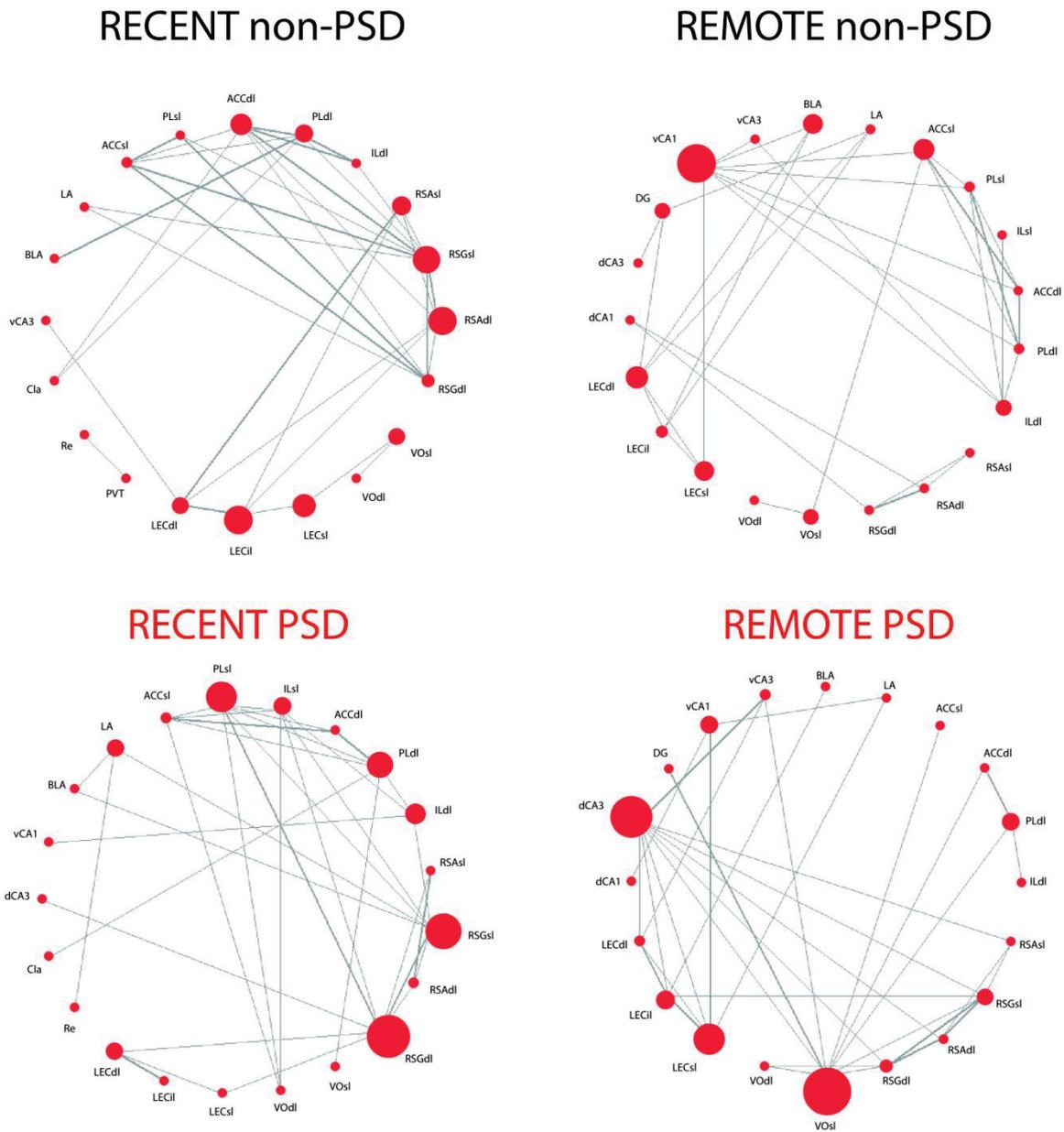


Figure S3 : Graphs representing fear memory network in each group. Graphs were built using the strongest correlations in each group (10% strongest). Each node represents a brain region and each line a correlation. Node size is proportional to the betweenness of the node, which is linked to the number of total shortest paths passing through the node, and thus is an indicator of its functional centrality. Lines thickness is proportional to the strength of the correlation. Isolated regions (i.e. regions that do not show any correlation among the 10% strongest) are not represented on the graphs. *dCA1/dCA3: CA1 and CA3 regions of dorsal Ammon's horn; DG: dorsal dentate gyrus; vCA1/vCA3: CA1 and CA3 regions of ventral Ammon's horn; BLA: basolateral nucleus of the amygdala; LA: lateral nucleus of the amygdala; CE: central nucleus of the amygdala; ACCsl: superficial layers of the anterior cingulated cortex; PLsl: superficial layers of the prelimbic cortex; ILsl: superficial layers of the infralimbic cortex; ACCdl: deep layers of the anterior cingulated cortex; PLdl: deep layers of the prelimbic cortex; ILdl: deep layers of the infralimbic cortex; RASl: superficial layers of the agranular retrosplenial cortex; RSGsl: superficial layers of the granular retrosplenial cortex; RAdl: deep layers of the agranular retrosplenial cortex; RSGdl: deep layers of the granular*

retrosplenial cortex; VOsl: superficial layers of the ventral orbitofrontal cortex; VOdl: deep layers of the ventral orbitofrontal cortex; LECsl: superficial layers of the lateral entorhinal cortex; LECil: intermediate layers of the lateral entorhinal cortex; LECdl: deep layers of the lateral entorhinal cortex; PVT: paraventricular nucleus of the thalamus; Re: nucleus reuniens; MD: medio-dorsal nucleus of the thalamus.

RECENT non-PSD

	Degree	Betweenness Centrality
vCA3	1	0
BLA	1	0
LA	2	0
ACCsl	5	0.014035088
PLsl	3	0
ACCdl	7	0.130214425
PLdl	6	0.110526316
lIdl	3	0
RSAsl	4	0.084795322
RSGsl	9	0.250877193
RSAdl	6	0.273879142
RSGdl	6	0.05380117
Vosl	2	0.093567251
Vodl	1	0
LECsI	2	0.175438596
LEDiI	4	0.245614035
LEDdl	4	0.093567251
PVT	1	0
Re	1	0
Cla	2	0
Mean	3.5	0.07631578945

REMOTE non-PSD

	Degree	Betweenness Centrality
dCA1	2	0
dCA3	1	0
DG	3	0.07894736842105
vCA1	8	0.37368421052632
vCA3	2	0
BLA	3	0.13157894736842
LA	3	0.00526315789474
ACCsl	5	0.14736842105263
PLsl	5	0.0140350877193
lIsI	1	0
ACCdl	4	0
PLdl	5	0.0140350877193
lIdI	5	0.08421052631579
RSAsI	2	0
RSAdI	3	0.00263157894737
RSGdl	3	0.00263157894737
Vosl	2	0.07894736842105
VodI	1	0
LECsI	3	0.13157894736842
LECiI	4	0.03333333333333
LECdl	5	0.16491228070175
Mean	3.4	0.063157894736842

RECENT PSD

	Degree	Betweenness Centrality
dCA3	1	0
vCA1	1	0
BLA	2	0
LA	3	0.1
ACCsl	5	0.01842105263158
PLsl	7	0.27105263157895
lIsI	6	0.10701754385965
ACCdl	3	0
PLdl	6	0.2140350877193
lIdI	4	0.14210526315789
RSAsI	2	0
RSGsl	7	0.33947368421053
RSAdI	3	0.0140350877193
RSGdl	8	0.43070175438596
Vosl	1	0
VodI	3	0
LECsI	2	0
LECiI	1	0
LECdl	3	0.1
Re	1	0
Cla	1	0
Mean	3.45	0.086842105263158

REMOTE PSD

	Degree	Betweenness Centrality
dCA1	1	0
dCA3	9	0.41461988304094
DG	1	0
vCA1	3	0.10526315789474
vCA3	3	0.01949317738791
BLA	1	0
LA	2	0
ACCsl	1	0
ACCdl	2	0
PLdl	3	0.10526315789474
lIdI	1	0
RSAsI	3	0
RSGsl	6	0.09200779727096
RSAdI	4	0.00311890838207
RSGdl	5	0.04639376218324
Vosl	9	0.4916179337232
VodI	2	0
LECsI	5	0.28070175438596
LECiI	5	0.11988304093567
LECdl	4	0.01754385964912
Mean	3.5	0.0847953216374275

Table S1 : Graph-theoretical properties of the nodes in memory networks. The degree and betweenness centrality values are presented for each node of each group's memory networks. The network value of each property is calculated as the mean of all nodes value. *dCA1/dCA3*: CA1 and CA3 regions of dorsal Ammon's horn; *DG*: dorsal dentate gyrus; *vCA1/vCA3*: CA1 and CA3 regions of ventral Ammon's horn; *BLA*: basolateral nucleus of the amygdala; *LA*: lateral nucleus of the amygdala; *CE*: central nucleus of the amygdala; *ACCsl*:

superficial layers of the anterior cingulate cortex; PLsl: superficial layers of the prelimbic cortex; ILsl: superficial layers of the infralimbic cortex; ACCdl: deep layers of the anterior cingulate cortex; PLdl: deep layers of the prelimbic cortex; ILdl: deep layers of the infralimbic cortex; RSAsl: superficial layers of the agranular retrosplenial cortex; RSGsl: superficial layers of the granular retrosplenial cortex; RSAdl: deep layers of the agranular retrosplenial cortex; RSGdl: deep layers of the granular retrosplenial cortex; VOsl: superficial layers of the ventral orbitofrontal cortex; VOdl: deep layers of the ventral orbitofrontal cortex; LECsl: superficial layers of the lateral entorhinal cortex; LECil: intermediate layers of the lateral entorhinal cortex; LECdl: deep layers of the lateral entorhinal cortex; PVT: paraventricular nucleus of the thalamus; Re: nucleus reuniens; MD: medio-dorsal nucleus of the thalamus.

	RECENT non-PSD	RECENT PSD	p-value
Clustering coefficient	0,990907117	0,414058957	0,00990099
Average path length	4,037021823	2,571428571	0,00990099

	REMOTE non-PSD	REMOTE PSD	p-value
Clustering coefficient	0,515306122	0,464722222	0,00990099
Average path length	8	2,526315789	0,03960396

Table S2 : Graph-theoretical properties of the memory networks. The clustering coefficient and average path length values of the memory networks are presented for each group. The p-value of statistical comparison between PSD and non-PSD groups are shown for each parameter in the RECENT (up) and REMOTE (down) conditions.

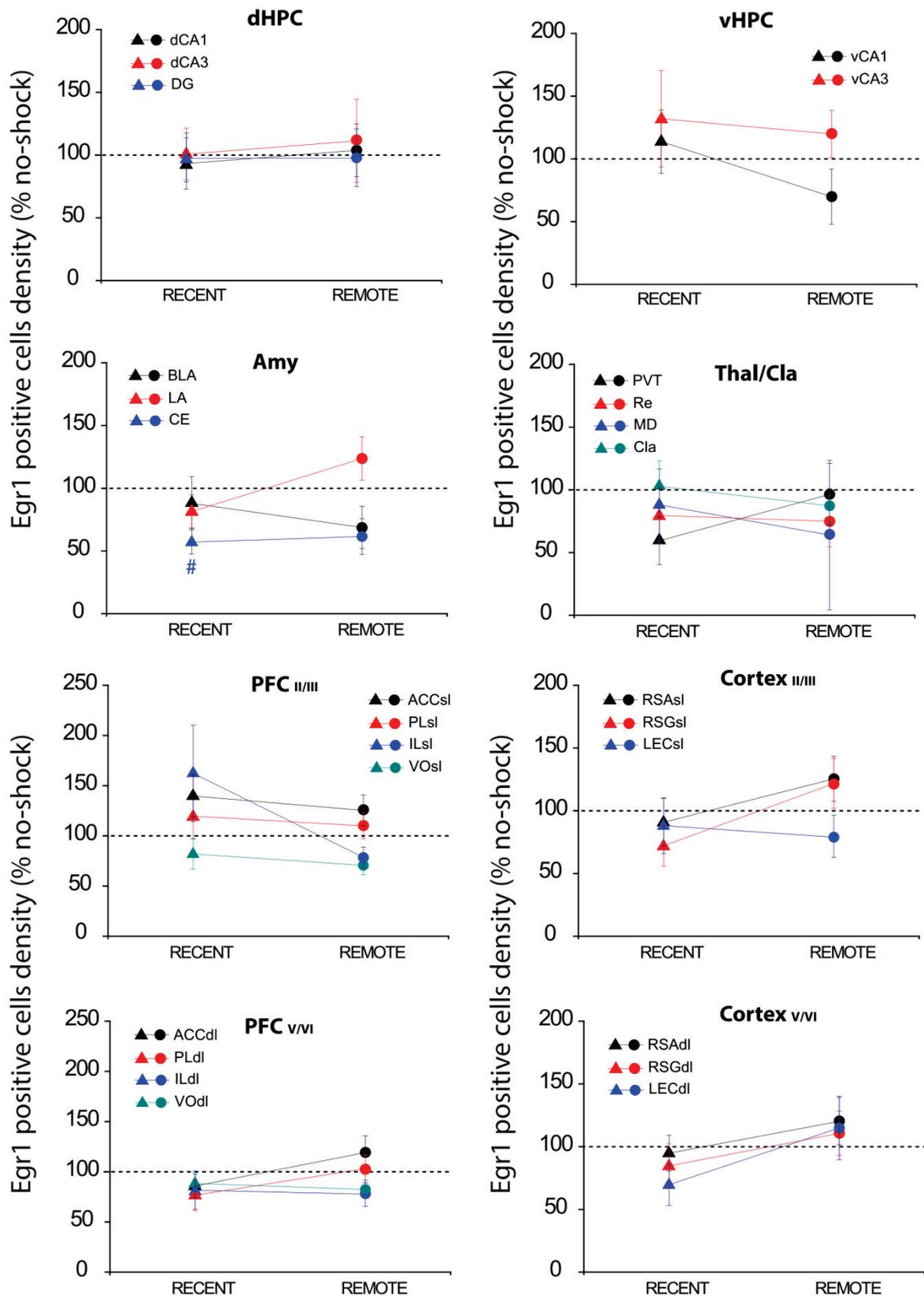


Figure S4 : Influence of PS deprivation on brain activity during retrieval of context alone. Egr1⁺ cells density in no-shock-PSD animals expressed as a percentage of non-PSD-no-shock animals for the RECENT (triangles) and REMOTE (circles) groups. A significant reduction of

activity is only observed in the central nucleus of the amygdala in the RECENT group. *PFC_{II/III}* : superficial layers of prefrontal cortex ; *PFC_{V/VI}* : deep layers of prefrontal cortex ; *Cortex_{II/III}* : superficial layers of cortical areas; *Cortex_{V/VI}* : deep layers of cortical areas. *dCA1/dCA3*: CA1 and CA3 regions of dorsal Ammon's horn; *DG*: dorsal dentate gyrus; *vCA1/vCA3*: CA1 and CA3 regions of ventral Ammon's horn; *BLA*: basolateral nucleus of the amygdala; *LA*: lateral nucleus of the amygdala; *CE*: central nucleus of the amygdala; *ACCsl*: superficial layers of the anterior cingulate cortex; *PLsl*: superficial layers of the prelimbic cortex; *ILsl*: superficial layers of the infralimbic cortex; *ACCdl*: deep layers of the anterior cingulate cortex; *PLdl*: deep layers of the prelimbic cortex; *ILdl*: deep layers of the infralimbic cortex; *RSAsl*: superficial layers of the agranular retrosplenial cortex; *RSGsl*: superficial layers of the granular retrosplenial cortex; *RSAdl*: deep layers of the agranular retrosplenial cortex; *RSGdl*: deep layers of the granular retrosplenial cortex; *VOsl*: superficial layers of the ventral orbitofrontal cortex; *VOdl*: deep layers of the ventral orbitofrontal cortex; *LECsl*: superficial layers of the lateral entorhinal cortex; *LECdl*: deep layers of the lateral entorhinal cortex; *PVT*: paraventricular nucleus of the thalamus; *Re*: nucleus reuniens; *MD*: medio-dorsal nucleus of the thalamus.# : significant difference compared to no-shock-non-PSD group ($p < 0.05$).

II. Résultats supplémentaires non présentés dans l'article

A. Consolidation de la mémoire à long terme récente (24h)

1. Le sommeil de transition joue-t-il un rôle dans la consolidation ?

Nous avons observé dans l'étude décrite dans l'article l'absence d'effet comportemental de la privation de SP lorsque les animaux étaient testés 24 heures après le conditionnement (figure 1C de l'article). C'est un résultat inattendu qui a particulièrement retenu notre attention. Plusieurs travaux dont ceux de notre équipe ont montré le rôle du SP post-apprentissage dans la consolidation d'une mémoire de la peur testée 24 heures après l'apprentissage. Nous avons donc tenté de comprendre les raisons de cette absence d'effet à court terme de la privation de SP dans notre étude. Nous avons noté que cette étude est la première de notre équipe utilisant une méthode de privation automatique de sommeil. Nous avons donc analysé en détail le sommeil des animaux au cours de la période de privation, en quantifiant notamment le sommeil de transition (ST), un état de vigilance situé dans la transition entre épisodes de SL et épisodes de SP. Nous nous sommes intéressés au ST car notre méthode de privation n'empêche pas les animaux d'entrer en ST (figure 19B-C). Dans la littérature, la place du ST reste mal caractérisée, étant pour certains partie prenante du SP (communication de K Sakai) ou du SL (PH Luppi) ou pour d'autres encore un état de vigilance à part entière (Glin et al., 1991). Le ST se caractérise par la présence conjointe d'oscillations de rythme thêta du SP et de rythme delta du SL (Glin et al., 1991). Un rôle de cette phase de sommeil dans la mémoire émotionnelle a précédemment été suggéré (Ambrosini and Giuditta, 2001; Datta and O'Malley, 2013). Nous avons donc quantifié les durées de ST chez les souris privées et non privées de SP, et nous avons ensuite corrélié les performances mnésiques de nos souris avec ces quantités de ST. Cette analyse révèle une corrélation positive entre les quantités de ST pendant la période de privation et le niveau de freezing des animaux du groupe RECENT PSD (figure 19B-C). Ce résultat suggère que le ST est peut-être suffisant pour permettre, de manière compensatrice, la consolidation d'une mémoire récente en cas d'absence de SP. En effet, cette corrélation n'est pas observée chez

le groupe d'animaux non privés, ce qui suggère qu'en conditions normales les quantités de ST ne sont très certainement pas reliées à la consolidation de la mémoire.

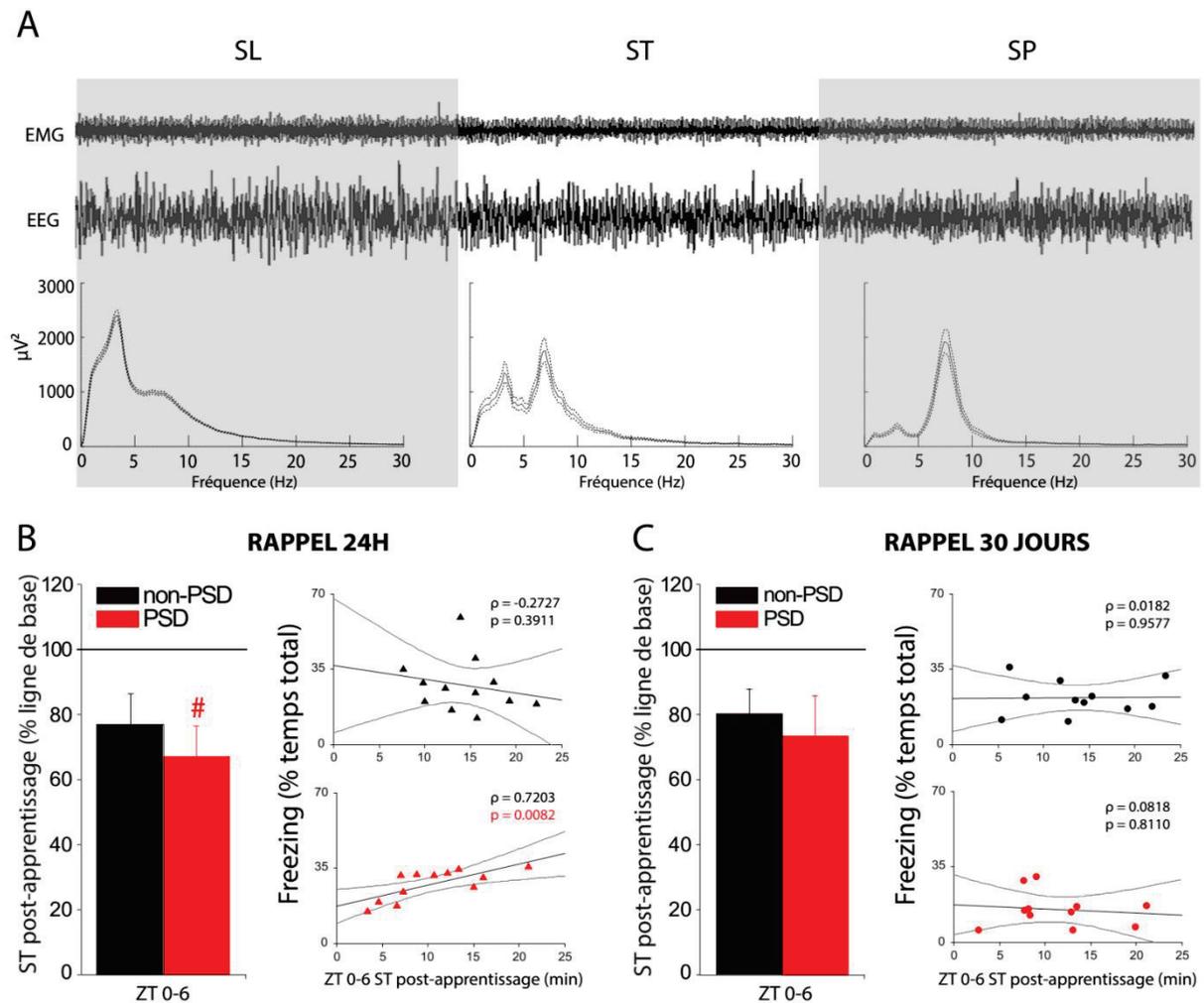


Figure 19 : Rôle sélectif du sommeil de transition dans la consolidation de la mémoire récente (24h). **A.** Exemple d'enregistrement polysomnographique illustrant la caractérisation du sommeil lent (SL), du sommeil de transition (ST) et du sommeil paradoxal (SP) sur la base des signaux électroencéphalographiques (EEG) et électromyographiques (EMG). Des oscillations appartenant à la bande delta (0-4 Hz) et thêta (4-10 Hz) sont observées de manière simultanée pendant les épisodes de SL. **B-C.** Quantités de ST post-apprentissage pendant la période de privation (ZT 0-6) exprimées en pourcentage de la ligne de base quantifiée le jour précédent (histogrammes), et courbes de régression linéaire entre les quantités de *freezing* lors du rappel (axe Y) et les quantités de ST pendant la période de privation (axe X). Les résultats sont présentés pour le groupe testé à 24h (B; n = 12 (non-PSD, noir), n = 12 (PSD, rouge)) et le groupe testé à 30 jours (C; n = 11 (non-PSD, noir), n = 11 (PSD, rouge)). Une diminution significative des quantités de ST par rapport à la ligne de base, ainsi qu'une corrélation significative entre les quantités de ST et le taux de *freezing* sont observées uniquement dans le groupe RECENT PSD. #: différence significative par rapport à la ligne de base ($\# < 0.05$) ; ρ : coefficient de corrélation de Spearman.

Ce rôle compensateur du ST pourrait être relié à la synchronie élevée de l'activité entre HPC et néocortex caractéristique de cet état qui serait propice à la mémoire (Gervasoni, 2004). Il pourrait également être lié aux oscillations de rythme thêta dont on connaît le rôle facilitateur sur la mémoire. En effet, le rôle du SP dans la consolidation d'une mémoire de la peur récente semble majoritairement relié à ces oscillations (Boyce et al., 2016; Popa et al., 2010). L'étude de Boyce révèle notamment que la seule inhibition des oscillations de rythme thêta au cours du SP post-apprentissage bloque la consolidation d'un CPc, révélant un lien causal entre rythme thêta du SP et consolidation de la mémoire. Nos résultats suggèrent donc un double rôle du SP dans la consolidation d'un CPc : un rôle dans la consolidation récente qui pourrait passer par les oscillations de rythme thêta, et un rôle dans la consolidation ancienne qui serait plus directement relié aux quantités de SP post-apprentissage. En effet, si le ST ne semble pas pouvoir compenser les déficits mnésiques engendrés par la privation du SP lors du rappel effectué 30 jours après le conditionnement, une augmentation importante des quantités de SP pendant le rebond semble pouvoir compenser la privation (figure 1D de l'article). Notre étude n'apporte pas d'indices quant aux mécanismes reliés à cette fonction, mais une hypothèse serait que le milieu neuromodulateur particulier du SP (rôle potentiel de l'acétylcholine, de l'hormone de mélanocortine ou de la dopamine) permettrait la mise en place des processus de consolidation à très long terme de la mémoire.

2. Modification de l'intensité du stimulus aversif

Une autre hypothèse que nous avons testée pour examiner les facteurs qui pourraient expliquer l'absence d'effet de notre privation lors du rappel à 24h est le type de protocole de conditionnement. L'intensité du choc électrique (0,7 mA) que nous avons utilisé aurait pu être trop importante, produisant un effet de saturation, pour qu'une privation de SP puisse induire des déficits mnésiques à court terme. Nous avons donc réalisé le même protocole expérimental sur une autre série d'animaux en utilisant pour le conditionnement un choc électrique de plus faible intensité (0,5 mA). Nos résultats ne révèlent pas d'effet de la privation de SP sur le taux de *freezing* des souris lors du rappel 24h après le conditionnement (figure 20A), malgré une diminution importante des quantités de

SP et d'une légère atteinte du SL (figure 20B). De manière intéressante, une corrélation significative entre les quantités de ST au cours de la privation et le taux de *freezing* lors du rappel est observée à la fois dans le groupe non-PSD (figure 20C) et le groupe PSD (figure 20D). Ces résultats suggèrent encore un rôle du ST dans la consolidation à 24h d'un CPc, bien que le faible nombre d'animaux utilisés lors de cette étude (non-PSD : n = 5 ; PSD : n = 6) limite l'interprétation des résultats. Par ailleurs, ces résultats ne révèlent pas d'importance de l'intensité du stimulus aversif dans l'effet d'une privation de SP sur la consolidation mnésique. Cependant, le faible taux de *freezing* observé dans notre étude n'exclue pas un « effet plancher », qui empêcherait d'observer un effet comportemental de notre privation.

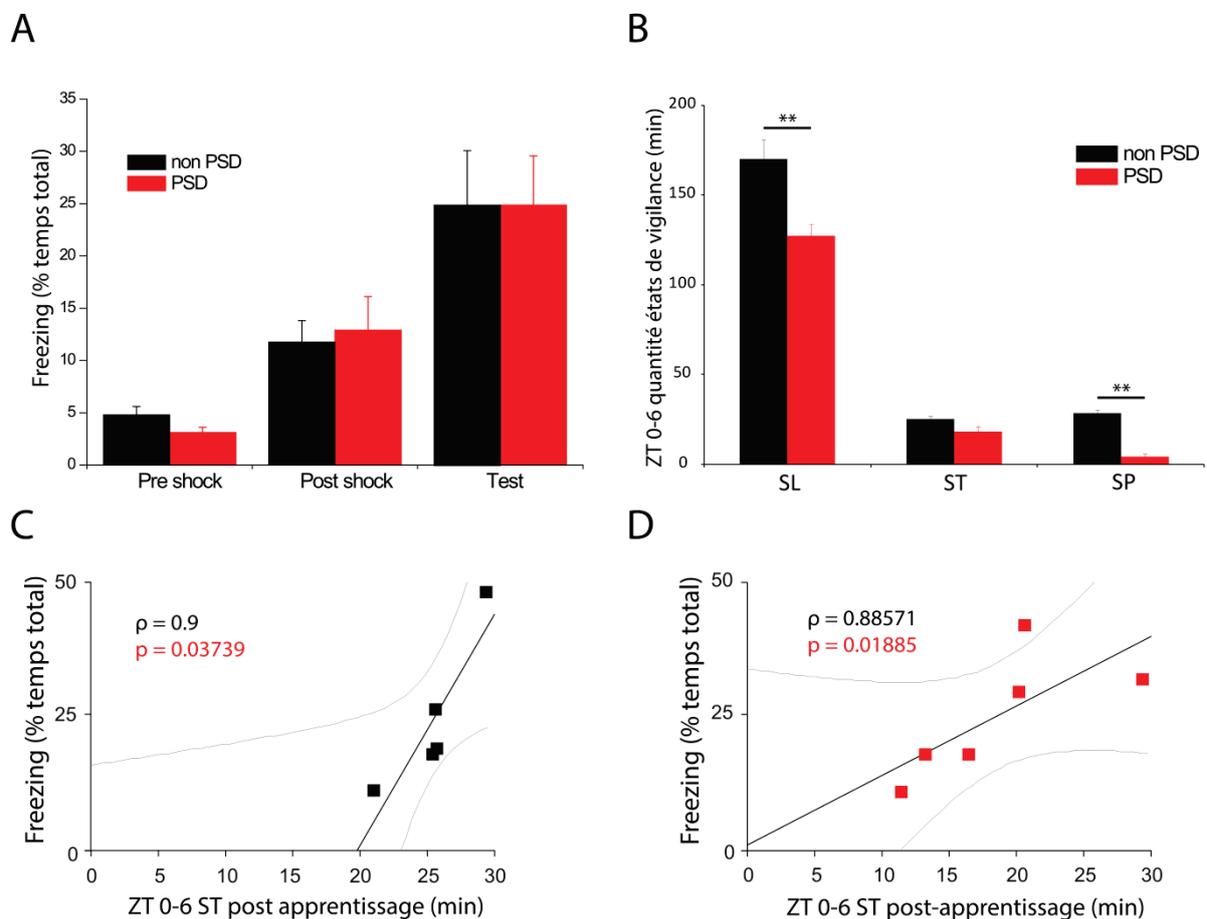


Figure 20: La diminution de l'intensité du stimulus aversif ne fait pas apparaître un effet de la privation de SP lors du rappel de la mémoire récente. **A.** Quantités de *freezing* au cours d'un rappel effectué 24h après un conditionnement réalisé avec un choc électrique de plus faible intensité (0,5 mA). Les résultats sont exprimés en pourcentage du temps total du rappel pour le groupe d'animaux non privés de SP (non-PSD, noir, n = 5) et privés de SP (PSD, rouge, n = 6) La privation de SP n'entraîne pas de modification comportementale. **B.** Quantités de sommeil lent (SL), sommeil de transition (ST) et SP au cours de la période de

privation (ZT 0-6). La privation de SP entraîne une importante diminution des quantités de SP ainsi qu'une légère diminution des quantités de SL. **C-D.** Corrélation entre les quantités de *freezing* durant le rappel (axe Y) et les quantités de ST pendant la période de privation (axe X). Une corrélation positive entre ces deux paramètres est observée chez les animaux non privés (C, noir) et les animaux privés (D, rouge). * : différence significative (test de Wilcoxon pour échantillons indépendants ; ** : $p < 0,01$) ; ρ : coefficient de corrélation de Spearman

L'ensemble de ces résultats suggère donc fortement que le ST pourrait jouer un rôle dans la consolidation à court terme (24h) d'un CPc en compensant l'absence de SP. Ce rôle du ST pourrait alors être supporté par les oscillations de rythme thêta dont l'importance dans ce type de consolidation a déjà été montré (Boyce et al., 2016; Popa et al., 2010). L'étude de Boyce révèle un rôle spécifique du thêta du SP sur la partie contextuelle du conditionnement, en opposition avec la composante indicée. Il était donc intéressant d'examiner l'influence de l'effet de la privation de SP sur le traitement du contexte seul, c'est à dire en l'absence de CP. C'est ce que nous avons fait sur un groupe d'animaux exposés au contexte seul (*no shock*). Néanmoins, nous n'avons observé de rôle majeur du SP sur le traitement contextuel en l'absence de composante émotionnelle (figure S4 de l'article).

B. Expériences comportementales complémentaires

1. Importance des conditions environnementales d'élevage

Plusieurs études ont révélé l'importance des conditions d'élevage dans les quantités de sommeil et les performances mnésiques des animaux (Gutwein and Fishbein, 1980a; Mirmiran et al., 1982; Tagney, 1973). Au cours de cette thèse, les conditions d'élevage des animaux du laboratoire ont été modifiées au cours de ma thèse par l'ajout d'*envirodry* (SERLAB), exigé par le Comité de Bien-être Animal de la Faculté et qui permet aux animaux de se confectionner un nid. Nous avons donc analysé l'impact de ces modifications de l'environnement d'élevage sur les performances mnésiques des animaux, ainsi que sur les modifications des quantités de SP suivant l'apprentissage. Les protocoles d'implantation d'électrodes, de conditionnement et de privation de SP utilisés ici sont les mêmes que ceux présentés dans l'article. Les animaux des groupes non-PSD-enr et PSD-enr ont été élevés en

présence d'*envirodry*, tandis que les animaux des groupes non-PSD et PSD ont été élevés sans enrichissement de l'environnement. Les tests statistiques réalisés ici sont des tests paramétriques pour l'analyse du comportement (t-test) et non paramétriques pour l'analyse des quantités de sommeil (tests de Wilcoxon). L'analyse ANOVA des quantités de *freezing* lors du rappel 30 jours après le conditionnement contextuel à la peur ne révèle pas d'effet significatif du facteur Privation ($F_{3, 60}=3,25$; $p = 0,0766$) ni du facteur Enrichissement ($F_{3, 60}=1,94$; $p = 0,18$) ni de leur interaction ($F_{3, 60}=1,42$; $p = 0,2388$). Néanmoins, la comparaison deux à deux des quantités de *freezing* révèlent une diminution significative chez le groupe PSD par rapport aux groupes non-PSD-enr (t-test ; $p = 0,006$) et non-PSD (t-test ; $p = 0,04$), qui n'est pas observée chez le groupe PSD-enr (figure 21A). L'analyse de l'évolution des quantités de *freezing* entre l'acquisition (session post-choc) et le rappel révèle une augmentation significative dans les groupes non-PSD-enr (t-test apparié ; $p = 0,0009$) et non-PSD (t-test apparié ; $p = 0,003$) qui n'est pas observée chez les groupes PSD-enr et PSD (figure 21B). L'analyse ANOVA de ce paramètre montre un effet significatif de la Privation ($F_{3, 60}=6,62$; $p = 0,0126$). Les t-test *post-hoc* révèlent que cette évolution des quantités de *freezing* est statistiquement inférieure dans le groupe PSD par rapport aux groupes non-PSD-enr ($p = 0,0028$) et non-PSD ($p = 0,0053$). L'évolution du *freezing* entre acquisition et rappel semble ainsi suivre une évolution graduelle dépendante à la fois de la privation de SP et de l'enrichissement (non-PSD-enr > non-PSD > PSD-enr > PSD), bien que l'analyse statistique ne fasse pas directement apparaître cet effet.

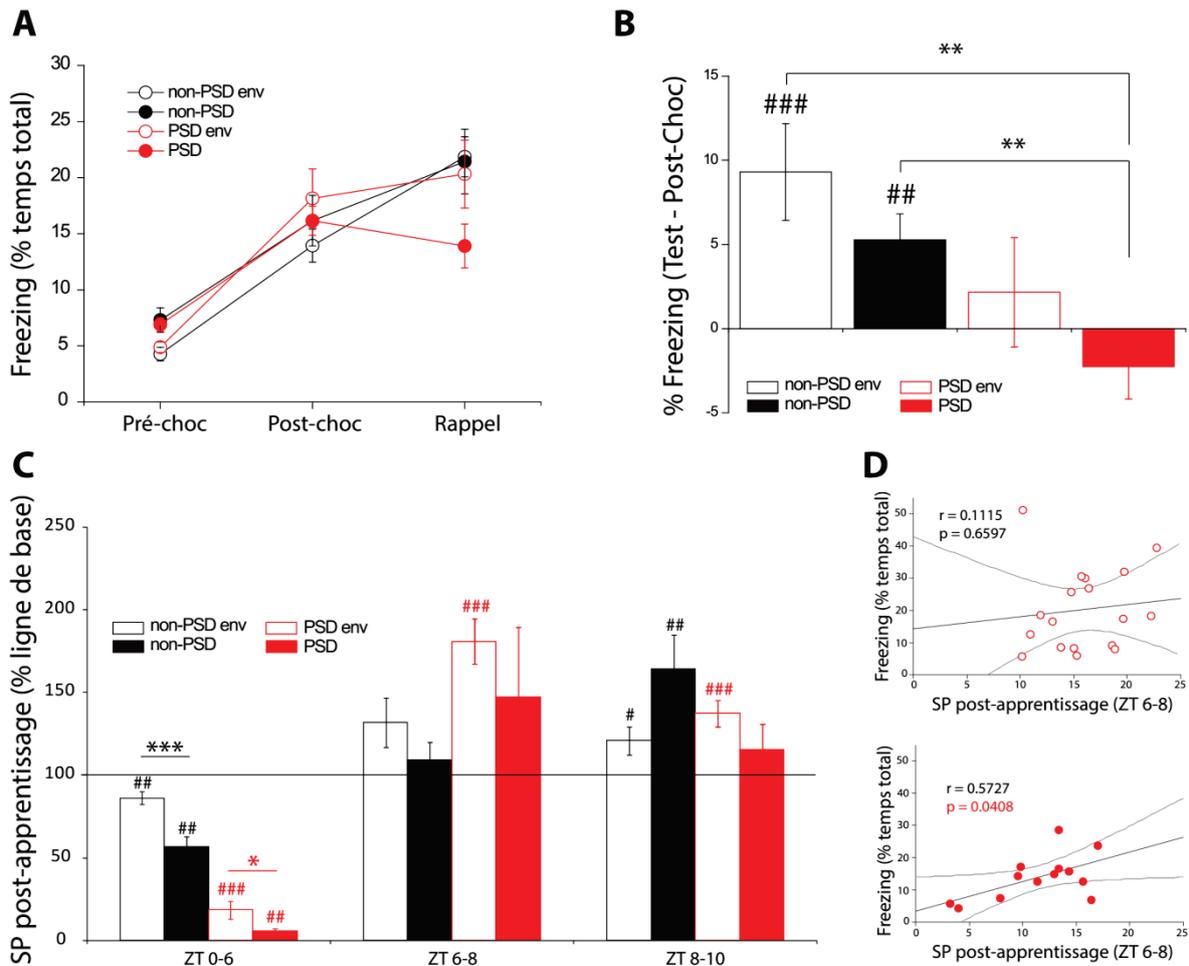


Figure 21 : Importance de l'environnement d'élevage dans les performances mnésiques et les modifications du SP liées à l'apprentissage. **A.** Quantités de *freezing* au cours de l'acquisition (pré-choc et post-choc) et lors d'un rappel effectué 30 jours après un conditionnement contextuel à la peur. Les résultats sont exprimés en pourcentage du temps total du rappel pour le groupe d'animaux non privés de SP élevés avec enrichissement (non-PSD-enr, barres noires vides, $n = 19$) ou non (non-PSD, barres noires, $n = 13$) et privés de SP élevés en présence d'enrichissement (PSD-enr, barres rouges vides, $n = 18$) ou non (PSD, barres rouges, $n = 13$). Aucune différence statistique n'est observée. **B.** Différence de *freezing* entre la fin de l'acquisition (post-choc) et le jour du rappel. Une augmentation significative des quantités de *freezing* entre les 2 sessions n'est observée que dans les groupes non privés de SP. La valeur de cette différence est significativement supérieure chez les groupes non privés de SP uniquement par rapport au groupe d'animaux privés de SP élevés sans enrichissement. #: différence significative entre session post-choc et rappel (test de student pour échantillons appariés); ## : $p < 0,01$; ### : $p < 0,001$) **C.** Quantités de SP post-apprentissage pendant la période de privation (ZT 0-6) et les 4 heures qui suivent (ZT 6-8 et ZT 8-10). Les quantités sont présentées en pourcentage des quantités basales mesurées la veille. Une diminution significative des quantités de SP est observée dans tous les groupes pendant la période de privation. La quantité de SP pendant cette période est significativement supérieure dans les groupes d'animaux élevés avec enrichissement par rapport à leurs homologues élevés sans enrichissement (non-PSD enr VS non-PSD et PSD-enr VS PSD). Une augmentation significative des quantités de SP pendant les 2 premières heures suivant la privation (ZT 6-8) est observée uniquement dans le groupe PSD-enr. Une

augmentation significative des quantités de SP entre 8 et 10 heures après le conditionnement (ZT 8-10) est observée dans tous les groupes à l'exception du groupe PSD. # : différence significative par rapport à la ligne de base (test de Wilcoxon pour échantillons appariés ; # : $p < 0,05$; ## : $p < 0,01$; ### : $p < 0,001$) D. Corrélation entre les quantités de *freezing* durant le rappel (axe Y) et les quantités de SP pendant les 2 premières heures suivant la privation (ZT 6-8, axe X) dans les groupes PSD-enr (haut, cercles vides) et PSD (bas, cercles pleins). Une corrélation positive significative entre ces deux paramètres est observée chez les animaux du groupe PSD uniquement. * : différence significative entre les groupes (B : test de student; C : test de Mann-Withney; * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$)

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'influence de l'enrichissement sur les modifications des quantités de SP post-apprentissage. Cette analyse révèle une diminution significative pendant les 6 heures suivant l'apprentissage (ZT 0-6) dans tous les groupes par rapport aux quantités basales mesurées la veille, comme il a été observé dans l'étude principale (figure 21C). De manière intéressante, un effet de l'enrichissement est observé puisque cette diminution est moins importante dans les groupes élevés dans un milieu enrichi ($p < 0,001$ (non-PSD VS non-PSD-enr) ; $p = 0,0426$ (PSD VS PSD-enr)). Aucune différence significative n'est observée par la suite entre les groupes non-PSD-enr et non-PSD. Une augmentation significative des quantités de SP est observée chez les animaux du groupe PSD-enr lors des 4 heures suivant la période de privation (ZT 6-8 : $p < 0,001$; ZT 8-10 : $p < 0,001$), qui est absente chez les animaux du groupe PSD (figure 21C). Ainsi, la présence d'*envirodry* semble permettre une meilleure homéostasie du sommeil (comme indiqué par l'efficacité du rebond de SP après la privation), qui pourrait expliquer les différences observées au niveau mnésique. Cette influence de l'*envirodry* sur les quantités de SP ne semble pas passer par une réduction de la latence d'entrée en SP, puisqu'aucune différence n'est observée entre les groupes concernant ce paramètre (données non montrées).

Il faut noter également que l'augmentation de SP entre 8 et 10 heures après l'apprentissage (ZT 8-10) est observée dans tous les groupes à l'exception du groupe PSD (non-PSD-enr : $p = 0,04$; non-PSD : $p = 0,0094$). L'augmentation des quantités de SP après l'apprentissage a été déjà observée dans notre étude principale ainsi que dans plusieurs études précédentes (Fishbein et al., 1974; Lecas, 1976; Leconte and Hennevin, 1981; Portell-Cortés et al., 1989; Smith and Wong, 1991). L'absence de cette augmentation dans le groupe PSD suggère donc l'absence de mécanismes de consolidation primordiaux, qui pourraient avoir lieu en présence d'enrichissement permettant la confection d'un nid et donc une meilleure qualité

de sommeil. En ce sens, la performance des animaux du groupe PSD semble plutôt dépendre des quantités de SP ayant lieu durant les 2 premières heures suivant la privation (ZT 6-8), puisqu'une corrélation significative est observée entre ces 2 paramètres dans le groupe PSD uniquement (figure 21D). L'ensemble de ces résultats suggère donc une importance des conditions d'élevage dans les modifications du SP liées à l'apprentissage, et donc dans les performances des animaux.

2. Evaluation de l'anxiété des animaux au cours du rappel

Une des questions émanant de notre étude principale est de déterminer si l'hyperactivation du réseau émotionnel lors du rappel à 30 jours, observée chez les animaux privés, est liée à un état émotionnel de peur et/ou d'anxiété exacerbé, en accord avec l'hypothèse de Matthew Walker « *Sleep to Forget, Sleep to Remember* ». Selon cette hypothèse en effet, une privation de SP devrait aboutir à une moins bonne consolidation des aspects contextuels de la mémoire émotionnelle (processus « *sleep to remember* » altéré), mais aussi à une exacerbation de la réactivité émotionnelle des individus lors de la présentation d'indices de rappel de l'information émotionnelle (processus « *sleep to forget* » altéré). Nos résultats montrent en effet que nos animaux ne s'immobilisent pas autant que nos souris non privées 30 jours après la privation de SP - et donc potentiellement ne se rappellent pas des informations liées au contexte de l'expérience. En revanche, ils montrent une forte activité de leur réseau « émotionnel » qui pourrait dénoter une forte réactivité émotionnelle. Ces résultats pourraient donc être en accord avec l'hypothèse de Walker. Néanmoins, des niveaux faibles de *freezing* pourraient aussi dénoter une plus faible réactivité émotionnelle, et donc dans ce cas, l'hypothèse de Walker ne saurait être vérifiée. Nous avons donc voulu, à la suite du rappel à 30 jours, tester l'état émotionnel de nos souris par d'autres moyens comportementaux. Un moyen simple et couramment utilisé est le dosage de la corticostérone plasmatique. Néanmoins, la différence de *freezing* observée pendant le rappel est subtile, et nous souhaitons éviter un biais provoqué par le stress induit par le prélèvement sanguin en lui-même, qui aurait pu effacer la différence potentielle de ce paramètre. Nous avons donc reproduit le même protocole que celui utilisé dans l'article, accompagné de tests comportementaux réalisés immédiatement après le rappel à

30 jours afin d'évaluer le niveau d'anxiété des animaux. Nous avons utilisé deux tests qui ont été montrés comme sensibles au niveau d'anxiété chez les souris adultes, le test d'interaction sociale avec un juvénile et le test du double compartiment clair/obscur.

a) Méthodes

Test d'interaction sociale juvénile

11 souris mâles C57Bl/6J (Charles River ; 5 non-PSD et 6 PSD) âgées de 12 semaines le jour du conditionnement ont réalisé un test d'interaction sociale juvénile immédiatement après le rappel à 30 jours d'un CPc. Dans ce test, un souriceau âgé de 3 semaines était placé dans un cylindre en plexiglas transparent de 10 cm de diamètre et de 12 cm de hauteur au centre d'une arène opaque de 40 cm de côté et de 20 cm de hauteur. Les extrémités du cylindre étaient fermées, et des trous de 3 mm de diamètre étaient percés à intervalles réguliers (tous les 15 mm verticalement et horizontalement) afin de permettre le passage des odeurs. Le souriceau a été habitué 1 heure par jour pendant les 3 jours précédant le test à être placé dans le cylindre, en présence de nourriture et d'eau. Le jour de l'expérience, le souriceau était placé dans le cylindre 30 minutes avant le début du test et l'adulte était introduit dans l'arène immédiatement après le rappel du CPc pendant 10 minutes. Deux animaux par jour (1 PSD et 1 non-PSD) réalisaient l'interaction avec le même jeune, et chaque jour l'ordre de passage était alterné. La litière de l'arène était changée et l'arène nettoyée à l'eau entre les 2 animaux pour éviter les perturbations dues à la présence de l'odeur de l'animal précédent. Une interaction était comptabilisée lorsque l'adulte flairait le cylindre pendant au moins 1 seconde. La totalité du test était enregistrée à l'aide d'une caméra placée sur le dessus du cylindre, échantillonnant les images à 15 images par seconde (B/W CCD). Le logiciel Videotrack (Viewpoint) a ensuite permis l'analyse des vidéos issues de ces enregistrements. Le nombre et la durée des interactions ont été quantifiés *a posteriori* par un expérimentateur aveugle aux conditions. Les tests statistiques réalisés pour cette expérience sont des tests non paramétriques (tests de Wilcoxon).

Test du double compartiment clair/obscur

De la même manière que dans le test d'interaction sociale, 22 souris mâles C57Bl/6J (11 PSD et 11 non-PSD) âgées de 12 semaines le jour du conditionnement ont réalisé un test de double compartiment immédiatement après le rappel à 30 jours d'un CPc. Le dispositif du test (40 x 20 x 30 cm) se divisait en deux parties égales (20 x 20 x 30 cm) : un compartiment clair, éclairé avec une intensité de 200 lux, et un compartiment sombre non éclairé et dont l'extrémité supérieure est fermée. L'animal pouvait passer de l'un à l'autre des compartiments par l'intermédiaire d'un passage étroit (5 x 5 cm) à la base de la paroi séparant les compartiments. Immédiatement après le rappel du conditionnement à la peur, l'animal était placé dans le compartiment sombre et laissé pendant 6 minutes dans le dispositif. Deux animaux par jour (1 PSD et 1 non-PSD) réalisaient le test, et chaque jour l'ordre de passage était alterné. Le dispositif du double compartiment était nettoyé entre les deux animaux avec un spray désinfectant (Bactopin plus). L'enregistrement du test se faisait avec le même dispositif que pour le test d'interaction sociale juvénile, et le comportement était analysé *a posteriori* par un expérimentateur aveugle aux conditions. Les tests statistiques réalisés pour l'analyse de cette expérience sont des tests paramétriques (t-tests).

b) Résultats et discussion

Le premier test que nous avons réalisé est un test d'interaction sociale juvénile, comme il a déjà été précédemment été fait pour évaluer l'anxiété chez le rongeur (Christianson et al., 2010; Martin et al., 2013). Dans ce test, les animaux étaient introduits dans une arène en présence d'un souriceau immédiatement après le rappel à 30 jours, et le nombre d'interactions ainsi que leur durée étaient quantifiées (voir méthodes). Comme nous avons pu l'observer auparavant (figure 1C de l'article), les résultats du conditionnement à la peur révèlent une diminution significative du *freezing* lors du rappel chez les animaux privés de SP (figure 22A ; $p = 0,011$). Cette diminution est accompagnée d'une augmentation significative du nombre d'interactions avec le souriceau durant les 2 premières minutes du test d'interaction sociale par rapport aux animaux non privés de SP (figure 22C ; $p = 0,042$). Ce résultat suggère une anxiété réduite chez les animaux privés de SP, en accord avec les résultats du *freezing*. Cependant, aucune corrélation n'est observée

entre le taux de *freezing* et le nombre d'interactions durant les 2 premières minutes du test d'interaction sociale, ainsi aucune évidence directe d'un lien entre ces deux paramètres n'a pu être révélée (figure 22D). Par ailleurs, une privation partielle de sommeil lent (SL) est observée pendant la privation de SP, et un effet du manque de SL ne peut être entièrement écarté (figure 22B). Néanmoins la similarité des résultats du conditionnement de peur par rapport aux effets d'une privation spécifique, ainsi que la faible proportion de SL manquante, suggère un effet négligeable du manque de SL.

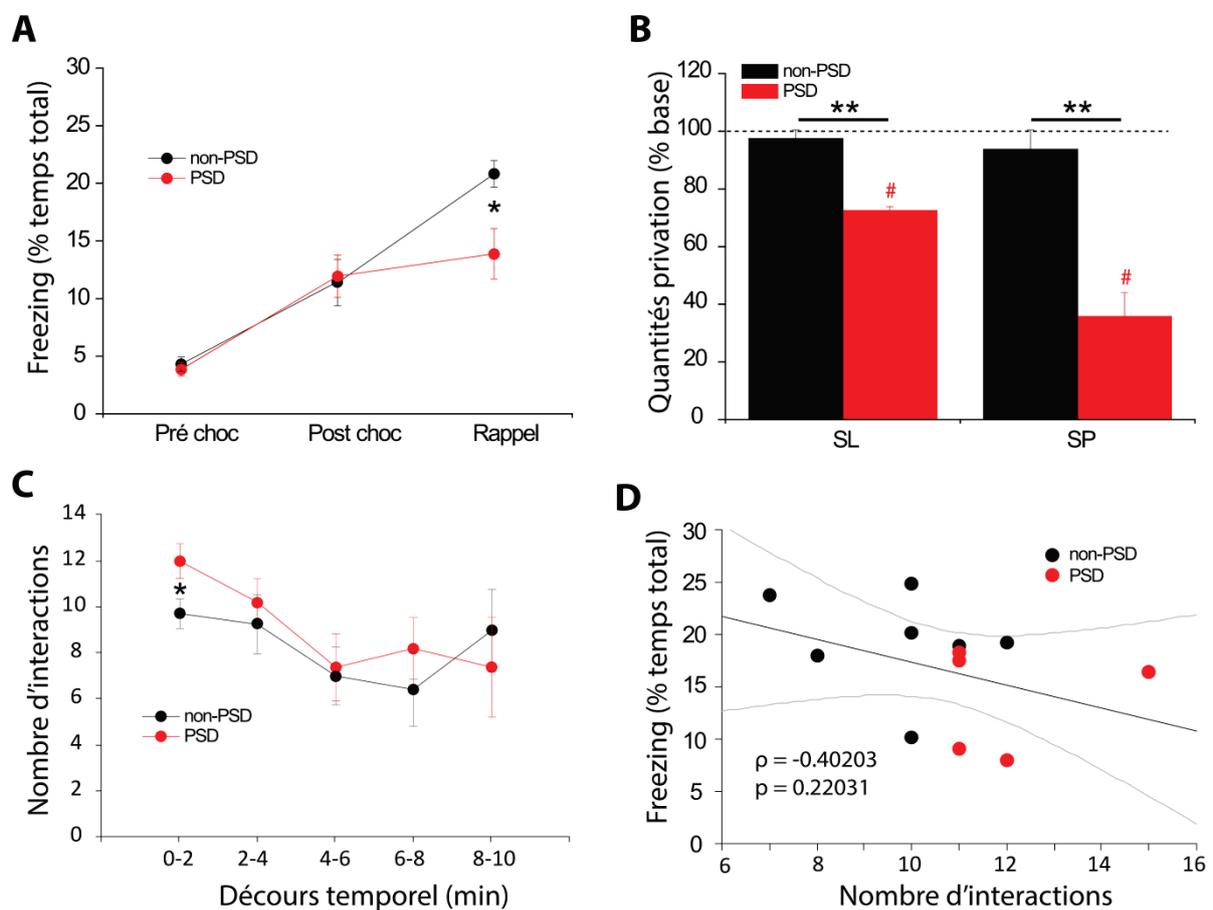


Figure 22 : Effet de la privation de SP post-apprentissage sur l'état émotionnel lors du rappel. **A.** Taux de *freezing* lors d'un conditionnement contextuel à la peur exprimé en pourcentage du temps total chez des animaux privés de SP pendant 6h après l'apprentissage (PSD, n = 5) et non privés de sommeil (non-PSD, n = 7). Les résultats sont présentés au cours de l'acquisition avant l'occurrence du choc électrique (pré choc) et après (post choc) ainsi que pendant le rappel. On observe une diminution significative du taux de *freezing* lors du rappel chez les animaux PSD. **B.** Quantité de sommeil lent (SL) et de SP pendant les 6h de privation, exprimée en pourcentage des quantités basales mesurées la veille. Une diminution significative des quantités de SL et de SP sont observées dans le groupe PSD par rapport à la ligne de base et au groupe non-PSD. **C.** Cinétique du nombre d'interactions avec

le souriceau lors du test d'interaction sociale. Une augmentation significative du nombre d'interactions pendant les 2 premières minutes du test est observée chez les animaux PSD par rapport aux animaux non-PSD. **D.** Corrélation entre le taux de *freezing* lors du rappel du conditionnement à la peur (axe Y) et le nombre d'interactions au cours des 2 premières minutes du test d'interaction sociale (axe X). Aucune corrélation significative n'est observée entre ces deux paramètres en considérant l'ensemble des animaux non-PSD et PSD. * : différence significative entre les groupes (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$) ; # : différence significative par rapport à la ligne de base.

Le souriceau étant placé au centre de l'arène dans ce test, les adultes avaient à s'exposer à découvert afin de l'explorer, et leur anxiété inhibait donc ce comportement. Ainsi les résultats de cette expérience suggèrent une anxiété réduite chez les animaux privés de SP, et non augmentée comme le prédit l'hypothèse « *Sleep to Forget, Sleep to Remember* ». Néanmoins le test d'interaction sociale fait intervenir d'autres paramètres que l'anxiété, et notamment l'empathie. Il a en effet été montré que les rongeurs pouvaient exprimer un comportement d'empathie pour un congénère (Meyza et al., 2016), et dans nos conditions d'expérience le souriceau était enfermé dans le cylindre. Un rat mis en présence d'un congénère emprisonné semble exprimer un comportement empathique en le libérant (Ben-Ami Bartal et al., 2011). D'autre part, ce type de comportement semble être sous l'influence du niveau de stress de l'animal, puisque la latence de libération est inversement corrélée au niveau de corticostérone plasmatique, indiquant une inhibition de ce comportement par le stress (Ben-Ami Bartal et al., 2016). En ce sens, nous pourrions supposer que le comportement exploratoire au cours de notre test est inhibé en raison du stress de l'animal, que ce soit par son aspect d'interaction sociale en elle-même ou son aspect de comportement empathique. Cependant, la régulation du comportement empathique par le stress semble complexe puisque la même étude révèle qu'un traitement anxiolytique supposé réduire le niveau de stress de l'animal inhibe ce comportement d'empathie. Nous avons donc par la suite réalisé un test moins complexe à interpréter, et plus habituel de l'étude de l'anxiété : le test du double compartiment clair/obscur.

Comme pour l'expérience d'interaction sociale, le test du double compartiment était réalisé immédiatement après le rappel à 30 jours d'un CPc. Tout d'abord, nous observons ici aussi un effet aspécifique de la privation de SP sur les quantités post-apprentissage de SL (figure 23B). Les résultats ne montrent pas d'effet significatif de la privation de sommeil sur le taux

de *freezing* lors du rappel (figure 23A). Nous attribuons ce manque d'effet de la privation de SP au fait que les animaux utilisés pour cette expérience étaient hébergés en présence d'enrichissement (*envirodry*, voir plus haut). Nos résultats suggèrent une diminution de l'effet de la privation de SP dans ces conditions d'hébergement (figure 21). Nous n'observons pas non plus de différence entre les groupes non-PSD et PSD au cours du test de double compartiment concernant les paramètres de latence d'entrée dans le compartiment clair, le nombre d'entrées, ou la durée moyenne et totale passée dans le compartiment clair (figure 23C). Néanmoins le comportement des animaux au cours de ce test semble étroitement lié au comportement de peur exprimé lors du rappel du conditionnement à la peur, à l'image du nombre d'entrées dans le compartiment clair qui est inversement corrélé au taux de *freezing* (figure 23D). Ainsi l'absence de différence lors du test d'anxiété pourrait être due à l'absence d'effet observé lors du rappel.

L'activité cérébrale lors du rappel n'est pas uniquement liée au rappel en lui-même, mais également au processus de reconsolidation, et dans le cas du conditionnement à la peur également au processus d'extinction (Einarsson et al., 2015; Gräff et al., 2014; Inaba et al., 2015; Likhtik et al., 2008; Winocur et al., 2009). Nous avons voulu tester l'hypothèse selon laquelle l'hyperactivation du réseau émotionnel observée dans notre étude principale (figure 5B de l'article) pourrait être due à l'un de ces deux processus. Pour cela, nous avons réalisé un second rappel le lendemain du rappel à 30 jours (J31) chez les animaux ayant subi le test du double compartiment (et élevés avec de l'*envirodry*). Aucune différence de *freezing* n'est observée entre les groupes non-PSD et PSD lors du rappel à J31 (figure 23A). Cependant là encore l'absence d'effet de la privation de SP lors du rappel à 30 jours limite la mise en relation de ces résultats avec ceux de l'étude principale.

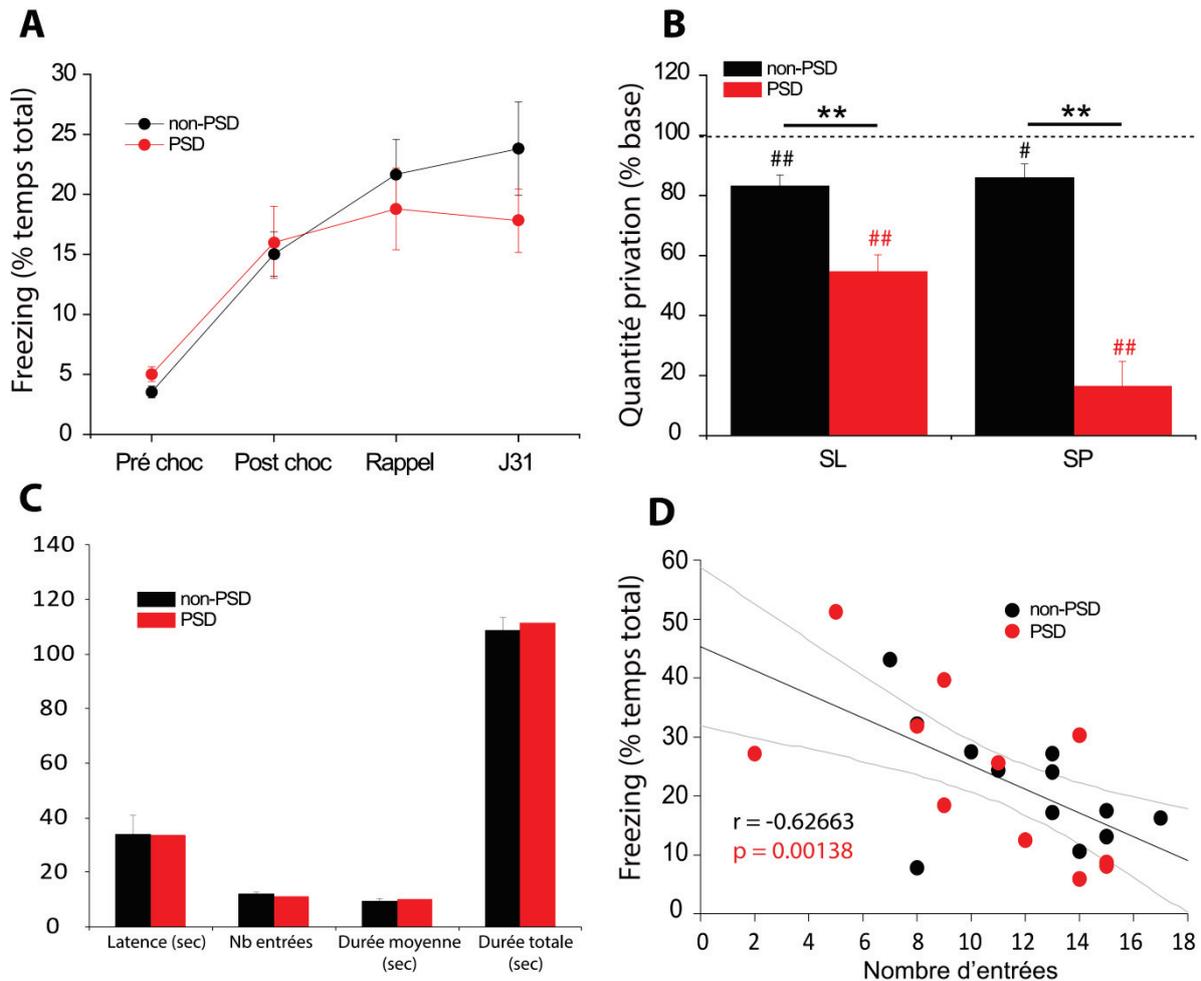


Figure 23 : Effet de la privation de SP post-apprentissage sur la reconsolidation et l'état émotionnel lors du rappel. **A.** Taux de *freezing* lors d'un conditionnement contextuel à la peur exprimé en pourcentage du temps total chez des animaux privés de SP pendant 6h après l'apprentissage (PSD, n = 11) et non privés de sommeil (non-PSD, n = 12). Les résultats sont présentés au cours de l'acquisition avant l'occurrence du choc électrique (pré choc) et après (post choc) ainsi que pendant les rappels à 30 jours et 31 jours. Aucun effet significatif de la privation de SP n'est observé. **B.** Quantité de sommeil lent (SL) et de SP pendant les 6h de privation, exprimée en pourcentage des quantités basales mesurées la veille. Une diminution significative des quantités de SL et de SP sont observées dans les groupes non-PSD et PSD par rapport à la ligne de base, et dans le groupe PSD par rapport au groupe non-PSD. **C.** Différents paramètres mesurés pendant le test de double compartiment. Aucune différence n'est observée entre les groupes non-PSD et PSD concernant la latence d'entrée dans le compartiment clair, le nombre d'entrée ou le temps passé dans le compartiment clair. **D.** Corrélation entre le taux de *freezing* lors du rappel à 30 jours du conditionnement à la peur (axe Y) et le nombre d'entrées dans le compartiment clair sur la totalité de la durée du test de double compartiment (axe X). Une corrélation négative significative est observée entre ces deux paramètres en considérant l'ensemble des animaux non-PSD et PSD. *: différence significative entre les groupes (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$); #: différence significative par rapport à la ligne de base.

Nos expériences n'ont pas mis en évidence une différence évidente d'anxiété entre les groupes non-PSD et PSD lors du rappel 30 jours après un CPc. Néanmoins un aspect important de cette série d'expériences est l'effet des conditions d'hébergement sur l'influence des privations de SP sur la mémoire (figure 21). En effet, nos résultats suggèrent que les animaux élevés en présence d'*envirodry* et permettant aux animaux de se confectionner un nid- présentent une résistance plus importante à l'effet de la privation de SP sur les performances mnésiques. Cet effet indirect de l'*envirodry* pourrait être la conséquence d'une meilleure récupération du sommeil chez les souris privées. Un effet du niveau d'enrichissement sur les quantités et la structure du sommeil, et notamment du SP, avait déjà été révélé chez le rongeur (Gutwein and Fishbein, 1980a; Mirmiran et al., 1982; Tagney, 1973). De manière intéressante, l'augmentation de quantités de SP par l'enrichissement de l'environnement d'élevage avait déjà été observée dans la littérature, de manière conjointe à une augmentation des performances lors d'une tâche mnésique de discrimination visuelle testée 28 jours après l'apprentissage (Gutwein and Fishbein, 1980b).

CHAPITRE II

ETUDE DE L'ACTIVITE GLUTAMATERGIQUE DANS LE CORTEX PREFRONTAL MEDIAN CHEZ UN MODELE MURIN DE DEPRESSION : LE MODELE H/ROUEN

Au cours du premier chapitre, nous nous sommes intéressés au rôle du SP dans la consolidation de la mémoire émotionnelle. Nous avons notamment voulu tester l'hypothèse *Sleep to Forget, Sleep to Remember*, qui propose que le SP réduise le tonus émotionnel associé à la mémoire. Un corolaire de cette hypothèse est que des troubles du SP seraient observés de manière conjointe à des troubles des émotions, comme observé dans la dépression majeure (DM). Cette hypothèse propose que la DM puisse être liée à une mauvaise consolidation de la mémoire émotionnelle au cours du SP (Goldstein and Walker, 2014). Une hypothèse émergente concernant les mécanismes neurobiologiques de la dépression majeure est que celle-ci pourrait être due à une altération de la transmission glutamatergique, notamment dans le cortex préfrontal médian (CPFm). Ces deux hypothèses sont intéressantes à mettre en relation car le CPFm est impliqué dans la consolidation de la mémoire émotionnelle, notamment au cours du SP (Genzel et al., 2015). Dans le chapitre qui suit, nous nous sommes intéressés à la transmission glutamatergique dans le CPFm du modèle murin de DM H/Rouen.

I. Contexte de l'étude

Comme nous l'avons évoqué dans la partie « rappels bibliographiques » de notre introduction, la DM est une maladie psychiatrique caractérisée par des troubles de l'humeur et un certain nombre d'autres symptômes dont des altérations du sommeil, notamment du SP (Franzen and Buysse, 2008; Palagini et al., 2013). Chez les patients atteints de DM, une hypo-activation du CPF est régulièrement observée. Celle-ci disparaît après traitement aux antidépresseurs (Seminowicz et al., 2004). Ce déficit d'activité, combiné aux altérations du SP, pourraient conduire à une mauvaise régulation des émotions au cours du SP, notamment

par un manque de modulation par le CPF des structures émotionnelles limbiques telle que l'Amy (Genzel et al., 2015; Goldstein and Walker, 2014). Des résultats récents révèlent une altération importante de la transmission glutamatergique chez les sujets dépressifs, notamment dans le CPF, qui pourrait expliquer son hypo-activation (Choi et al., 2015; Duman and Aghajanian, 2012; Li et al., 2011). Nous disposons au laboratoire du modèle murin de DM H/Rouen (présenté dans les « rappels bibliographiques »). Cette lignée est issue de croisements successifs entre individus les plus résignés de chaque génération d'une population de souris CD-1. Dans ce modèle, la résignation était évaluée par le test de suspension par la queue. Les souris de chaque génération présentant une durée d'immobilité supérieure à 115 secondes sur 6 minutes de test ont été croisées entre elles afin d'aboutir à la lignée H/Rouen présentant un phénotype résigné (El Yacoubi et al., 2003; Elyacoubi and Vaugois, 2007; Popa et al., 2006). Les souris de cette lignée présentent en outre un déficit majeur de la transcription du gène codant pour la sous-unité des récepteurs AMPA GluA1 dans le CPF, mesuré par analyse transcriptomique et en comparaison avec le modèle de souris non résignées (*Non-Helpless*) NH/Rouen. La lignée NH/Rouen a été obtenue comme la lignée H/Rouen par croisements réciproques, de souris non résignées cette fois-ci. De plus, aucune modification détectable de l'expression des autres récepteurs glutamatergiques ionotropiques n'est observée chez ces souris. En outre, il a été montré que les souris résignées H/Rouen présentent des altérations du SP similaires à celles observées chez les sujets dépressifs (El Yacoubi et al., 2003; Popa et al., 2006). Le but de notre étude était donc de déterminer s'il existe une atteinte de la transmission glutamatergique basale chez les souris résignées. Nous nous sommes donc intéressés à la transmission glutamatergique dans le CPFm de ces souris par une approche électrophysiologique *in vitro* en patch-clamp en configuration potentiel imposé des neurones pyramidaux des couches profondes de cette région. Cette méthode permet de disséquer en détails les atteintes de la transmission glutamatergique, grâce par exemple à l'application d'antagonistes des récepteurs aux neurotransmetteurs. Nos résultats révèlent des différences importantes de transmission glutamatergique AMPA entre les souris des lignées H/Rouen et NH/Rouen. Nous n'avons malheureusement pas encore étudié les liens que ces déficits pourraient avoir avec les altérations du SP observées chez ces souris. La seule caractérisation des altérations de la transmission glutamatergique observés dans cette pathologie est toutefois

intéressante et importante pour le développement de nouveaux traitements antidépresseurs à effet rapide (Duman and Aghajanian, 2012; Li et al., 2011)

II. Matériel et Méthodes

Animaux

Les animaux utilisés dans cette étude étaient des souris femelles issues des lignées H/Rouen et NH/Rouen. Nous avons choisi d'étudier des souris femelles car, tout comme chez l'Homme, les symptômes de la DM sont plus marqués chez les femelles que chez les mâles (El Yacoubi et al., 2013). Tous les animaux ont préalablement été *screenés* avec le test de suspension par la queue (entre leur 6^{ème} et leur 8^{ème} semaine) afin de vérifier leur phénotype respectivement résigné (immobilité supérieure à 115 secondes) ou non résigné (immobilité inférieure à 35 secondes).

Test de suspension par la queue

Le test de suspension par la queue était réalisé avec un système informatisé permettant de tester six animaux simultanément. Les souris étaient suspendues à un crochet par de la bande adhésive (Scotch™) fixée à leur queue. Le crochet était relié à un détecteur de mouvements transmettant les données à un ordinateur. Le taux d'immobilité était quantifié sur une durée totale de 6 minutes. Les souris qui parvenait à s'accrocher à leur queue trois fois pendant la session étaient retirées de l'étude. Toutes les souris étaient isolées pendant 15 minutes avant le test.

Immunofluorescence

Des souris femelles des lignées H/Rouen (n = 4) et NH/Rouen (n = 4) âgées de 12 à 15 semaines ont été profondément anesthésiées par une injection intra péritonéale de pentobarbital sodique (0,2 mL, CEVA Santé animale). Les animaux ont ensuite été perfusés

avec une solution de ringer lactate héparinée (1mL/L) à température ambiante puis avec 50 mL d'une solution froide (4°C) de paraformaldéhyde (PFA) dilué à 4% dans un tampon phosphate (PB, 0,05 M, pH = 7,4) préparée la veille. Les cerveaux ont été extraits et placés en post-fixation à 4°C dans la même solution de PFA pendant 24 heures à 4°C, puis conservés à 4°C dans une solution cryoprotectrice de sucrose dilué à 30% dans du PB 0,1 M contenant 0,1% d'azoture de sodium jusqu'à leur congélation. Les cerveaux ont ensuite été congelés en les plongeant dans du 2-méthylbutane à -50°C pendant 2 minutes, puis conservés à -20°C pendant 1 semaine au maximum avant leur découpe en coupes coronales de 20µm d'épaisseur à l'aide d'un cryostat (Leica). Les coupes étaient prélevées dans du PB 0,1 M, puis placées à -20°C dans une solution cryoprotectrice composée de 50% de PB 0,1M et de 50% de glycérol jusqu'à l'immunofluorescence. L'étape d'immunofluorescence a été réalisée le même jour sur tous les cerveaux afin de réduire la variabilité du marquage. Les coupes ont été incubées pendant 5 jours à 4°C dans du tampon phosphate salin (0,02 M) contenant 0,3% de triton (PBST), 0,1% d'azoture de sodium, 2% de sérum albumine bovine (BSA) et un anticorps polyclonal dirigé contre la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA (Millipore, référence PC246) dilué au 1:200. Les coupes ont ensuite été incubées 24 heures à 4°C dans du PBST contenant 2% de BSA et un anticorps secondaire couplé au fluorophore Alexa488® (Thermofisher, référence A21206) dilué au 1:500. Les coupes ont été montées entre lame et lamelle dans un milieu de montage contenant du DAPI (VECTASHIELD®, référence H-1200, Clinisciences) puis observées en microscopie confocale. Les photographies ont été acquises sur une épaisseur de 15µm à 17µm avec un pas de 1µm entre chaque image. La densité de marquage GluA1 a ensuite été analysée à l'aide du logiciel ImageJ.

Electrophysiologie

21 souris de la lignée H/Rouen et 19 souris de la lignée NH/Rouen âgées de 8 à 10 semaines ont été utilisées pour l'ensemble de l'étude électrophysiologique. Les animaux étaient profondément anesthésiés par une injection létale intra péritonéale de pentobarbital sodique (150 mg/kg) puis leur cerveau était prélevé. Des coupes coronales de 350 µm étaient réalisées à l'aide d'un vibratome (VT1000S) dans du liquide céphalo-rachidien artificiel (LCRA) à basse température (0-4°C) contenant, en mM : 85 NaCl, 26 NaHCO₃, 2,5

KCl, 1,25 NaH₂PO₄, 0,5 CaCl₂, 4 MgCl₂, 25 D-glucose, 75 sucrose. Les coupes étaient ensuite maintenues pendant au moins 30 minutes à température ambiante dans du LCRA (composition, en mM : 124 NaCl, 26 NaHCO₃, 1,25 NaH₂PO₄, 2,5 KCl, 4 MgCl₂, 1 CaCl₂, 10 D-glucose) oxygéné avec un gaz composé de 95% de CO₂ et 5% de O₂. Les coupes étaient ensuite transférées dans la cuve d'enregistrement continuellement perfusée avec du LCRA oxygéné (composition, en mM : 124 NaCl, 26 NaHCO₃, 1,25 NaH₂PO₄, 2,5 KCl, 4 MgCl₂, 4 CaCl₂, 10 D-glucose, 0,1 picrotoxine (PTX)) maintenu à 33°C. La PTX est un antagoniste des récepteurs GABA_A, ce qui permet de s'affranchir de la composante inhibitrice des réponses. La forte concentration en magnésium de la solution d'enregistrement avait pour but de compenser l'augmentation d'excitabilité due à la présence de la PTX. En effet, le manque de contrôle inhibiteur associé aux nombreuses connexions récurrentes des réseaux du PFC entraînait une hyperexcitabilité des tranches qui gênait l'analyse des réponses. Pour les expériences s'intéressant aux courants miniatures, le CaCl₂ était remplacé par du SrCl₂ (4,8 mM), le strontium permettant une désynchronisation des EPSC (Oliet et al., 1996; Xu-Friedman and Regehr, 1999). Les neurones pyramidaux des couches profondes des régions prélimbique et cingulaire antérieure du CPF étaient enregistrés en voltage-clamp (configuration cellule entière) à l'aide d'une micropipette de verre contenant une solution de césium gluconate (Cs-Glu ; composition, en mM : 120 Cs-Glu, 10 HEPES, 10 Na-phosphocréatine, 0,1 CaCl₂, 2 MgCl₂, 1 lidocaïne, 1 éthylène glycol bis (EGTA), 2 mM adénosine triphosphate (ATP)) contenant 0,2% de neurobiotine (Vector Laboratories, référence SP-1120). L'amplitude des courants post-synaptiques excitateurs (EPSC) étaient mesurés en réponse à la stimulation en couches superficielles (couches II/III, voie 1) ou profondes (couches V/VI, voie 2) du CPFm. Des stimulations paires espacées de 100 ms étaient réalisées sur chaque voie pour toutes les expériences à l'exception de celles réalisées en milieu contenant du Sr²⁺ afin de pouvoir mesurer le *paired-pulse ratio* (PPR), indicateur de la probabilité de libération présynaptique du neurotransmetteur. L'ensemble des enregistrements ont été réalisés en maintenant le potentiel de membrane des neurones à -70 mV, à l'exception des courants NMDA qui étaient mesurés à un potentiel de membrane de +50 mV. L'amplitude des réponses AMPA était mesurée au pic de l'EPSC, tandis que l'amplitude des réponses NMDA était mesurée 100 ms après la stimulation afin de s'affranchir de la composante AMPA de la réponse (Clem and Huganir, 2010). L'analyse des courants AMPA perméables au Ca²⁺ a été

réalisée par l'application de 1-Naphthyl Acetyl Spermine trihydrochloride (NASPM, Tocris) à une concentration de 50 μ M.

Révélation des neurones enregistrés

Immédiatement après la fin des enregistrements électrophysiologiques, les tranches étaient placées à 4°C dans du paraformaldéhyde (PFA) dilué à 4% dans du tampon phosphate (PB ; 0,1 M ; pH = 7,2), puis conservées dans du PB à 4°C jusqu'à l'étape de révélation de la neurobiotine. L'étape de révélation consistait en 15 minutes d'incubation des tranches dans du NH₄Cl concentré à 50 mM dans du PB, suivi de 1 heure d'incubation dans du tampon phosphate salin (0,02 M) contenant 0,3% de triton, et enfin de 3 heures d'incubation en présence de Texas Red (VectorLab). Les coupes étaient ensuite montées entre lame et lamelle dans une solution composée de 50% de PB et 50% de glycérol, puis observées en microscopie confocale à fluorescence afin de vérifier la nature et la localisation des neurones enregistrés.

III. Résultats et discussion

A. Etude *in vitro* de la transmission glutamatergique

1. Identification et localisation des neurones enregistrés

La première étape d'analyse à réaliser a été de localiser et d'identifier les neurones enregistrés. Pour cela, les pipettes d'enregistrements étaient remplies avec une solution intracellulaire contenant de la neurobiotine, une molécule diffusant à l'intérieur du neurone lors de son enregistrement et pouvant être révélée par le couplage avec un fluorochrome. En effet, contrairement à la couche pyramidale de l'HPC, il est plus difficile de se repérer dans les régions corticales, et plusieurs types de neurones ont des formes similaires.

L'analyse en microscopie à fluorescence et confocale (figure24) permet seule d'identifier la couche corticale et le type neuronal (cellule pyramidale ayant une dendrite apicale et de nombreuses épines sur les ramifications dendritiques).

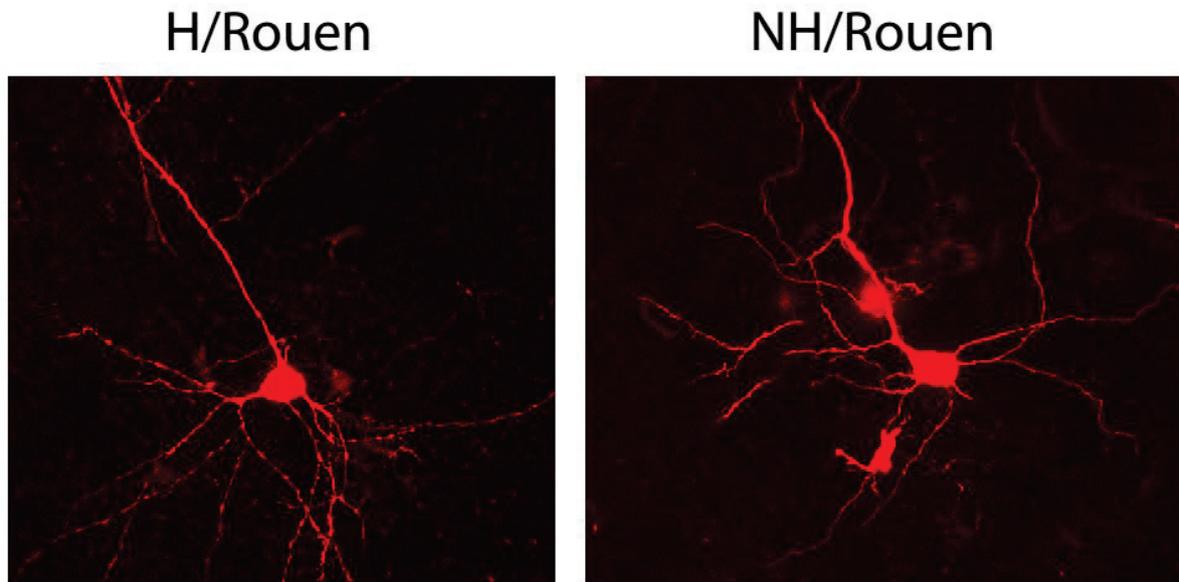


Figure 24 : Identification des neurones enregistrés par la révélation en fluorescence de la neurobiotine. Les pipettes d'enregistrement contenaient de la neurobiotine, qui diffusait dans le neurone pendant l'enregistrement. Ici sont présentées des photomicrographies d'un neurone enregistré de chaque lignée prises en microscopie confocale.

La révélation de la neurobiotine nous a donc permis de vérifier que les neurones enregistrés étaient bien dans les régions d'intérêt (CCA et PL). De plus, la présence d'une dendrite apicale dirigée vers la couche 1, ainsi que la forme du corps cellulaire nous a permis de vérifier la nature pyramidale des neurones enregistrés. Ce type de révélation permet également de réaliser une analyse de l'arborisation dendritique et de la densité et du volume des épines, ce que nous n'avons pas encore finalisé dans cette étude.

2. Transmission synaptique médiée par l'activation des récepteurs AMPA en condition basale.

L'objectif de cette série d'expériences était de déterminer si la transmission glutamatergique dans le CPFm entre les souris des lignées H/Rouen et NH/Rouen est différente. Des résultats préliminaires de notre équipe ont révélé une diminution significative du niveau d'ARNm codant pour la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA chez

les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen. Nous souhaitons donc nous concentrer sur la composante post-synaptique de la réponse synaptique glutamergique. Pour l'étudier, il fallait donc comparer la transmission glutamatergique basale chez les souris H/Rouen et NH/Rouen avec une technique adaptée. Les méthodes traditionnelles d'enregistrement reposant sur la stimulation électrique ne peuvent être utilisées puisque l'amplitude de la réponse synaptique est reliée de manière linéaire au nombre de fibres axonales stimulées. De manière alternative, nous avons réalisé des enregistrements en substituant le strontium (Sr^{2+}) au calcium (Ca^{2+}), une méthode utilisée pour étudier la transmission synaptique au sein d'un jeu de connexion avec une résolution approchant les méthodes d'analyses quantales de libération d'un neurotransmetteur (Goda and Stevens, 1994). Le Sr^{2+} est un cation divalent permettant également la libération des neurotransmetteurs au niveau pré-synaptique. Cependant, il est moins efficace que le Ca^{2+} puisque les EPSC sont de moindre amplitude (Oliet et al., 1996). Deuxièmement, la libération évoquée des vésicules est désynchronisée et phasique en présence de Sr^{2+} , ce qui provoque la libération de *quanta* (courants miniatures, CM) sur plusieurs centaines de millisecondes (Oliet et al., 1996; Xu-Friedman and Regehr, 1999). A chaque instant, le ou les sites de libération du neurotransmetteur ont une chance de libérer ou non le contenu d'une vésicule contenant ces molécules de neurotransmetteur (Stevens, 1993). Bernard Katz et collègues ont mis en évidence qu'une réponse synaptique correspond au produit de la probabilité de libération du neurotransmetteur (pr), de l'amplitude q de la réponse post-synaptique (correspondant à un quantum pour une seule vésicule libérée) et au nombre n de sites de libération du neurotransmetteur (del Castillo and Katz, 1954). L'entrée de calcium dans la terminaison axonale suite à la stimulation des collatérales de Schaffer, permet l'activation de protéines favorisant l'exocytose des vésicules de glutamate et donc sa libération dans la fente synaptique. Cet outil permet donc d'étudier les réponses évoquées par des *quanta* isolés les uns des autres, ce qui réduit les éventuelles différences pré-synaptiques (effet du nombre de sites n et du nombre de fibres axonales activées) et permet d'évaluer les réponses post-synaptiques qui concernent l'amplitude q d'un quantum.

Sous strontium, la stimulation électrique permet d'évoquer des réponses synaptiques « quantales » dans la cellule pyramidale enregistrée dans les couches profondes du CPFm. En utilisant cette technique nous pouvons déterminer si des différences existent entre les

réponses synaptiques des connexions superficielles, probablement cortico-corticales (intrinsèques à l'aire et venant d'aires corticales voisines) et des connexions profondes, probablement venant de structures sous-corticales. Sur la figure 25, l'analyse de la distribution de l'amplitude des CM révèle une diminution significative de la médiane (Me) chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen, à la fois lors de la stimulation des couches superficielles (figure 25A; $Me(H/Rouen) = 7,665$; $Me(NH/Rouen) = 20,836$) et des couches profondes (figure 25B; $Me(H/Rouen) = 7,268$; $Me(NH/Rouen) = 8,016$). Nous avons également analysé la distribution de l'amplitude des EPSC spontanés, c'est-à-dire non évoqués par une stimulation électrique. Cette analyse révèle là encore une diminution significative de la valeur médiane chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen (figure 25C; $Me(H/Rouen) = 18,828$; $Me(NH/Rouen) = 23,149$). L'ensemble de ces résultats suggère donc une diminution générale de l'amplitude des courants AMPA (*i.e. q*) dans les neurones pyramidaux des couches profondes du CPFm chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen, quelle que soit la voie étudiée. Ce résultat suggère ainsi une diminution de l'expression synaptique des récepteurs AMPA dans ces cellules pyramidales.

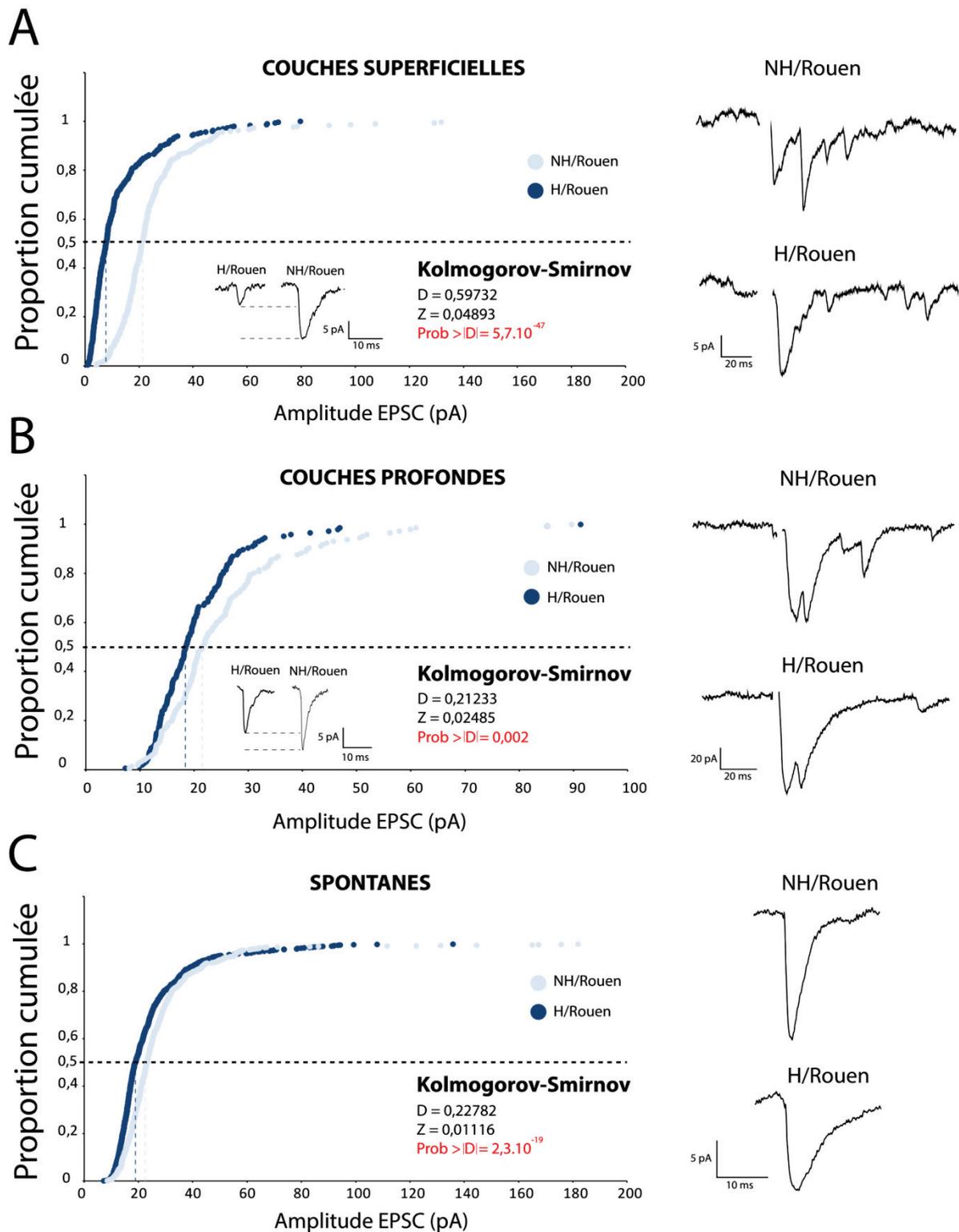


Figure 25 : Etude de l'amplitude des courants miniatures et spontanés. A-B. Analyse de l'amplitude des EPSC miniatures. Gauche : graphiques représentant la distribution des EPSC miniatures évoqués par la stimulation des couches superficielles (A, n = 298 par groupe) ou profondes (B, n = 228 par groupe) en fonction de leur amplitude chez les souris H/Rouen (bleu foncé) et NH/Rouen (bleu clair). La ligne noire pointillée marque la moitié des populations totales, et permet de projeter sur l'axe X la valeur médiane de chaque distribution (lignes pointillées bleues). Une moyenne des évènements d'un animal

représentatif de cette valeur médiane est illustrée sur le graphe. L'analyse statistique par le test de Kolmogorov-Smirnov (analysant la distribution statistique de l'amplitude des courants AMPA) révèle une valeur médiane de l'amplitude des EPSC supérieure chez les souris NH/Rouen par rapport aux souris H/Rouen sur les deux voies étudiées. Un exemple de tracé est donné pour chaque cas sur la droite des graphiques. **C.** Analyse de l'amplitude des EPSC spontanés ($n = 834$ par groupe) chez les souris H/Rouen (bleu foncé) et NH/Rouen (bleu clair). La même analyse est réalisée sur les EPSC spontanés, non évoqués par une stimulation électrique. Une moyenne des évènements d'un animal représentatif de la valeur médiane de chaque lignée est illustrée sur la droite du graphe. L'analyse statistique révèle ici aussi une valeur médiane de l'amplitude des EPSC spontanés significativement supérieure chez les souris de la lignée NH/Rouen par rapport aux souris de la lignée H/Rouen.

Nous avons ensuite étudié le rapport AMPA/NMDA, qui est classiquement utilisé pour quantifier l'amplitude des réponses AMPA après induction de mécanismes de plasticité tels que la LTP, puisqu'il a été montré que de manière générale l'amplitude de la réponse des récepteurs NMDA ne changeait pas lors de ce phénomène de plasticité (Clem and Huganir, 2010). Nous avons réalisé cette analyse sans induire de mécanismes de plasticité synaptique afin de mettre en évidence des différences basales entre les deux lignées dans la composition en récepteurs au niveau de la membrane post-synaptique. Nos résultats révèlent une diminution significative de ce rapport chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen lors de la stimulation des couches profondes (26B ; $p = 0,025$), ce qui va encore une fois dans le sens d'une diminution de la réponse AMPA chez cette lignée. Cependant, nous n'observons pas de différence significative lors de la stimulation des couches superficielles, mais une tendance à une augmentation de ce rapport chez les souris H/Rouen (figure 26B ; $p = 0,074$). Au vu de la différence importante dans la valeur médiane des CM observée lors de la stimulation des couches superficielles (figure 25A), ce résultat suggère donc une diminution importante des réponses synaptiques NMDA (qui expliquerait l'absence de modification du rapport AMPA/NMDA). Nous déterminerons si cette diminution de l'amplitude des réponses synaptiques NMDA dépend d'une diminution du nombre de récepteurs NMDA ou plutôt d'une diminution du nombre de sites synaptiques au niveau de cette voie, peut-être par diminution du nombre de synapses sur les cellules pyramidales enregistrées. Ces résultats doivent donc être complétés par une analyse des atteintes pré-synaptiques (permettant l'évaluation du nombre de sites n) en calculant la fréquence des courants synaptiques spontanés et évoqués sous strontium et en comptant le nombre et la forme des épines dendritiques des neurones que nous avons enregistrés.

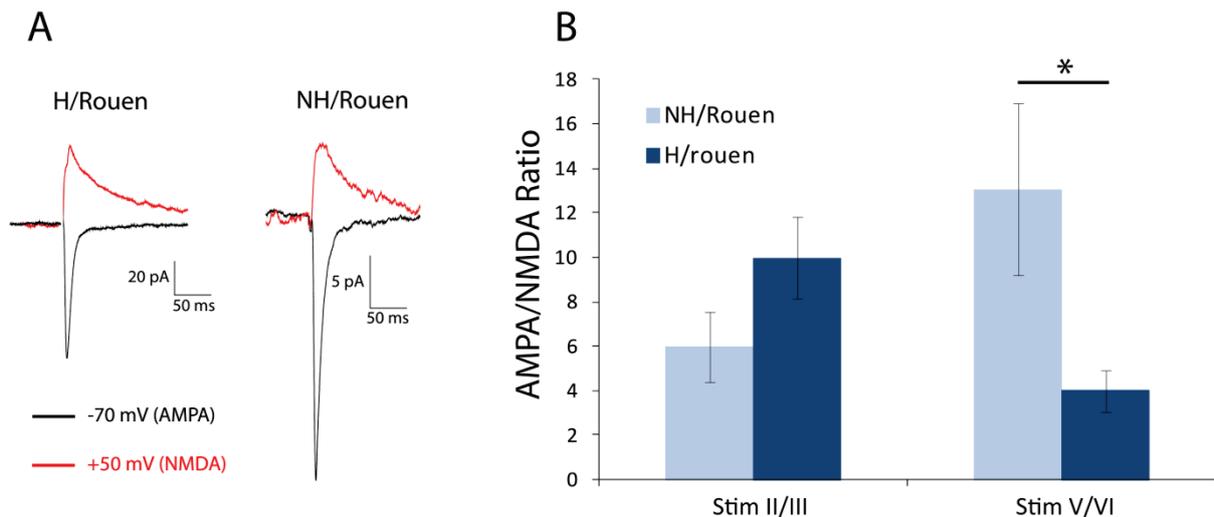


Figure 26 : Analyse du rapport AMPA/NMDA. **A.** Illustrations présentant la moyenne des évènements pour un animal représentatif de chaque lignée. Les tracés sont obtenus en moyennant les tracés de 50 EPSC correspondant à l'activation des récepteurs AMPA mesurée à un potentiel de membrane de -70 mV (noir) et de 50 EPSC correspondant à l'activation des récepteurs NMDA mesurée à un potentiel de membrane de +50 mV (rouge). **B.** Histogrammes représentant la valeur absolue du rapport de l'amplitude des courants AMPA sur l'amplitude des courants NMDA. Ce rapport est significativement supérieur chez les souris de la lignée NH/Rouen lors de la stimulation des couches profondes (droite).

Un indicateur de la composante pré-synaptique est l'analyse du PPR (voir méthodes), qui permet d'évaluer la probabilité de libération du neurotransmetteur. Nous observons dans l'ensemble de nos enregistrements une augmentation de l'amplitude de la deuxième réponse par rapport à la première (*paired-pulse facilitation*, PPF ; figure 27), ce qui indique une augmentation de libération du neurotransmetteur (ici le glutamate) suite à la deuxième stimulation. Cette augmentation est due à l'accumulation du Ca^{2+} résiduel dans le bouton pré-synaptique suite à la première stimulation, qui entraîne une augmentation de la libération du neurotransmetteur. Une diminution de la libération du neurotransmetteur lors de la première stimulation créerait alors une augmentation du *pool* de vésicules contenant le neurotransmetteur présentes lors de la deuxième stimulation, et donc une augmentation de la PPF. A l'inverse, une augmentation de la libération lors de la première stimulation entraînerait une diminution de la PPF. Nos résultats ne révèlent aucune différence de PPF entre nos deux lignées, ce qui ne suggère pas de modifications de la probabilité de libération du glutamate (figure 27).

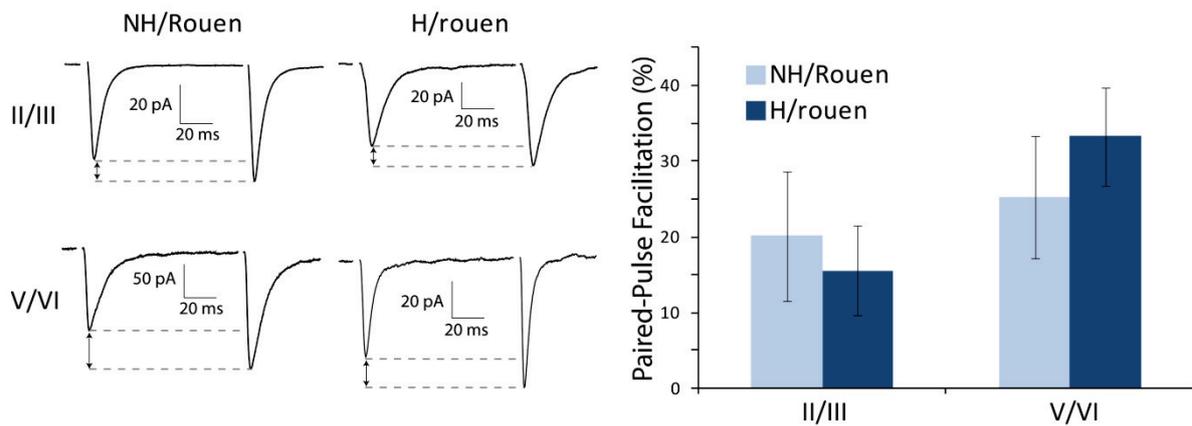


Figure 27 : La *paired-pulse facilitation* (PPF) n'est pas différente entre les lignées H/Rouen et NH/Rouen. Les tracés moyens d'expériences représentatives sont présentés sur la gauche de la figure pour la stimulation en couches superficielles (II/III, haut) et en couches profondes (V/VI, bas) chez les souris des lignées NH/Rouen (gauche) et H/Rouen (droite). Les lignes pointillées et les double-flèches marquent la différence d'amplitude entre les 2 réponses, utilisée pour calculer la PPF. Sur la droite sont présentées les valeurs moyennes de la PPF en pourcentage d'augmentation par rapport à la première réponse.

Les différences de réponse AMPA révélées par cette série d'expériences nous a ensuite conduit à déterminer le sous-type de récepteurs dont l'expression pouvait être modifiée.

3. Récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+}

Il existe différents types de récepteurs AMPA, qui se caractérisent par une combinaison particulière des sous-unités formant les récepteurs. Parmi ces sous-types de récepteurs, les récepteurs CP-AMPA (pour *Calcium Permeable-AMPA*) sont caractérisés le plus souvent par la présence de la sous-unité GluA1, perméable au Ca^{2+} et par l'absence de la sous-unité GluA2 non perméable au Ca^{2+} . Ce type de récepteur a déjà été impliqué dans les processus de plasticité synaptique comme la LTP (Shi et al., 1999), ainsi que dans la mémoire. En effet, une insertion transitoire de ces récepteurs est observée au niveau de la synapse thalamo-amygdalienne après un CPi (Clem and Huganir, 2010). Nous avons étudié l'implication de ces récepteurs dans la réponse AMPA par l'application d'un antagoniste des récepteurs CP-AMPA, le NASPM.

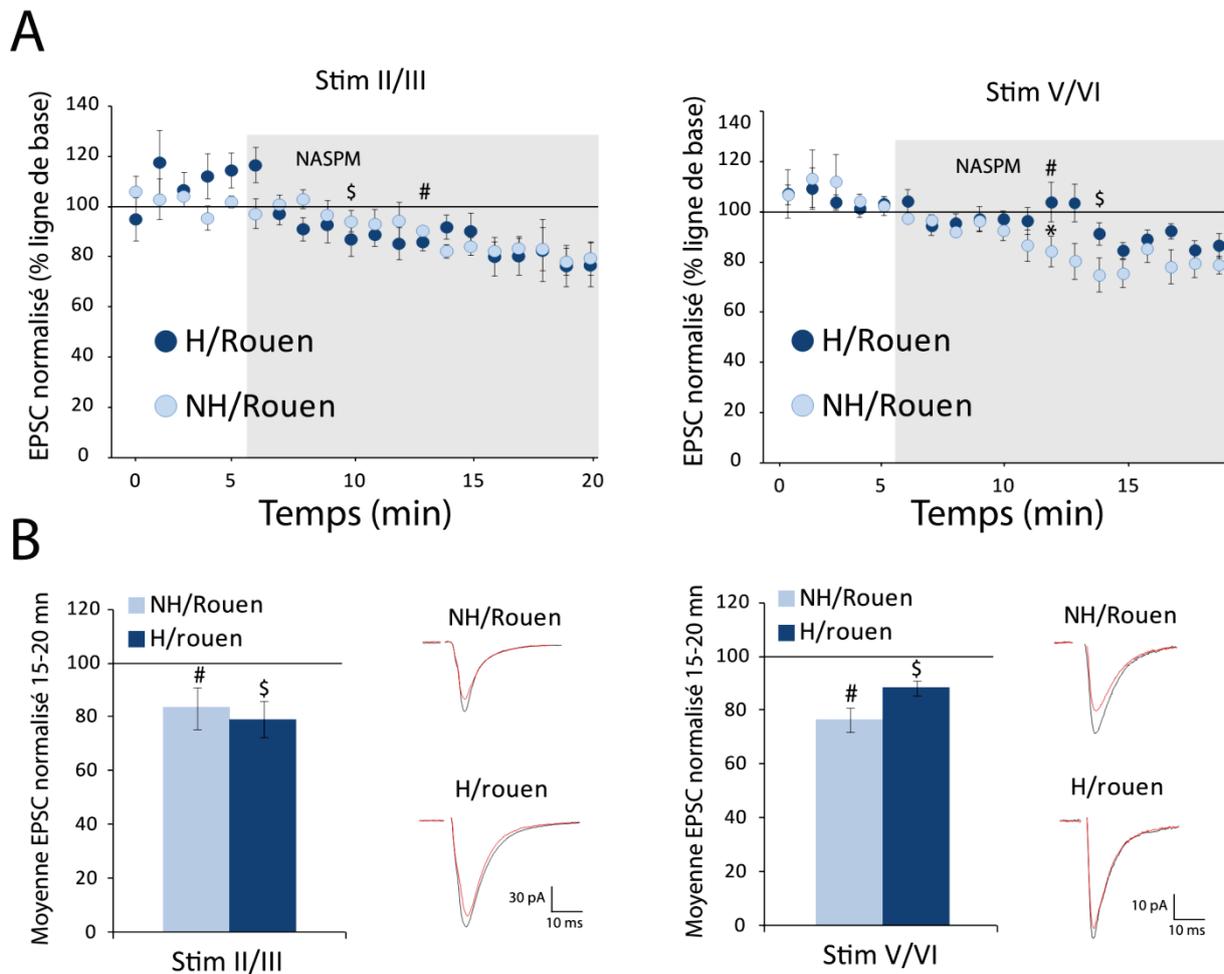


Figure 28 : Analyse des courants AMPA perméables au Ca^{2+} . **A.** Cinétique de l'évolution de l'amplitude des EPSC sous application de NASPM. L'amplitude des EPSC est présentée en pourcentage de la ligne de base en fonction du temps pour les réponses à la stimulation des couches superficielles (II/III, gauche) et des couches profondes (V/VI, droite). La zone grise représente la durée d'application du NASPM. Une différence entre souris H/Rouen et NH/Rouen n'est observée qu'en cas de stimulation des couches profondes qu'à la 7ème minute d'application de l'antagoniste. La première minute au cours de laquelle la réponse est significativement diminuée par rapport à la ligne de base est indiquée par les symboles "#" (NH/Rouen) et "\$" (H/Rouen). **B.** Diminution de l'amplitude des EPSC après application de NASPM. Les histogrammes présentent l'amplitude normalisée des EPSC moyennée sur les 5 dernières minutes d'application de NASPM lors de la stimulation des couches superficielles (gauche) et profondes (droite). Les tracés représentent la moyenne des EPSC d'un animal représentatif de la lignée sur les 5 minutes de ligne de base (noir) et les 5 dernières minutes d'application de NASPM (rouge). Une diminution significative des EPSC est observée sur les 2 voies chez les 2 lignées. * : différence significative entre H/Rouen et NH/Rouen ($p < 0,05$) ; # : différence significative par rapport à la ligne de base (NH/Rouen ; $p < 0,05$) ; \$: différence significative par rapport à la ligne de base (H/Rouen ; $p < 0,05$).

Nos résultats révèlent une diminution significative de la réponse par rapport à la ligne de base entre 10 et 15 minutes d'application de NASPM lors de la stimulation des couches

superficielles dans les deux lignées (figure 28B gauche ; $p = 0,05$ (NH/Rouen) ; $p = 0,046$ (H/Rouen)). Aucune différence significative n'est observée entre les lignées, bien que l'antagoniste semble avoir une cinétique d'action plus rapide chez les souris de la lignée H/Rouen (diminution significative après 5 minutes d'application de NASPM ; figure 28A gauche ; $p = 0,046$) par rapport aux souris de la lignée NH/Rouen (diminution significative après 8 minutes d'application de NASPM ; $p = 0,011$). Une diminution significative est également observée entre 10 et 15 minutes d'application de NASPM chez les deux lignées lors de la stimulation des couches profondes (figure 28B droite ; $p = 0,018$ (NH/Rouen) ; $p = 0,011$ (H/Rouen)). Sur cette voie, une diminution significative de la réponse est observée à la 7ème minute d'application de l'antagoniste chez les souris NH/Rouen par rapport aux souris H/Rouen (figure 28A droite ; $p = 0,016$), moment auquel la diminution d'amplitude de la réponse apparaît de manière significative chez la lignée NH/Rouen ($p = 0,05$). Une diminution significative de la réponse est observée à la 9ème minute d'application de NASPM chez les souris H/Rouen ($p = 0,012$). Ces différences ne sont néanmoins pas significatives entre les lignées concernant la diminution de la réponse entre 10 et 15 minutes d'application de NASPM. En effet, une tendance à une diminution plus importante chez les souris NH/Rouen est observée, qui demeure non significative avec un intervalle de confiance de 95% (figure 28B droite ; $p = 0,058$).

L'ensemble des résultats de notre étude électrophysiologique suggère donc fortement une hypo-activité de la transmission glutamatergique basale dans le CPFm des souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse glutamatergique récemment proposée, ainsi qu'avec certains résultats de la littérature (Duman and Aghajanian, 2012). Cette hypo-activité semble être due à une réduction du nombre de récepteurs AMPA post-synaptiques. En effet, les différences significatives entre les lignées sont observées lors de l'analyse des courants miniatures (figure 25) et du rapport AMPA/NMDA (figure 26). Ces deux analyses permettent l'étude des récepteurs post-synaptiques, et suggèrent une diminution de l'amplitude de la composante AMPA des EPSC chez les souris de la lignée H/Rouen (amplitude des courants miniatures et rapport AMPA/NMDA diminués). De plus, nous n'observons pas de différence entre les lignées lors de l'analyse de la PPF (figure 27), ce qui suggère qu'il n'y a pas de différence de probabilité de libération du neurotransmetteur au niveau pré-synaptique.

Nous avons ensuite voulu quantifier l'expression de la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA au niveau protéique. Cette analyse a permis de tester l'hypothèse selon laquelle la diminution de la réponse AMPA observée en électrophysiologie pourrait être reliée à une diminution de l'expression de cette protéine.

B. Expression de la sous-unité GluA1

La transcription du gène codant pour la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA est fortement réduite dans le CPFm des souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen. Nous avons voulu tester si la diminution de la transmission glutamatergique révélée par nos résultats électrophysiologiques était reliée à une sous-expression de GluA1 au niveau protéique. Pour cela, nous avons réalisé une révélation en immunofluorescence de cette protéine puis quantifié le nombre de *puncta* (nombre de sites de marquage) observés par unité de volume. Nos résultats préliminaires réalisés sur 4 animaux de chaque lignée suggèrent une tendance à l'augmentation de l'expression de GluA1 chez les souris de la lignée NH/Rouen par rapport aux souris de la lignée H/Rouen (figure 29). Cette augmentation n'est cependant pas significative (test de Mann-Whitney : $p = 0,15$ (couches profondes) ; $p = 0,25$ (couches superficielles)), et il convient de compléter cette étude en augmentant la taille des échantillons.

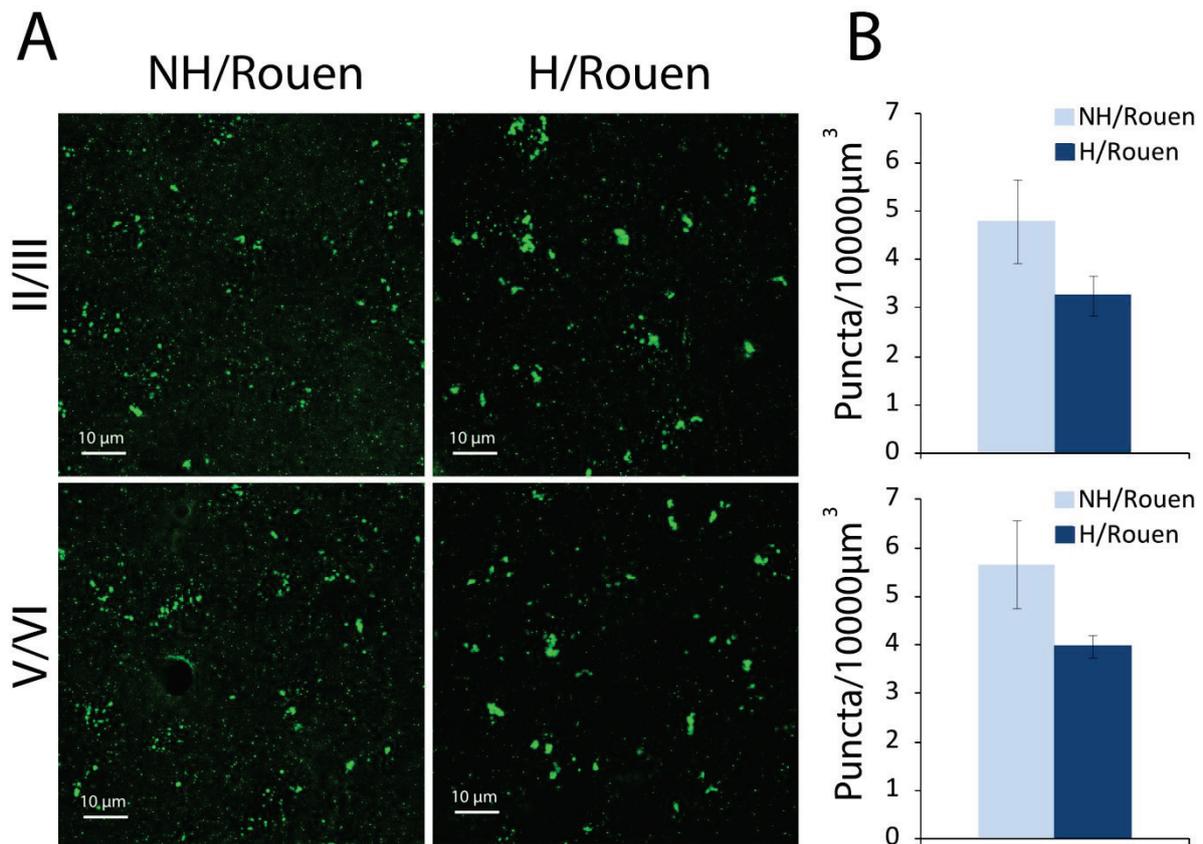


Figure 29 : Expression de la protéine GluA1 dans le CPFm des souris H/Rouen et NH/Rouen. **A**. Photomicrographies de la révélation en immunofluorescence de la protéine GluA1 dans les couches superficielles (II/III, haut) et profondes (V/VI, bas) dans le CPFm des souris NH/Rouen (gauche) et H/Rouen (droite). **B**. Quantification du nombre de *puncta* par unité de volume dans les couches superficielles (haut) et profondes (bas) du CPFm des souris H/Rouen et NH/Rouen. Une tendance non significative vers la diminution du nombre de *puncta* est observée dans les 2 couches chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen.

Une autre différence qui semble apparaître lors de l'observation des clichés est la différence de volume des *puncta* entre les 2 lignées, qui semble beaucoup plus importante chez les souris H/Rouen (figure 29). Nous n'avons pas encore quantifié ces données, mais des résultats préliminaires de colocalisation avec la protéine synaptique Synapsine suggèrent que les *puncta* de taille importante soient localisés au niveau des synapses (données non montrées). Si les futures analyses confirment cette différence apparente, cela pourrait suggérer un déficit de trafic de cette sous-unité GluA1 qui pourrait entraîner des déficits importants de plasticité. Par ailleurs, réaliser une expérience d'immunofluorescence sans perméabiliser la membrane cytoplasmique permettrait d'évaluer le niveau d'insertion de ces récepteurs à la membrane. En effet, notre étude ne permet pas de différencier les protéines

cytoplasmiques des protéines membranaires, et une diminution de l'insertion de GluA1 au niveau de la membrane synaptique pourrait être reliée à la diminution de la transmission glutamatergique observée chez les souris H/Rouen. Il serait par ailleurs important d'identifier le type de neurones, en réalisant par exemple une révélation en immunofluorescence de la CamKII, qui permettrait d'identifier les neurones pyramidaux. Il est en effet possible que l'expression de GluA1 diffère entre neurones principaux excitateurs et interneurons inhibiteurs. Des modifications de l'expression de GluA1 dans l'un ou l'autre de ces types de neurones pourraient entraîner des effets opposés au niveau fonctionnel et il est donc important, tout comme pour l'étude électrophysiologique, d'identifier le type de cellule étudiée.

C. Discussion méthodologique

1. Utilisation du modèle de dépression H/Rouen

L'utilisation de modèles animaux dans l'étude des troubles psychiatriques a toujours été sujette à débat, depuis son introduction ancienne en psychologie expérimentale. En effet, il est impossible de créer un modèle reproduisant exactement les symptômes de la maladie chez une autre espèce. Comme mentionné dans la partie Rappels Bibliographiques la pathologie psychiatrique est par nature très complexe sur le plan symptomatologique et l'on a souvent recours à la notion de syndrome (groupe de symptômes), par exemple pour la schizophrénie, et non plus de maladie clairement identifiée. Les classifications de symptômes comme le DSMIV sont utiles pour le diagnostic mais n'ont pas la reproductibilité observée dans les maladies neurologiques. Il faut noter également que la pathologie psychiatrique résulte plus qu'une autre de l'association entre un dysfonctionnement neurobiologique et un environnement social perturbé. Ainsi, les troubles psychiatriques sont exprimés très différemment selon les individus. Cela doit conduire bien sûr à beaucoup de prudence dans le développement et l'utilisation de modèles animaux de la dépression. Cependant, tout comme dans l'étude de la mémoire ou des émotions, des tests comportementaux mis au point ont progressivement permis d'établir des correspondances entre espèces. Ce sont ces similarités comportementales que l'utilisation de modèles

animaux permet d'étudier. La lignée H/Rouen n'est pas une reproduction à l'identique de la DM « chez l'Homme ». Il s'agit cependant d'un modèle utile présentant de nombreuses similarités avec la DM (résignation, anhédonie, anxiété, perturbations du sommeil, altérations de la transmission sérotoninergique, etc) qui méritent d'être étudiées au niveau pathophysiologique et thérapeutique. Il faut souligner également que la lignée NH/Rouen utilisée comme lignée de comparaison (et non comme groupe contrôle), n'est pas un modèle de sujet sain mais une lignée partant de la même souche de départ, ayant subi les mêmes manipulations, et présentant des caractéristiques opposées à la lignée H/Rouen pour ce qui est des paramètres d'intérêt (symptômes dépressifs). Les différences observées dans nos études entre les deux lignées peuvent alors être reliées à ces caractéristiques phénotypiques extrêmes qui les séparent, sans proposer *a priori* que la lignée NH/Rouen ait d'un phénotype "normal".

La lignée H/Rouen est un modèle génétique qui est donc éloigné de la DM, pathologie psychiatrique qui, elle, apparaît progressivement au cours de la vie des individus. Cependant, l'utilisation de ce modèle ne vise pas à comprendre les causes du développement d'une DM, mais à identifier les mécanismes physiopathologiques une fois la maladie déclenchée, ainsi qu'un moyen de rétablir les phénotypes comportementaux. Les résultats démontrent empiriquement que le modèle est adapté puisque de nombreuses similitudes sont observées avec les patients dépressifs (voir plus haut), et que le phénotype dépressif est amélioré par un traitement aux antidépresseurs avec les mêmes délais que chez les patients (El Yacoubi et al., 2013).

2. Enregistrements électrophysiologiques *in vitro*

L'objectif principal de l'étude du modèle H/Rouen était d'identifier des altérations de la transmission glutamatergique dans le CPFm de ces souris. L'utilisation de techniques d'électrophysiologie *in vitro* était ainsi le moyen de remplir cet objectif, puisqu'il s'agit du seul outil permettant d'étudier un type de transmission synaptique indépendamment des autres grâce à l'utilisation d'antagonistes des récepteurs aux neurotransmetteurs. Cependant, cette méthode possède plusieurs inconvénients. L'analyse de la transmission

synaptique glutamatergique est actuellement très difficile ou impossible *in vivo* avec l'électrochimie, la microdialyse ou l'électrophysiologie intracellulaire. Cependant, *in vitro*, l'état des tranches se dégrade après le sacrifice, entraînant des différences au sein du même animal, en fonction du délai entre sacrifice et enregistrement. Pour cette raison, nous avons limité l'utilisation des tranches à 6h après sacrifice de l'animal. Deuxièmement, la tranche est isolée du reste du cerveau, et *a fortiori* du corps, ce qui nous éloigne énormément des conditions physiologiques basales. En effet, l'activité périphérique –hormonale par exemple– est primordiale dans les systèmes émotionnels et cette activité est absente lorsque nous utilisons cet outil.

D. Conclusions de l'étude

L'étude de la transmission glutamatergique dans le CPFm des souris résignées H/Rouen et non résignées NH/Rouen reste encore préliminaire, mais a permis d'identifier des différences importantes entre les deux lignées. En effet, une diminution de la réponse AMPA est observée sur chaque voie étudiée, ainsi que lors de l'analyse des courants spontanés. Cela suggère donc une diminution généralisée de la transmission glutamatergique dans le CPFm des souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen. De plus, quelques différences apparaissent si l'on compare les résultats de la stimulation en couches superficielles et en couches profondes. En effet, si la diminution des CM est beaucoup plus importante concernant les couches superficielles, l'analyse du rapport AMPA/NMDA ne révèle une diminution significative chez les souris H/Rouen qu'au niveau des couches profondes. Ce résultat suggère fortement une diminution importante des courants NMDA au niveau des couches superficielles. Cependant, une diminution du nombre de synapses dans les neurones des souris H/Rouen est également envisageable. En effet, une telle diminution entraînerait une diminution de l'amplitude des courants miniatures (moins d'entrées synaptiques) sans affecter le rapport AMPA/NMDA, qui dépend de la proportion de chacun de ces récepteurs à la synapse et non de leur quantité totale. Par ailleurs, notre étude des courants issus des récepteurs CP-AMPA suggère une tendance à une diminution de ce type de courants au niveau des couches profondes chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen. Toutefois l'analyse statistique ne révèle pas de différence évidente.

Enfin, notre étude préliminaire de l'expression de la sous-unité GluA1 dans le CPFm suggère également des différences entre les deux lignées. En effet, le nombre de *puncta* observés en immunofluorescence semble inférieur chez les souris H/Rouen par rapport aux souris NH/Rouen, ce qui pourrait suggérer une diminution de l'expression de cette protéine. A l'inverse, la taille de ces *puncta* semble supérieure chez les souris H/Rouen, ce qui pourrait être révélateur d'un défaut de trafic de cette protéine. Il sera donc important à l'avenir d'augmenter la taille des échantillons étudiés afin de conclure sur ces différents points.

DISCUSSION GENERALE

Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont permis de révéler pour la première fois un rôle des six premières heures de SP post-apprentissage dans la consolidation à très long terme (30 jours) d'un CPc chez la souris. Nous montrons également, par quantification du marqueur d'activité neuronale *egr1* (*zif268*), que la privation de SP post-apprentissage modifie de manière importante les processus de réorganisation systémique des réseaux de la mémoire. Ces résultats suggèrent que le SP post-apprentissage est important dans l'induction des processus de diminution de l'activité des réseaux émotionnels qui a normalement lieu au cours du temps, ainsi que dans le désengagement progressif de l'HPC au profit du CPFm. Enfin, nos résultats révèlent une altération de la transmission glutamatergique dans le CPFm d'un modèle murin de DM, présentant conjointement des troubles émotionnels et des altérations du SP. Ainsi l'ensemble de nos résultats suggèrent que le SP est un état privilégié pour la régulation à très long terme des émotions, notamment par des modulations de l'activité du CPFm. Avant de discuter ces résultats, nous devons aborder de manière critique la méthode de privation sur lequel repose ce travail.

I. Discussion méthodologique

A. Privation automatique de SP

La grande majorité des études de privation de SP utilisent la technique du « pot de fleur inversé » comme méthode de privation, pour des durées allant jusqu'à 72h (McDermott et al., 2003; Renouard et al., 2015). Cette méthode a de nombreuses fois été remise en cause, principalement en raison du stress d'immobilisation engendré par ce protocole. Elle a été souvent améliorée notamment par l'ajout de deux autres plateformes permettant à l'animal de bouger. Cependant, dans ces conditions, le niveau de stress reste élevé à cause de la présence d'eau autour des plateformes (Clément et al, 2012). Le stress étant lui-même un important modulateur de la mémoire, l'interprétation du rôle du SP dans la mémoire dans les études utilisant cette méthode de privation se trouve donc être biaisée.

En conséquence, des méthodes alternatives de privation plus douces ont été développées ces dernières années. Des méthodes de privation ont été utilisées comme l'enrichissement de l'environnement par de nouveaux objets (Vyazovskiy et al., 2007). En effet, dans un tel environnement, l'animal, stimulé par la nouveauté, passe beaucoup plus de temps à explorer qu'à dormir. Néanmoins, ce protocole a également des inconvénients et il ne permet pas de faire une privation sélective de SP. Pour la privation sélective de SP, trois méthodes ont été récemment proposées : 1) la méthode de *gentle handling* utilisée dans une précédente étude de notre équipe (Ravassard et al., 2016), 2) celle développée dans les études de Datta (Datta et al., 2004) et 3) la méthode de privation automatique développée au laboratoire (Libourel et al., 2015) et utilisée pour l'étude décrite dans cette thèse. Les méthodes 1) et 3) de Ravassard et Libourel sont comparables puisqu'elles consistent à appliquer une légère secousse sur la cage de l'animal lorsque celui-ci entre en SP. Cependant, la privation automatique, par définition, ne nécessite pas la présence d'un expérimentateur qui pourrait être une source de stress ou de bruits parasites gênant pour le sommeil de l'animal. La méthode automatique n'entraîne pas d'augmentation de la concentration plasmatique de corticostérone après 48h de privation, ce qui suggère fortement qu'il s'agit d'une méthode non stressante (Arthaud 2017, en préparation). Néanmoins, nous ne pouvons pas exclure que les premières heures de privation puissent engendrer un stress, qui disparaîtrait ensuite lorsque les animaux s'habituent aux secousses. Nous prévoyons de déterminer la concentration de corticostérone plasmatique après une privation courte de 6h. Dans l'étude de Ravassard et al, la quantification de la cortisone plasmatique ne montre cependant d'augmentation de cette hormone après 4h de privation. Deux observations suggèrent que la méthode de privation que nous avons utilisée est peu ou pas stressante sur une courte période. La première est que les animaux présentent une latence d'endormissement de seulement quelques secondes après une secousse. La deuxième observation est que notre protocole de privation n'a causé aucun effet sur les performances comportementales ou l'activité cérébrale des animaux lors du rappel 24h après le conditionnement. Un stress intense aurait certainement entraîné des modifications de l'un ou l'autre de ces paramètres (Uwaya et al., 2016).

La méthode automatique repose sur un décodage presque en direct des signaux EEG et EMG sur des époques de 1 seconde pour l'attribution des états de vigilance. Le caractère

probabiliste de l'attribution des états de vigilance peut amener une confusion si la qualité des signaux subit de légères modifications au cours des enregistrements de longue durée. Dans notre étude en particulier, à la période de conditionnement, les enregistrements sont arrêtés. Cette procédure peut entraîner une légère modification du signal, notamment EMG, qui peut altérer la discrimination de ces états par le logiciel de détection automatique, notamment celle entre éveil et SP (car l'EEG est similaire entre ces deux états). Ainsi cette méthode comporte plus de risques de non spécificité de la privation que la méthode manuelle qui repose sur l'expertise de l'expérimentateur. Ceci peut parfois conduire à une légère privation de SL, comme nous avons pu l'observer dans certaines de nos expériences (figures 22 et 23). Malgré tout l'ensemble de nos résultats montrent l'efficacité ainsi que la spécificité importante de cette méthode de privation.

Les méthodes de privation de SP ne permettent pas à elles seules de disséquer la fonction mnésique du SP. Une approche complémentaire est l'approche corrélationnelle, très utilisée chez l'Homme et maintenant chez les rongeurs (Datta, 2000, 2004; Fraize et al., 2016; van der Helm et al., 2011; Nishida et al., 2009; Popa et al., 2010), qui permet de mettre en évidence des liens éventuels entre différents paramètres du sommeil et du comportement. Nous l'avons utilisée pour certains aspects de notre étude (figure 1 de l'article ; figures 19 et 20). Cette approche repose sur les variabilités interindividuelles et a l'avantage de permettre l'étude d'un sommeil de base, en l'absence de mécanismes de régulation homéostatique subséquents à la privation. Les autres stades de sommeil peuvent en effet être modifiés par une privation de SP, même si celle-ci est non stressante et spécifique. C'est ce que suggèrent nos résultats concernant l'étude du sommeil de transition (ST) dont la quantité est corrélée aux performances des animaux seulement en cas de privation de SP, suggérant un effet compensateur de ce stade de sommeil (figure 19). Cependant les études corrélatives ne permettent pas de mettre en évidence un lien causal entre deux paramètres. Une méthode alternative est la manipulation de certains processus pendant les épisodes de SP, qui permet alors de mettre en évidence un lien causal entre un paramètre particulier du SP et l'objet de l'étude (performances mnésiques par exemple). L'outil optogénétique est très bien adapté à ce type d'étude comme le montre l'étude récente de Boyce et collaborateurs dont nous avons déjà parlé dans ce manuscrit (Boyce et al., 2016). Boyce et ses collaborateurs ont réalisé une inhibition des oscillations de rythme thêta au cours du SP grâce à l'inhibition

optogénétique des interneurons du septum. Cette inhibition provoquait une altération des performances lors du rappel d'un CPc 24h après le conditionnement. Ces résultats mettent donc en évidence un lien causal entre oscillations thêta du SP et consolidation d'un CPc, même s'il est possible que l'absence de ces oscillations modifie également d'autres paramètres du SP, comme sa neuromodulation particulière. Cette approche pourrait être mise en place pour étudier plus précisément le rôle du SP dans la consolidation systémique de mémoires émotionnelles anciennes qui était l'objet de cette thèse.

B. Conditionnement contextuel à la peur de premier plan

De nombreuses études chez l'Homme et l'animal suggèrent que le SP soit particulièrement impliqué dans les processus de consolidation de mémoires à teneur émotionnelle (Genzel et al., 2015; Goldstein and Walker, 2014). Parmi les tâches de mémoire émotionnelle, le CP est certainement la tâche comportementale mnésique la plus étudiée et la mieux caractérisée chez le rongeur. C'est la raison pour laquelle nous avons choisi cette tâche pour notre étude. Le CP est un apprentissage rapide et robuste dans lequel le moment précis de l'association entre SC et SI est connu et peut ne nécessiter qu'une seule occurrence, comme c'était le cas dans notre étude impliquant l'application d'un seul choc électrique. Il s'agit donc d'une tâche très adaptée à l'étude des premières heures de consolidation, contrairement à des tâches plus complexes dans lesquelles l'acquisition de l'apprentissage est prolongée et plus diffuse dans le temps, à l'image d'un conditionnement opérant ou d'une tâche d'apprentissage spatial en labyrinthe aquatique ou en labyrinthe radial. Les travaux de l'équipe montrent en effet que dans le labyrinthe radial une tâche de mémoire de référence (donc de longue durée) n'induit des changements dans le SP qu'après 5 jours d'apprentissage. Ce n'est que lorsque les animaux ont acquis la règle de la tâche que les quantités de SP augmentent significativement (Fraize et al., 2016).

Nous avons choisi d'utiliser la version contextuelle du CP pour les travaux de cette thèse pour plusieurs raisons. Tout d'abord, il a précédemment été montré que la version contextuelle est plus sensible aux manipulations du SP que la version indicée (McDermott et al., 2003), ce qui a été confirmé par une étude récente (Boyce et al., 2016). Deuxièmement,

de précédents travaux de notre équipe ont montré qu'une privation courte de SP affectait la potentialisation à long terme dans le dHPC mais pas dans le vHPC (Ravassard et al., 2016), ce qui suggère encore une fois un effet spécifique des manipulations du SP sur la version contextuelle d'un CP. Il aurait été cependant intéressant d'utiliser un paradigme de CPc d'arrière-plan qui nous aurait permis de comparer les effets comportementaux de la privation de SP entre les versions indicée et contextuelle. Un CPc d'arrière-plan aurait probablement été plus sensible à la privation de SP, étant donné la sensibilité accrue aux manipulations de l'HPC du CPc d'arrière-plan par rapport au CPc de premier plan (Phillips and LeDoux, 1994). Cependant, notre objectif principal était d'étudier l'influence de la privation de SP sur la réorganisation systémique, et les deux aspects (CPi et CPc) du paradigme de CPc d'arrière-plan auraient alors pu biaiser notre étude immunohistochimique (nous n'aurions pas su si les changements dans l'expression de Egr1 observés après rappel eut été dû au rappel de l'indice saillant (son) ou à celui du contexte).

Enfin, nous avons choisi de réaliser un protocole de faible intensité (1 seul choc, 1 seconde), qui provoque des quantités de *freezing* plus faibles que dans la plupart des études de CP. Nous avons choisi ce type de protocole car des résultats précédents réalisés au laboratoire ont montré que les performances des animaux lors d'un protocole intense (deux chocs) de CP n'étaient pas modifiées par la privation de SP (thèse d'Al Mahdy Hamieh). Nous souhaitons étudier un cas dans lequel la privation de SP était susceptible de modifier le comportement. De plus, utiliser un protocole de faible intensité nous rapproche d'une situation physiologique de peur non traumatisante, ce qui rend nos résultats plus proches d'une situation courante d'une expérience aversive, émotionnelle et négative, comme nous pouvons en avoir tous dans la vie quotidienne.

C. Utilisation de la protéine EGr1 (Zif268) comme marqueur d'activité

Chez l'animal, la mise en évidence de la réorganisation systémique des réseaux mnésiques a majoritairement été réalisée au moyen d'études lésionnelles et de l'utilisation de gènes d'expression précoce (IEG) comme marqueurs d'activité (Cullen et al., 2015;

Frankland et al., 2004; Kim and Fanselow, 1992; Maviel et al., 2004). Les travaux de cette thèse avaient pour but de mettre en évidence l'influence du SP sur cette réorganisation des réseaux en étudiant un grand nombre de régions, ce pour quoi nous avons privilégié l'étude de l'expression d'un seul IEG. Nous avons effectué une étude préliminaire avec le gène c-Fos en Master2 qui a donné des résultats préliminaires assez proches de ceux obtenus avec *Egr1*. Parmi les différents gènes disponibles, nous avons choisi d'étudier l'expression d'*Egr1* (*zif268*) pour plusieurs raisons. Tout d'abord, l'expression de cette protéine est sensible à la fois à la dépolarisation des neurones (Sukhatme et al., 1988) mais aussi à de nombreux mécanismes de plasticité et de modifications morphologiques (Cole et al., 1989; Kaplan et al., 1995; Ribeiro et al., 1999; Jones et al.). L'expression basale de *zif268* est élevée dans le cortex ce qui permet d'observer parfois des phénomènes d'inactivation neuronale comme nous l'avons vu dans le cortex rétrosplénial (figure 4B de l'article). Ce phénomène a été observé dans la région CA1 de l'hippocampe dorsale après une privation de 4h de SP (Ravassard et al 2016). Enfin, cet IEG est le seul à avoir été utilisé dans toutes les études utilisant ce type d'outils et ayant servi de base pour ces travaux, ce qui rend plus aisé la mise en relation de nos résultats avec ceux de la littérature (Frankland et al., 2004; Ribeiro et al., 1999, 2002).

L'utilisation d'un IEG comme marqueur indirect d'activité permet l'étude d'un grand nombre de régions cérébrales. Cependant, une première critique qui peut être adressé à cette méthode est justement son aspect indirect. En effet, nous n'observons pas l'activité des régions, mais l'un des produits de l'activité neuronale, et ce 90 minutes après l'activation du neurone en tant que telle. Deuxièmement, le nombre important de facteurs déclenchant l'expression de cette protéine empêche d'affirmer si les effets observés sont dus à l'activation des neurones ou à la mise en place de mécanismes de plasticité (et le cas échéant, quels sont ces mécanismes de plasticité ?). Enfin, notre étude ne permet pas de déterminer quelle est la nature des neurones exprimant *Zif268* (neurones *Zif268*⁺), ce qui peut gêner la détection de mécanismes subtils tels que le changement de population neuronale. Il a en effet été montré qu'une procédure d'extinction entraîne une modification des populations neuronales activées dans l'amygdale lors du rappel (Herry et al., 2008). Notre étude ne permet donc pas de dissocier l'activité des neurones impliqués dans le rappel de ceux impliqués dans d'autres processus tels que l'extinction ou la reconsolidation.

Nous avons réalisé une analyse connectomique de nos données, qui consiste à corréler la densité de marquage entre les différentes régions. Cela apporte un point de vue dynamique sur l'activité du réseau. Néanmoins il est important de rester prudent quant à l'interprétation de ce type d'analyse pour plusieurs raisons. Tout d'abord, il s'agit d'une analyse corrélative qui ne permet pas d'apporter de résultat causal. De plus, dans notre étude, de nombreuses corrélations ont été réalisées (351) et le risque de trouver une corrélation significative due au hasard est donc potentiellement important. Nous avons donc réalisé une analyse statistique des différences entre les différentes matrices construites grâce à la méthode de tirage au hasard (*bootstrap*). Cette méthode consiste en la redistribution aléatoire des données des deux groupes étudiés afin de constituer deux nouveaux groupes, dont les données sont alors issues du hasard. Comparer ensuite la valeur du coefficient de corrélation du réel jeu de données expérimentales avec celle de tous les autres permet de déterminer si la corrélation observée est significativement supérieure au hasard ou non.

Malgré les défauts de notre méthode immunohistochimique, il s'agissait de l'outil le mieux adapté pour remplir l'objectif principal que nous nous étions fixés : identifier les régions dans lesquelles la réorganisation systémique est altérée par la privation de SP. En particulier nous voulions déterminer s'il existe une réorganisation fine après privation de SP au niveau des différentes aires et couches corticales. En identifiant plusieurs régions modulées par la privation de SP, notre étude peut servir de base aux futures investigations visant à disséquer plus en détail les mécanismes cellulaires prenant place dans ces régions au cours du SP.

D. Utilisation de tests comportementaux après le rappel

Notre étude principale révèle que les animaux privés de SP présentent un niveau de *freezing* plus faible que les animaux non privés, lors du rappel 30 jours après le conditionnement. Cependant, malgré cet apparent rappel moins important, le réseau émotionnel des animaux privés est paradoxalement hyper-activé par rapport aux animaux non privés. Pour comprendre ce paradoxe, nous avons donc voulu évaluer l'état émotionnel

des animaux, notamment leur niveau d'anxiété, par des tests comportementaux réalisés immédiatement après le rappel. Nous voulions notamment savoir si, malgré la réduction du taux de *freezing*, les souris qui avaient été 30 jours auparavant privées de SP étaient néanmoins émotionnellement perturbées par cette seconde présentation du contexte de conditionnement. Il ne s'agit pas de l'approche classique, qui aurait consisté en un dosage de la corticostérone plasmatique, car nous voulions éviter de biaiser les résultats par un prélèvement sanguin très stressant en lui-même. Le niveau de stress des souris a donc été évalué par le test d'interaction sociale qui a été utilisé fréquemment pour quantifier ce comportement chez les souris (Bailey and Crawley, 2009; Christianson et al., 2010; Martin et al., 2013). Les résultats de ce test révèlent une différence entre animaux privés et non privés. Ce protocole est cependant critiquable car il teste d'autres comportements émotionnels comme l'anxiété et l'empathie (Ben-Ami Bartal et al., 2011, 2016; Meyza et al., 2016). Nous avons donc associé ce protocole au test du double compartiment qui évalue lui aussi le niveau de stress. Le test du double compartiment n'a révélé aucune différence entre nos conditions, contrairement au test d'interaction sociale (figures 24 et 25). Nos travaux soulignent donc l'importance de l'utilisation de plusieurs tests comportementaux pour évaluer au mieux l'état émotionnel des animaux.

II. Interprétation fonctionnelle

Les travaux réalisés au cours de cette thèse apportent tout d'abord des résultats nouveaux concernant le rôle du sommeil, et en particulier du SP, dans la consolidation à long terme (systémique) de la mémoire. La question principale abordée par nos travaux était de déterminer l'effet d'une privation courte de SP sur la consolidation à très long terme (30 jours) d'une mémoire de la peur chez la souris, aux niveaux comportemental et systémique. Afin de remplir ces objectifs, nous avons utilisé le paradigme de CPc suivi d'une privation courte et *a priori* non stressante de SP, mais également une analyse de l'activité des régions cérébrales au cours du rappel à 24 heures ou 30 jours grâce à l'analyse de l'expression de l'IEG *zif268*. Nous avons établi que la seule privation de SP effectuée pendant quelques

heures immédiatement après le conditionnement modifiait la consolidation à très long terme (30 jours) à tous les niveaux étudiés.

A. Influence de la privation de SP sur la consolidation à long terme récente (24 heures) et ancienne (30 jours)

1. Etudes comportementales

Au cours de cette thèse, nous avons montré pour la première fois un rôle spécifique du SP post-apprentissage sur la consolidation à très long terme (30 jours) de la mémoire. En effet, priver des souris de SP pendant seulement 6 heures après les avoir soumises à un CPC, est apparu suffisant pour altérer à long terme, mais pas à court terme, leur mémoire de ce conditionnement. Une influence du sommeil post-apprentissage sur la consolidation à très long terme de la mémoire avait précédemment été suggérée dans quelques études chez l'Homme et l'animal (Gutwein and Fishbein, 1980b; Sterpenich et al., 2009), mais nos travaux apportent deux éléments supplémentaires par rapport à ces études. Tout d'abord, il s'agit de la première étude montrant un rôle spécifique du SP, et non du sommeil total, sur la consolidation à très long terme. Deuxièmement, il s'agit de la première étude causale montrant un tel effet, tandis que les études précédentes n'étaient que corrélatives. Ces résultats conduisent à nous poser deux nouvelles questions. **Première question** : quelle composante de la mémoire (contextuelle ou émotionnelle) est altérée par la privation de SP ? Selon l'hypothèse *Sleep to Forget, Sleep to Remember* (Walker and van der Helm, 2009 ; Goldstein and Walker, 2014), la mémoire contextuelle des animaux du groupe privé de SP devrait être altérée, alors que leur état émotionnel devrait être lui exacerbé. Or, le *freezing* est très certainement dépendant de ces deux composantes, et l'analyse de ce comportement ne permet donc pas de les étudier séparément. Nous avons donc voulu évaluer l'état émotionnel des animaux indépendamment du rappel du contexte. Pour cela, nous avons réalisés immédiatement après le rappel à 30 jours des tests comportementaux visant à évaluer l'anxiété (interaction sociale et double compartiment clair/obscur ; Bailey and Crawley, 2009). Nos résultats montrent que l'anxiété des animaux évaluée lors de ces tests semble reliée au taux de *freezing* dans les deux groupes, et n'apportent donc pas

d'élément supplémentaire pour résoudre cette problématique (figures 22 et 23). Une autre possibilité pour étudier séparément ces deux composantes aurait été d'évaluer la précision de la mémoire contextuelle de nos souris. Cela aurait pu être étudié par une expérience de généralisation, en testant les animaux dans un contexte différent de celui de conditionnement. Si la composante contextuelle de la mémoire est altérée, alors les animaux devraient exprimer une quantité équivalente de *freezing* dans les deux contextes, démontrant qu'ils ne reconnaissent pas le contexte de conditionnement en tant que tel mais qu'ils montrent au contraire une simple familiarité vis à vis de celui-ci et qu'ils généralisent leur peur à un ensemble de contextes différents. Cependant, cette expérience n'est pas applicable aux groupes d'animaux de notre étude testés à 30 jours puisque justement, le phénomène de généralisation est observé en conditions normales lors du test d'une mémoire ancienne (Cullen et al., 2015; Fujinaka et al., 2016). Il serait cependant intéressant de tester cette hypothèse sur nos souris testées à 24 heures. En effet, malgré leur niveau équivalent de *freezing* dans le contexte de conditionnement par rapport aux animaux non privés (figure 1C de l'article), il est possible que les animaux privés présentent une généralisation précoce (à 24h) de la mémoire de la peur. Un tel résultat mettrait en évidence le rôle délétère de la privation de SP sur la composante contextuelle de la mémoire. Il est en effet probable que ce soit la partie contextuelle de la mémoire qui soit affectée principalement par la privation de SP. Plusieurs arguments soutiennent cette hypothèse. Tout d'abord, la plupart des animaux privés de SP expriment une quantité de *freezing* qui, même si elle est diminuée par rapport aux groupes non privés, est environ similaire à celle exprimée lors de l'acquisition de la mémoire (figure 1C de l'article), ce qui suggère bien l'existence d'un éveil émotionnel lors de l'exposition au contexte chez le groupe privé de SP. Cet état émotionnel de peur ou d'anxiété est confirmé par la forte activation du réseau émotionnel observée chez ces animaux (figure 5B de l'article). Deuxièmement, il a précédemment été montré qu'un CPc est plus sensible aux manipulations du SP qu'un CPi (Boyce et al., 2016; McDermott et al., 2003). Réaliser un protocole de CP comportant à la fois une version indicée et une version contextuelle aurait pu répondre à cette question, mais comme nous l'avons évoqué plus tôt cela aurait biaisé l'analyse de l'activité cérébrale par l'approche d'anatomie fonctionnelle.

La **deuxième question** soulevée par nos résultats est celle de la mémoire récente, testée 24 heures après l'apprentissage. En effet, des résultats précédents, dont ceux de notre équipe, ont montré un effet d'une privation douce et de courte durée sur la consolidation récente d'un CPc (Datta, 2004; Ravassard et al., 2016). Pourquoi alors notre étude ne révèle-t-elle pas d'effet de la privation de SP lors du test à 24 heures ? La première explication possible est une différence due à l'espèce utilisée dans notre étude. En effet, les études de Ravassard et Datta étaient réalisées sur des rats, et il est possible que la privation de SP ait plus d'impact sur cette espèce. Réaliser sur des rats le même protocole que nous avons utilisé dans notre étude permettrait de vérifier cette hypothèse. Une autre hypothèse que nous avons testée était celle de l'intensité du stimulus aversif. Même si nous avons utilisé un protocole faiblement aversif, l'intensité du choc était élevée (0,7 mA) afin que nous puissions observer du *freezing* lors du rappel 30 jours après le conditionnement. Comme évoqué plus tôt, des résultats précédents de notre équipe avaient montré une absence d'effet de la privation de SP si le conditionnement était trop aversif (deux chocs). Nous avons donc testé un protocole plus faible (1 choc, 0,5 mA), mais là encore la privation de SP n'a produit aucun effet comportemental (figure 20). Nous nous sommes donc par la suite intéressés à l'analyse du sommeil post-apprentissage.

2. Sommeil post-apprentissage et consolidation mnésique

L'analyse des quantités de sommeil post-apprentissage révèle plusieurs résultats. Tout d'abord, une diminution significative des quantités de SP est observée pendant les deux premières heures qui suivent l'apprentissage. Cette diminution des quantités de SP est certainement due à une augmentation des quantités d'éveil subséquente au stress engendré par le CP (Kim and Dimsdale, 2007; Wellman et al., 2014). D'autre part, nos résultats révèlent une augmentation des quantités de SP par rapport aux quantités basales entre 8 et 10 heures après le conditionnement (figure 1B de l'article ; figure 23). Bien que le délai entre l'apprentissage et l'augmentation des quantités de sommeil soit variable en fonction de l'apprentissage, une telle augmentation avait précédemment été observée dans de nombreuses études (Fishbein et al., 1974; Lecas, 1976; Leconte and Hennevin, 1981; Portell-Cortés et al., 1989; Smith and Wong, 1991). De manière intéressante, bien que notre

privation de SP n'ait pas lieu pendant la période où les quantités de SP sont augmentées, elle provoque malgré tout un effet comportemental lors du test de la mémoire ancienne. Ce résultat va à l'encontre de l'hypothèse de "fenêtre de SP" proposée par Smith (Smith, 1996). Cependant, il est possible que cette fenêtre de SP soit importante uniquement pour la mémoire récente, ce qui pourrait expliquer l'absence d'effet de la privation dans notre étude lors du rappel à 24 heures. En effet, les études sur lesquelles Smith étudiaient cet effet de fenêtre de SP étaient toutes en lien avec la mémoire récente.

Une possibilité révélée par nos analyses est que le sommeil de transition (ST) puisse jouer un rôle compensatoire et supporter la consolidation récente en cas d'absence de SP. En effet, une corrélation positive est observée entre les quantités de ST pendant les 6 heures de privation et les quantités de *freezing* exprimées par les animaux privés de SP lors du rappel à 24 heures (figure 19). Cette corrélation est également observée dans les deux groupes d'animaux (privés et non privés) de notre expérience utilisant un protocole de conditionnement plus faible (figure 20). Ces observations renforcent l'idée d'un rôle du ST dans la consolidation récente, cependant la taille des échantillons de cette expérience est faible. Le ST a déjà été impliqué dans la mémoire émotionnelle (Ambrosini and Giuditta, 2001; Datta and O'Malley, 2013). Par quel(s) mécanisme(s) ce rôle compensateur pourrait-il s'effectuer ? Le ST partage deux caractéristiques électrophysiologiques avec le SP, qui pourraient expliquer cette compensation : les oscillations de rythme thêta et les ondes pontiques (P). En effet, il a déjà été montré chez le rat que l'induction artificielle d'ondes P (qui sont plus denses pendant le ST et le début du SP) pouvaient compenser les effets d'une privation de SP dans une tâche d'évitement actif (Datta, 2004). L'enregistrement de ces événements en potentiel de champ local et leur mise en relation avec les performances des animaux pourraient permettre de vérifier cette hypothèse. D'autre part, les études s'intéressant au rôle du SP dans la consolidation récente d'un CP pointent un rôle fondamental des oscillations de rythme thêta (Boyce et al., 2016; Popa et al., 2010). Cependant, le ST n'est pas caractérisé dans ces études, il est donc difficile de les mettre en relation avec nos résultats. Il est important que les futures études de manipulations du SP précisent si ces manipulations s'effectuent également sur le ST. En effet, comme nous l'avons évoqué cette phase de sommeil de transition est considérée par certains comme faisant partie intégrante du SP (K Sakai), pour d'autres du SL (P-H Luppi) et pour d'autres

enfin un stade de sommeil à part entière (Glin et al., 1991 ; Gervasoni et al., 2004). L'absence d'un consensus sur ce point peut ajouter de la variabilité aux résultats des études s'intéressant au rôle du SP dans la mémoire, puisque certaines études prennent en compte ce ST et d'autres non.

Un autre point soulevé par nos résultats est l'importance des conditions d'élevage à la fois dans les performances mnésiques des animaux mais également dans les modifications du sommeil dues à l'apprentissage. Il semblerait en effet que la présence d'enrichissement permettant la confection d'un nid (*envirodry*) ait deux effets sur ces modifications du sommeil dues à l'apprentissage. Tout d'abord, elle atténuerait la diminution des quantités de SP pendant les 6 heures suivant le conditionnement chez les animaux non privés. Deuxièmement, elle permettrait un meilleur rebond de SP (augmentation des quantités suite à la privation ; figure 23). Nos résultats suggèrent que cette augmentation des quantités de SP pendant le rebond atténue les effets comportementaux de la privation. En effet, les animaux privés de SP mais élevés en présence d'*envirodry* présentent une augmentation significative des quantités de SP entre 8 et 10 heures après le conditionnement, période qui correspond à l'augmentation des quantités de SP subséquente à l'apprentissage. Cette augmentation n'est pas observée chez les animaux privés de SP élevés sans *envirodry*. Il est donc possible que l'*envirodry* permette une meilleure régulation homéostatique du sommeil, qui permettrait aux animaux de mieux compenser la dette de SP et donc de mieux consolider leur mémoire. Un effet de l'enrichissement sur le sommeil ainsi que sur les performances mnésiques avait précédemment été suggéré (Gutwein and Fishbein, 1980b). Un mécanisme possible pouvant expliquer cet effet positif de l'enrichissement pourrait être en lien avec l'augmentation de la température corporelle des animaux grâce à la nidification. En effet, des études anciennes révèlent qu'une augmentation de la température ambiante entraîne une augmentation des quantités de SP (Schmidt, 2014). Néanmoins, pour vérifier une telle hypothèse, nous aurons besoin de réaliser une analyse plus précise du nombre d'épisodes et de la durée moyenne de ces épisodes de SP afin de mieux détailler l'influence de l'enrichissement sur les modifications du SP après un apprentissage.

3. Effet de la privation de SP sur l'activité cérébrale lors du rappel

Les résultats principaux obtenus au cours de cette thèse concernent l'influence de la privation de SP sur la réorganisation systémique à long terme des réseaux de la mémoire. Nous avons utilisé l'expression de l'IEG zif268 afin d'évaluer l'activation de plusieurs régions cérébrales lors du rappel, comme cela a déjà été réalisé dans de précédentes études (Cullen et al., 2015; Frankland et al., 2004; Wheeler et al., 2013). Nous avons réalisé trois types d'analyses sur ces résultats.

a) Niveau d'activation des régions cérébrales lors du rappel

Nous avons tout d'abord réalisé une analyse de la densité de marquage (densité de cellules exprimant la protéine Egr1, aussi appelée Zif268 (neurones Zif268⁺)) normalisée par rapport à la valeur des groupes exposés au contexte mais non conditionnés. Cette normalisation permet d'étudier l'activation des régions due au rappel de la mémoire émotionnelle spécifiquement. Le terme d'hyper-activation sera utilisé afin de pointer une activation significativement plus importante d'une région chez les groupes conditionnés par rapport aux groupes non conditionnés. En accord avec nos résultats comportementaux, notre analyse de la densité de marquage ne révèle pas d'effet de la privation de SP lorsque les animaux ont été testés 24 heures après le conditionnement. En revanche, des modifications importantes lors du rappel à 30 jours ont été observées chez les animaux privés de SP (PSD) par rapport aux animaux non privés (non-PSD). Afin de bien comprendre ces modifications, nous allons commencer par décrire la réorganisation des réseaux observée chez les animaux non-PSD, en comparant l'activité cérébrale des animaux testés à 24 heures et celle des animaux testés à 30 jours. Nous observons bien chez les animaux non-PSD une diminution de l'activité du dHPC conjointe à une augmentation de l'activité du CPFm au cours du temps (figures 2B et 3B de l'article), un résultat en accord avec les résultats de la littérature (Frankland et al., 2004; Wheeler et al., 2013). D'autre part, nous observons une hyper-activation de l'Amy (BLA et LA) chez les animaux testés à 24 heures, qui disparaît chez les animaux testés à 30 jours. Ce résultat est en accord avec les résultats de la

littérature décrivant une diminution de l'activité du réseau émotionnelle au cours du temps (Dolcos et al., 2005). De manière intéressante, nous observons également une inactivation du cortex rétrosplénial (par rapport au groupe non conditionné) lors du rappel à 30 jours (figure 4B de l'article), qui n'avait jamais encore été décrite. Ce résultat suggère que le cortex rétrosplénial se désengagerait peu à peu du réseau mnésique au cours du temps, tout comme l'HPC. Le cortex rétrosplénial est impliqué dans le traitement de l'information contextuelle (Corcoran et al., 2011; Keene and Bucci, 2008), et cette hypothèse serait en accord avec le phénomène de dé-contextualisation de la mémoire de longue durée (Winocur and Moscovitch, 2011). Nombre de ces modifications ne sont pas observées chez les animaux PSD. Tout d'abord, nous n'observons pas de désengagement total du dHPC au cours du temps. En effet, le GD reste hyper-activé lors du rappel à 30 jours, et une tendance à une hyper-activation est observée dans l'aire dCA3 (figure 2B de l'article). De manière intéressante, cet effet se limite à ces régions, puisque nous observons bien un désengagement de l'aire dCA1 chez les animaux PSD testés à 30 jours. Néanmoins, on observe une hyper-activation du noyau reuniens du thalamus lors du rappel à 30 jours des animaux PSD. Le reuniens est le relais principal entre le dHPC et le CPFm (Griffin, 2015). Les résultats du dHPC et du reuniens suggèrent donc une altération du transfert de la trace mnésique du dHPC vers le CPFm. Cette hypothèse semble confirmée par l'analyse des différentes régions du CPFm. Nous avons choisi de séparer les couches profondes et les couches superficielles lors de l'analyse de l'activité des différents cortex. Nous avons réalisé cette dissociation car une réorganisation laminaire au sein des cortex (des couches profondes (V/VI) vers les couches superficielles (II/III)) lors de la réorganisation systémique a précédemment été décrite (Maviel et al., 2004). L'analyse des couches profondes ne révèle pas d'effet de la privation de SP puisqu'une hyper-activation est observée dans le CCA et le PL des animaux PSD et non-PSD testés à 30 jours (figure 3B de l'article). En revanche, nous observons deux différences majeures lors de l'analyse des couches superficielles. Premièrement, les couches superficielles du CCA ne sont pas hyper-activées chez le groupe PSD, et sont également significativement moins activées par rapport au groupe non-PSD. Ce résultat confirme ceux obtenus dans le dHPC et le reuniens, qui suggèrent une altération du transfert de la trace mnésique vers le CPFm. Deuxièmement, nous observons une hyper-activation des couches superficielles du VO chez les animaux PSD, qui n'est pas observées chez les animaux non-PSD (figure 3B de l'article). Le VO fait partie du cortex orbitofrontal

(COF). Le COF est impliqué dans le traitement des émotions, notamment dans l'attribution de la valence émotionnelle et la prise de décision liée à la récompense (Alvarez et al., 2008; Chakraborty et al., 2016; Hornak, 2003; Izquierdo et al., 2005; Padoa-Schioppa and Assad, 2008; Panayi and Killcross, 2014; Schoenbaum et al., 1998; Shiba et al., 2016; Sladky et al., 2015). Le COF possède de fortes connexions réciproques avec le BLA, et des études révèlent l'importance de cette voie dans certains apprentissages émotionnels (Schoenbaum et al., 1998, 2003). Une étude récente révèle une induction importante de l'expression de Zif268 dans le COF (notamment le VO) suite à un CP chez le rat, montrant son implication dans ce type d'apprentissage (Chakraborty et al., 2016). Le VO et la BLA sont hyper-activés chez les animaux PSD lors du rappel à 30 jours (figures 3B et 5B de l'article). La privation de SP semble donc entraîner à long terme l'implication du VO plutôt que du CCA. Cette modification entraînerait une hyper-activation de la voie VO-BLA lors du rappel, au lieu d'un contrôle de l'activité amygdalienne par le CCA, comme cela est normalement observé lors du rappel d'un CP (Courtin et al., 2013; Dejean et al., 2016). L'activation anormale du BLA pourrait alors entraîner l'activation du vHPC observée chez ces animaux (figure 5B de l'article) du fait des fortes connexions existant entre ces deux régions (Pikkarainen et al., 1999; Pitkänen et al., 2006). Cette hyper-activation du réseau émotionnel ne semble cependant pas fonctionnelle puisque les animaux n'expriment pas le comportement adapté au contexte (taux de *freezing* diminué). La privation de SP entraînerait donc une activation aberrante et non fonctionnelle du réseau mnésique lors du rappel, due au manque de contrôle par les couches superficielles du CCA. Ces résultats semblent en accord avec l'hypothèse *Sleep to Forget Sleep to Remember* car 1) la consolidation de la mémoire est altérée, comme en témoignent les résultats comportementaux ainsi que les altérations du transfert de la trace du dHPC vers le CPFm, et 2) une hyper-activation du réseau émotionnel (BLA, vHPC, VO) est observée chez les animaux PSD lors du rappel à 30 jours. Afin d'analyser plus précisément l'activité cérébrale lors du rappel, nous avons par la suite réalisé un autre type d'analyse visant à évaluer la connectivité fonctionnelle des différentes régions cérébrales.

b) Connectivité des régions cérébrales lors du rappel

Le deuxième type d'analyse que nous avons réalisé est une approche corrélative de l'activité des différentes régions cérébrales. Les valeurs non normalisées de densité de neurones Zif268⁺ des différentes régions ont été corrélées deux à deux dans le but d'évaluer la dynamique d'activation du réseau. Cette méthode d'analyse permet d'étudier si les niveaux d'activation de plusieurs régions sont reliés entre eux, selon le même principe que les analyses de connectivité fonctionnelle réalisées sur des données d'IRMf. Les valeurs des différents coefficients de corrélation sont ensuite utilisées pour construire une matrice de corrélation du réseau, appelé connectome (figure 6A de l'article). Ce type d'analyse a déjà été utilisée dans de précédentes études (Joseph et al., 2015; Poirier et al., 2008; Wheeler et al., 2013) et permet d'apporter un aspect dynamique à l'analyse de l'expression des IEG, ce qui la rend particulièrement intéressante. Dans notre analyse, nous avons considéré un effet significatif de la privation de SP lorsque 1) l'analyse *bootstrap* a révélé une différence significative entre groupes d'animaux privés et non privés, et 2) lorsque cette corrélation était également significative indépendamment des autres ($p < 0,05$). Au niveau global, cette analyse connectomique révèle un effet opposé de la privation de SP chez les animaux testés à 24 heures ou 30 jours. En effet, une diminution du nombre de corrélations significatives est observée après privation de SP chez les animaux testés à 24 heures, tandis qu'une augmentation du nombre de corrélations est observée suite à la privation lorsque les animaux sont testés 30 jours après le conditionnement. Ceci dénote encore une fois de l'effet différent de la privation de SP sur la consolidation récente (24 heures) ou ancienne (30 jours) de la mémoire d'un CP. Cette analyse a donc révélé des différences chez les animaux testés 24 heures après le conditionnement, ce que l'analyse du niveau d'activation n'avait pu faire apparaître. Parmi ces différences, on observe des corrélations entre le VO et de nombreuses régions significativement supérieures chez les animaux PSD par rapport aux animaux non-PSD. Cette implication plus importante du VO dans le réseau mnésique après privation de SP est également observée lors du test de la mémoire ancienne, ce qui est en accord avec l'hyper-activation de cette région observée chez les animaux PSD testés à 30 jours (figure 3B de l'article). Chez les animaux PSD testés à 30 jours, on observe également un nombre important (9) de corrélations significativement supérieures au groupe non-PSD du dHPC et du vHPC, ce qui est également en accord avec l'analyse du niveau d'activation de ces régions. En effet, comme dit précédemment, on observe une hyper-activation du GD et des aires vCA1 et vCA3 chez les animaux PSD testés à 30 jours, qui n'est pas observée chez

les animaux non-PSD (figure 2B et 5B de l'article). Ainsi, les résultats de l'analyse connectomique sont en accord avec l'analyse du niveau d'activation puisqu'ils suggèrent 1) une hyper-activation globale du réseau mnésique lors du rappel à 30 jours chez les animaux PSD et 2) une hyper-activation des régions émotionnelles (dHPC, vHPC, VO) chez les animaux PSD testés à 30 jours. Le BLA ne présente pas de corrélation significative avec d'autres régions alors que l'analyse du niveau d'activation de ce noyau amygdalien révélait une hyper-activation (figure 5B de l'article). Cette analyse apporte également une nouvelle donnée en révélant une implication plus importante du VO lors du rappel à 24 heures des animaux PSD. En effet toutes les analyses révèlent une activation plus importante du VO lors du rappel à 30 jours des animaux PSD. Il semblerait donc que cette région du CPF soit particulièrement impliquée dans le rappel d'un CP en l'absence de SP post-apprentissage.

c) Construction du réseau : apport de l'analyse des graphes

Nous avons enfin utilisé la quantification de l'expression de Zif268 pour étudier l'organisation du réseau mnésique en utilisant une branche des mathématiques : la théorie des graphes (Watts and Strogatz, 1998). Cet outil permet d'étudier les propriétés de réseaux complexes comme les réseaux sociaux (Freeman, 1977) et permet également d'étudier l'organisation d'un grand nombre de réseaux biologiques comme les réseaux biochimiques et les réseaux cérébraux, au niveau anatomique comme au niveau fonctionnel (Rubinov and Sporns, 2010). Un réseau construit grâce à cet outil se présente sous la forme de sommets ou nœuds (qui représentent ici les différentes régions cérébrales) reliés entre eux par des liens qui représentent leur connectivité fonctionnelle (ici, la force de la corrélation de la densité de neurones Zif268⁺ entre les régions). Deux nœuds reliés par un lien sont appelés des voisins. Nous avons donc utilisé cet outil pour analyser l'effet de la privation de SP sur plusieurs paramètres, que nous allons décrire maintenant.

Tout d'abord, nous avons analysé les paramètres de la globalité de chacun des réseaux. Un premier paramètre étudié est la **ségrégation** fonctionnelle, qui représente le degré d'inter-connexion des nœuds (ou régions) entre eux (figure 30). Ce paramètre est évalué par le coefficient de *clustering*, qui permet de révéler la probabilité que les voisins

d'un même nœud soient également voisins entre eux. Des nœuds organisés ainsi forment un module ou *cluster*, et un réseau riche en modules suggère une ségrégation fonctionnelle plus importante. En effet, l'activité des régions serait alors plus particulièrement dépendante de celle de ses voisins, et donc plus « indépendante » de celle des autres régions.

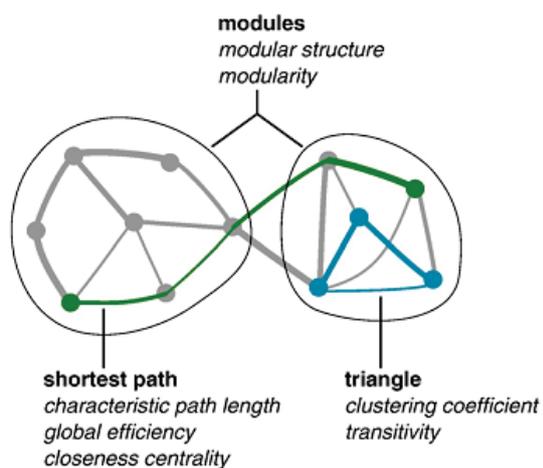


Figure 30 : Paramètres des réseaux issus de l'analyse des graphes. Les points gris représentent les nœuds et les lignes grises les liens. Le triangle bleu représente un *cluster* de trois nœuds interconnectés, présentant une ségrégation fonctionnelle élevée. Les nœuds ségrégués sont rassemblés en modules. Le tracé vert représente le plus court chemin entre les deux points, et révèle leur intégration fonctionnelle. Repris de Rubinov and Sporns, 2010, NeuroImage.

Un autre paramètre étudié, complémentaire de celui de ségrégation fonctionnelle, est celui d'**intégration** fonctionnelle. Ce paramètre est dépendant de la valeur du « plus court chemin » pour aller d'un nœud à l'autre. Le plus court chemin entre deux nœuds est le nombre minimum de liens à parcourir pour aller de l'un à l'autre. Ainsi, une valeur basse de plus court chemin est révélatrice d'une facilité de communication accrue entre les nœuds, et donc d'une intégration fonctionnelle plus importante (figure 30). Cela signifie que les nœuds ne sont pas seulement connectés entre voisins, mais également à des nœuds plus « éloignés ». Notre analyse de ces paramètres révèle le même effet de la privation de SP sur le réseau de la mémoire récente et de la mémoire ancienne. En effet, les réseaux des animaux privés de SP (PSD) ont un coefficient de *clustering* (*i.e.* une ségrégation fonctionnelle) significativement plus faible que celui des réseaux des animaux non-PSD (table S2 de l'article). Cette différence suggère que le SP post-apprentissage favorise la formation de groupes fonctionnels au sein du réseau mnésique, au sein desquels les activités des régions sont fortement interdépendantes. Les réseaux des animaux PSD ont également une valeur de plus court chemin plus basse (*i.e.* une intégration fonctionnelle plus élevée) que les réseaux des animaux non-PSD. Cela signifie que le chemin pour aller d'un nœud à l'autre est court, même s'il s'agit de nœuds éloignés (non voisins). Le SP post-apprentissage

permettrait ainsi de réduire la communication de régions n'appartenant pas au même groupe fonctionnel. Ainsi, le SP permettrait la formation de sous-réseaux au sein du réseau mnésique global, ne communiquant que peu les uns avec les autres. Ces caractéristiques sont celles d'un réseau dit « régulier », dans lequel les nœuds sont majoritairement connectés entre voisins et non à distance (figure 31). Cette organisation pourrait avoir pour fonction de diminuer le niveau d'activité globale (diminution de la synchronie entre aires distantes) en évitant des propagations aberrantes de l'activité dans l'ensemble du cerveau. Ces résultats sont en accord avec nos précédentes analyses des réseaux de la mémoire ancienne, qui révèlent une hyper-activation d'un grand nombre de régions (figures 2,3,4 et 5 de l'article), ainsi que de nombreuses corrélations significatives chez les animaux PSD (figure 6 de l'article). Ce résultat est plus surprenant concernant les réseaux de la mémoire récente, puisque nous observons une diminution du nombre de corrélations chez les animaux PSD par rapport aux animaux non-PSD (figure 6 de l'article). Néanmoins, cela pourrait être révélateur d'un réseau mieux organisé, avec des corrélations d'activité au sein des sous-réseaux chez les animaux non-PSD. En résumé, la privation de SP aurait pour effet de rendre les propriétés du réseau de la mémoire plus proches de celles d'un réseau aléatoire (figure 31), alors qu'en l'absence de privation le réseau présente les caractéristiques d'un réseau régulier (figure 31). Cette interprétation est en accord avec l'hypothèse selon laquelle le SP aurait une fonction de réduction de l'énergie utilisée (Hobson and Friston, 2012), basé sur le principe d'énergie libre (*free energy principle* ; Friston et al., 2006). Ces résultats peuvent paraître surprenants car le cerveau est habituellement considéré comme un réseau de type « *small world* » (Rubinov and Sporns, 2010; cependant voir Markov et al, Science 2013). Une étude récente suggère que le réseau de la mémoire ancienne (36 jours) d'un CP chez la souris présente des propriétés de réseau *small world* (Wheeler et al., 2013). Un réseau de type *small world* se caractérise par une ségrégation fonctionnelle élevée associée à une intégration fonctionnelle élevée, avec quelques chemins courts entre nœuds distants (figure 31). Il s'agit donc de réseaux composés de *clusters* reliés entre eux par quelques liens, ce qui permet une communication rapide entre les sous-réseaux.

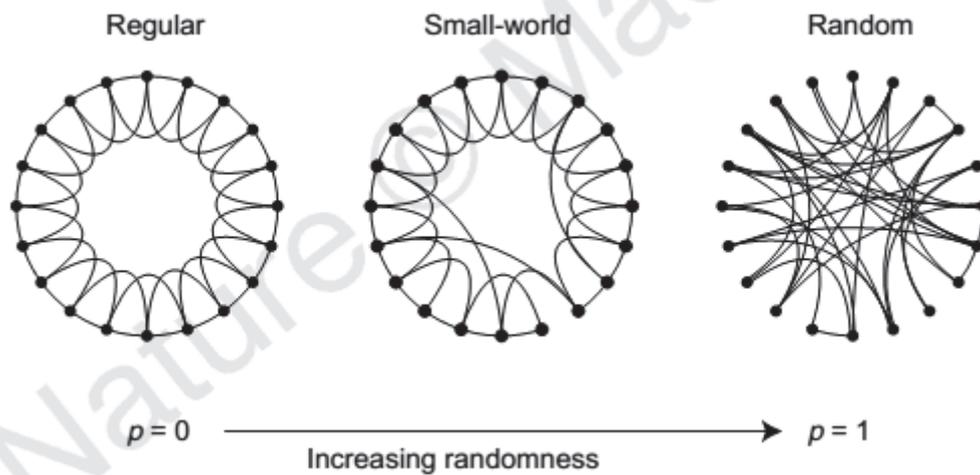


Figure 31 : Les différents types de réseaux. Trois types majeurs de réseaux issus de l'analyse des graphes sont présentés ici. De gauche à droite, le caractère aléatoire du réseau augmente. Sur la gauche est présenté un réseau régulier, avec une ségrégation fonctionnelle élevée (coefficient de *clustering* élevé) et une intégration fonctionnelle basse (long plus court chemin pour aller d'un point à un autre). Au milieu est présenté un réseau *small world*, avec une ségrégation fonctionnelle et une intégration fonctionnelle élevée. Sur la droite est présenté un réseau aléatoire, avec une ségrégation fonctionnelle faible et une intégration fonctionnelle élevée. Repris de Watts and Strogatz, 1998, Nature.

Notre réseau de la mémoire ancienne ne semble pas présenter ces caractéristiques, cependant nous devons ici préciser deux points importants. Tout d'abord, nous avons analysé un nombre relativement faible de régions pour ce type d'analyse (l'étude de Wheeler en étudiait par exemple 84), et nous n'avons peut-être pas analysé suffisamment de régions pour faire émerger ces caractéristiques. En effet, si le cerveau en son entier peut présenter des propriétés de *small world*, ce n'est peut-être pas le cas du réseau que nous avons étudié. Deuxièmement, nous avons réalisé une analyse comparative des réseaux des animaux PSD et de ceux des animaux non-PSD afin d'étudier l'effet de la privation de SP. Ainsi, le caractère régulier du réseau des animaux non-PSD est relatif au caractère aléatoire du réseau des animaux PSD. Des analyses supplémentaires seraient nécessaires pour déterminer si notre réseau d'intérêt présente « dans l'absolu » les propriétés d'un réseau *small world* en l'absence de privation de SP.

En utilisant l'analyse des graphes, nous avons également étudié les propriétés des nœuds au sein du réseau. Ce type d'analyse a pour but d'identifier les *hubs* fonctionnels des réseaux, c'est-à-dire les nœuds particulièrement importants dans l'organisation

fonctionnelle du réseau. L'existence de *hubs* au sein des réseaux permet une résistance plus importante aux dommages que le réseau pourrait subir (par exemple une lésion dans le cas d'un réseau neuronal). La caractérisation d'un *hub* passe par la mesure de sa **centralité**, que nous avons évaluée par deux paramètres. Le premier est le « degré » du nœud, qui est égal à son nombre de voisins, c'est-à-dire son nombre de connexions (liens) avec d'autres nœuds (figure 32). Le deuxième paramètre est celui de « *betweenness centrality* », qui correspond au rapport du nombre de plus courts chemins passant par le nœud sur le nombre total de plus courts chemins dans le réseau (figure 32). Une valeur élevée de *betweenness centrality* est révélatrice d'une fonction importante du nœud au sein du réseau, puisqu'il est alors nécessaire à la communication rapide entre la majorité des autres nœuds.

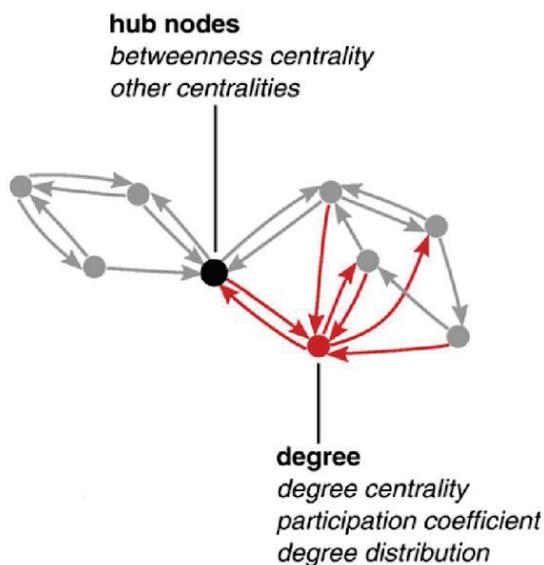


Figure 32 : Paramètres des nœuds des réseaux issus de l'analyse des graphes. Les points gris représentent les nœuds et les lignes grises les liens. Les flèches indiquent les liens empruntés par les plus courts chemins. Le degré (*degree*) du nœud rouge est équivalent au nombre de liens qu'il possède, symbolisés par les flèches rouges. Le nœud noir a une valeur de *betweenness centrality* élevée car il forme le seul lien entre les deux modules et est donc un lieu de passage de tous les plus courts chemins allant d'un module à l'autre. Repris de Rubinov and Sporns, 2010, NeuroImage.

L'interprétation des propriétés des nœuds indépendamment les uns des autres est limitée, car il s'agit de propriétés n'ayant de sens que par comparaison aux autres nœuds situés au sein du réseau. Nous pouvons malgré tout remarquer quelques résultats intéressants. Tout d'abord, les *hubs* principaux du réseau des animaux PSD testés à 30 jours sont l'aire dCA3 et les couches superficielles du VO. En effet, ces régions présentent les plus hautes valeurs de degré et de *betweenness centrality* au sein du réseau (figure S3 et table S1 de l'article). Ce

résultat place encore une fois le VO comme un acteur majeur du réseau de la mémoire ancienne chez les animaux PSD. Ces résultats suggèrent également une implication importante du dHPC dans le réseau mnésique de ces animaux, en accord avec notre hypothèse d'un rôle du SP dans le transfert de la trace mnésique du dHPC vers le CPFm. En ce sens, notre analyse révèle que les couches superficielles du CCA constituent un *hub* majeur du réseau mnésique des animaux non-PSD testés à 30 jours. En effet cette région présente la deuxième plus haute valeur de degré et la troisième plus haute valeur de *betweenness centrality*. Nos résultats issus de l'analyse des graphes suggèrent donc également que le VO "remplace" le CCA lorsque le conditionnement est suivi d'une privation de SP.

En résumé, notre analyse de l'activité cérébrale lors du rappel d'un CPc suggère que la privation de SP induit une hyper-activation globale du réseau mnésique, notamment dans les régions limbiques en charge du traitement des émotions. Le motif d'organisation du réseau après privation de SP est proche de celui d'un réseau aléatoire. Cette organisation aléatoire est associée à un changement des *hubs* des réseaux. Ces modifications sont beaucoup plus marquées lors du rappel à 30 jours qu'à 1 jour, ce qui suggère que ces atteintes touchent la réorganisation systémique du réseau de la mémoire. Ces modifications pourraient conduire à des activations aberrantes et non fonctionnelles des régions cérébrales. Nous pouvons donc nous demander si ce motif d'organisation contribue à l'absence d'expression d'un comportement adapté. C'est ce que suggèrent nos résultats comportementaux puisque les animaux PSD expriment moins de *freezing* lors du rappel à 30 jours. Ainsi, l'accumulation de souvenirs émotionnels « mal consolidés » en cas de réduction des quantités de SP pourrait entraîner de manière récurrente une hyper-activation des régions limbiques émotionnelles. Cette accumulation pourrait au cours du temps entraîner l'apparition de certains troubles de l'humeur telle que l'anxiété (Ford and Cooper-Patrick, 2001; Franzen and Buysse, 2008). L'apparition de ces symptômes pourrait à son tour entraîner des troubles du sommeil (Kim and Dimsdale, 2007), créant ainsi un processus de *feedback* positif ou cercle vicieux dans lequel les symptômes s'entraînent l'un l'autre. Ce type de cercle vicieux pourrait ensuite aboutir au développement d'un syndrome dépressif (van de Leemput et al., 2014).

Nos résultats suggèrent que le CPFm, et notamment le CCA, est une région importante dans cette régulation à long terme du réseau de la mémoire émotionnelle au cours du SP. Il s'agit en effet de la seule région cérébrale hyper-activée spécifiquement chez les animaux non-PSD testés à 30 jours, ainsi que l'un des *hubs* principaux du réseau (figures 3B et S4 de l'article). De plus, le CPFm a un rôle important dans la régulation émotionnelle, notamment au travers de la régulation de l'activité amygdalienne (Goldstein and Walker, 2014; Likhtik et al., 2008). Ces processus pourraient jouer un rôle pathophysiologique important puisque, comme nous l'avons développé dans les Rappels Bibliographiques, des altérations de l'activité du CPFm sont observées de manière conjointe à des troubles du SP chez certains sujets dépressifs, ainsi que dans des modèles animaux de DM (Baxter et al., 1989; Drevets, 1999; Duman and Aghajanian, 2012; Franzen and Buysse, 2008; Kang et al., 2012; Seminowicz et al., 2004).

4. Conclusion et perspectives

Les travaux de cette thèse ont permis de mieux comprendre le rôle des premières heures de SP post-apprentissage dans la réorganisation à long terme du réseau de la mémoire. A partir de nos résultats nous pouvons proposer maintenant un modèle de la régulation de ce réseau par le SP. Ce modèle intègre également les conséquences d'une privation de SP sur l'activité du réseau lors du rappel à 30 jours (figure 33). Nous mettrons également ce modèle en relation avec les résultats de l'étude de la transmission glutamatergique dans le CPFm de notre modèle murin de dépression, la lignée H/Rouen. Enfin, nous proposerons en Perspective une étude permettant de tester ce modèle nouveau de consolidation au cours du SP.

a) Modèle de consolidation systémique au cours du SP

Nos résultats révèlent que la seule région hyper-activée spécifiquement chez les animaux non-PSD lors du rappel est le CCA, et plus particulièrement ses couches superficielles. Notre modèle suggère que la potentialisation synaptique des cellules

principales (essentiellement les cellules pyramidales) dans les couches superficielles de cette région au cours du SP est primordiale dans la mise en place de la réorganisation systémique du réseau mnésique.

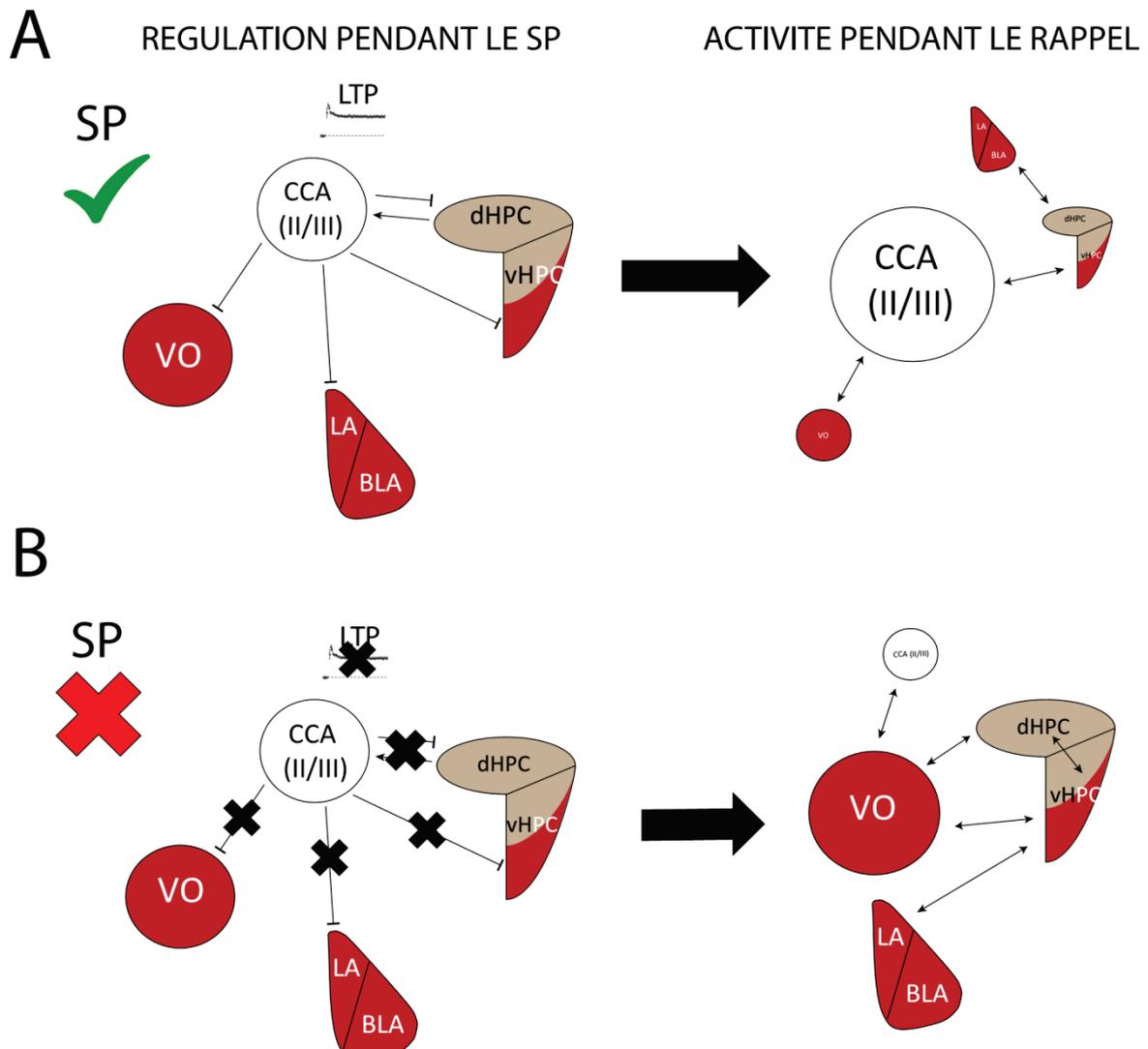


Figure 33 : Modèle de régulation du réseau mnésique au cours du SP post-apprentissage et conséquences sur l'activité lors du rappel. Les régions qui ont l'activité la plus modifiée par la privation de SP sont représentées ici. Sur les deux schémas de gauche, la flèche représente une activation et les flèches plates une inhibition. Sur les deux schémas de droite, la taille des structures représente leur niveau d'activation lors du rappel et les flèches leur connexion fonctionnelle révélée par l'analyse des graphes. **A.** A gauche sont représentés les processus de réorganisation du réseau prenant place au cours du SP apprentissage et à droite l'activité du même réseau lors du rappel à 30 jours. Le SP permettrait la mise en place du transfert de la trace mnésique en provenance du dHPC vers les couches superficielles du CCA par des mécanismes de plasticité synaptique (LTP) dans le CCA. L'activation du CCA entraînerait une inhibition de l'ensemble des autres régions, notamment émotionnelles. Ainsi, le CCA serait particulièrement activé lors du rappel tandis que l'implication des autres régions diminuerait au cours du temps. **B.** Les mêmes étapes sont présentées, en cas de

privation de SP. La privation empêche la potentialisation synaptique dans les neurones des couches superficielles du CCA. Ainsi le transfert de trace n'a pas lieu et le CCA n'inhibe pas l'ensemble des régions mnésiques. Cela aboutit à une très faible activation du CCA lors du rappel, associée à une hyper-activation de l'ensemble des régions. La connectivité fonctionnelle du réseau est alors erratique et non fonctionnelle.

Un ensemble d'études récentes chez la souris et le rat vigile révèlent une forte activation des interneurons inhibiteurs des couches corticales superficielles lors du SP (Niethard et al., 2016, données non publiées de Luc Gentet). De nombreux travaux ont montré que la transmission inhibitrice GABAergique, par la fenêtre temporelle étroite qu'elle impose à l'activation des cellules principales (excitatrices) du cortex, est un élément essentiel à la plasticité à long terme de type LTP (long term potentiation). L'inhibition GABAergique est favorable à la formation de nouvelles synapses (Akerman and Cline, 2007) ainsi qu'à l'induction de LTP par un protocole de *thêta burst* qui respecte la fenêtre temporelle de l'inhibition (Chapman et al., 1998). Ainsi le fort tonus inhibiteur du SP, associé aux oscillations de rythme thêta du SP, pourraient favoriser la potentialisation des synapses dans les couches superficielles du CCA et mettre en place le réseau de la mémoire à long terme dès les premières heures de SP post-apprentissage.

Des atteintes de ces mécanismes entraîneraient une diminution globale de l'activité ainsi que du nombre de synapses excitatrices entre cellules principales dans le CCA. Ceci pourrait entraîner à long terme une mauvaise régulation des réseaux mnésiques émotionnels par le CCA. Ces caractéristiques sont observées chez les sujets dépressifs chez lesquels on observe généralement des altérations du sommeil et du SP en particulier (Duman and Aghajanian, 2012; Goldstein and Walker, 2014). La sous-activation de la transmission glutamatergique, excitatrice, des cellules principales du CPFm chez la lignée H/Rouen, que mes travaux de thèse ont révélée, serait intéressante à mettre en relation avec cette hypothèse. Cette hypothèse pourrait être testée in vivo par l'étude de la régulation de la balance excitation/inhibition au cours du SP chez la souris selon la méthode de Niethard et al., 2016, en adaptant cette approche au CPFm.

b) Activité du réseau mnésique au cours du SP ?

Un aspect manquant de ces travaux de thèse est l'étude des mécanismes prenant place au cours du SP qui suit l'apprentissage. Notre hypothèse principale est que les altérations de la réorganisation systémique induites par la privation de SP sont dues à l'absence de potentialisation synaptique entre cellules principales du CCA au cours du SP post-apprentissage. Afin de vérifier cette hypothèse, nous pourrions remplacer la privation de SP par une inactivation du CCA au cours des épisodes de SP grâce à une approche optogénétique, en utilisant par exemple des souris VGat-ChR2. Ce type de méthode est efficace pour comprendre les processus de consolidation prenant place pendant le SP (Boyce et al., 2016). Nous pourrions également utiliser cette approche pour mettre en évidence un lien entre l'activité du CCA pendant le SP et la dépression. Il serait possible d'inhiber le CCA pendant le SP d'animaux subissant un stress chronique. Une telle procédure induit le développement de symptômes dépressifs ainsi que des modifications de l'activité du CPFm (Duman and Aghajanian, 2012). Il serait intéressant de tester si l'inactivation du CCA pendant les épisodes de SP au cours de cette procédure modifie la cinétique d'apparition de ces symptômes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aderka, I.M., Nickerson, A., Bøe, H.J., and Hofmann, S.G. (2012). Sudden gains during psychological treatments of anxiety and depression: A meta-analysis. *J. Consult. Clin. Psychol.* *80*, 93–101.
- Adhikari, A., Topiwala, M.A., and Gordon, J.A. (2010). Synchronized Activity between the Ventral Hippocampus and the Medial Prefrontal Cortex during Anxiety. *Neuron* *65*, 257–269.
- Adhikari, A., Lerner, T.N., Finkelstein, J., Pak, S., Jennings, J.H., Davidson, T.J., Ferenczi, E., Gunaydin, L.A., Mirzabekov, J.J., Ye, L., et al. (2015). Basomedial amygdala mediates top-down control of anxiety and fear. *Nature* *527*, 179–185.
- Aeschbach, D., Cutler, A.J., and Ronda, J.M. (2008). A role for non-rapid-eye-movement sleep homeostasis in perceptual learning. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *28*, 2766–2772.
- Agster, K.L., and Burwell, R.D. (2009). Cortical efferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Hippocampus* *19*, 1159–1186.
- Akerman, C.J., and Cline, H.T. (2007). Refining the roles of GABAergic signaling during neural circuit formation. *Trends Neurosci.* *30*, 382–389.
- Alvarez, R.P., Biggs, A., Chen, G., Pine, D.S., and Grillon, C. (2008). Contextual Fear Conditioning in Humans: Cortical-Hippocampal and Amygdala Contributions. *J. Neurosci.* *28*, 6211–6219.
- Ambrosini, M.V., and Giuditta, A. (2001). Learning and sleep: the sequential hypothesis. *Sleep Med. Rev.* *5*, 477–490.
- Ambrosini, M.V., Sadile, A.G., Gironi Carnevale, U.A., Mattiaccio, A., and Giuditta, A. (1988). The sequential hypothesis on sleep function. II. A correlative study between sleep variables and newly synthesized brain DNA. *Physiol. Behav.* *43*, 339–350.
- Ambrosini, M.V., Langella, M., Gironi Carnevale, U.A., and Giuditta, A. (1992). The sequential hypothesis of sleep function. III. The structure of postacquisition sleep in learning and nonlearning rats. *Physiol. Behav.* *51*, 217–226.
- Anagnostaras, S.G., Gale, G.D., and Fanselow, M.S. (2001). Hippocampus and contextual fear conditioning: Recent controversies and advances. *Hippocampus* *11*, 8–17.
- Andrews, P.W., Bharwani, A., Lee, K.R., Fox, M., and Thomson, J.A. (2015). Is serotonin an upper or a downer? The evolution of the serotonergic system and its role in depression and the antidepressant response. *Neurosci. Biobehav. Rev.* *51*, 164–188.
- Armitage, R. (2007). Sleep and circadian rhythms in mood disorders. *Acta Psychiatr. Scand.* *115*, 104–115.
- Arnold, M.B. (1960). *Emotion and personality* (New York : Columbia University Press).
- Bailey, K.R., and Crawley, J.N. (2009). Anxiety-Related Behaviors in Mice. In *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, J.J. Buccafusco, ed. (Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis), p.
- Balota, D.A. (1983). Automatic semantic activation and episodic memory encoding. *J. Verbal Learn. Verbal Behav.* *22*, 88–104.

- Bannerman, D.M., Yee, B.K., Lemaire, M., Jarrard, L., Iversen, S.D., Rawlins, J.N., and Good, M.A. (2001). Contextual fear conditioning is disrupted by lesions of the subcortical, but not entorhinal, connections to the hippocampus. *Exp. Brain Res.* *141*, 304–311.
- Bard, P., and Rioch, D.M. (1937). A study of four cats deprived of neocortex and additional portions of the forebrain. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* *60*, 73–147.
- BARD P (1929). The central representation of the sympathetic system: As indicated by certain physiologic observations. *Arch. Neurol. Psychiatry* *22*, 230–246.
- Bates, G.D., and Sturman, S.G. (1995). Unilateral temporal lobe damage and the partial Kluver-Bucy syndrome. *Behav. Neurol.* *8*, 103–107.
- Baxter, L.R., Schwartz, J.M., Phelps, M.E., Mazziotta, J.C., Guze, B.H., Selin, C.E., Gerner, R.H., and Sumida, R.M. (1989). Reduction of prefrontal cortex glucose metabolism common to three types of depression. *Arch. Gen. Psychiatry* *46*, 243–250.
- Baxter, M.G., Parker, A., Lindner, C.C.C., Izquierdo, A.D., and Murray, E.A. (2000). Control of Response Selection by Reinforcer Value Requires Interaction of Amygdala and Orbital Prefrontal Cortex. *J. Neurosci.* *20*, 4311–4319.
- Ben-Ami Bartal, I., Decety, J., and Mason, P. (2011). Empathy and pro-social behavior in rats. *Science* *334*, 1427–1430.
- Ben-Ami Bartal, I., Shan, H., Molasky, N.M.R., Murray, T.M., Williams, J.Z., Decety, J., and Mason, P. (2016). Anxiolytic Treatment Impairs Helping Behavior in Rats. *Front. Psychol.* *7*.
- Blaesse, P., Goedecke, L., Bazelot, M., Capogna, M., Pape, H.-C., and Jungling, K. (2015). -Opioid Receptor-Mediated Inhibition of Intercalated Neurons and Effect on Synaptic Transmission to the Central Amygdala. *J. Neurosci.* *35*, 7317–7325.
- Boissard, R., Fort, P., Gervasoni, D., Barbagli, B., and Luppi, P.-H. (2003). Localization of the GABAergic and non-GABAergic neurons projecting to the sublaterodorsal nucleus and potentially gating paradoxical sleep onset. *Eur. J. Neurosci.* *18*, 1627–1639.
- Bontempi, B., Laurent-Demir, C., Destrade, C., and Jaffard, R. (1999). Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* *400*, 671–675.
- Born, J., and Gais, S. (2000). REM sleep deprivation: The wrong paradigm leading to wrong conclusions. *Behav. Brain Sci.* *23*, 912–913.
- Boyce, R., Glasgow, S.D., Williams, S., and Adamantidis, A. (2016). Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Science* *352*, 812–816.
- Buchanan, T.W., and Lovallo, W.R. (2001). Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology* *26*, 307–317.
- Burgess, N., Donnett, J.G., and O'Keefe, J. (1998). The representation of space and the hippocampus in rats, robots and humans. *Z. Naturforschung C J. Biosci.* *53*, 504–509.
- Buyse, D.J. (2004). *Treating Sleep Disorders: Principles and Practice of Behavioral Sleep Medicine*. Edited by M. L. Perlis and K. L. Lichstein. (Pp. 485; ISBN 0-471-44343-3 hb.) John Wiley Sons: Hoboken, NJ. 2003. *Psychol. Med.* *34*, 950–951.

- Buzsáki, G. (2002). Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron* 33, 325–340.
- Cahill, L., and McGaugh, J.L. (1995). A Novel Demonstration of Enhanced Memory Associated with Emotional Arousal. *Conscious. Cogn.* 4, 410–421.
- Cannon, W.B. (1929). *Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage, vol.2* (New York Appleton)
- del Castillo, J., and Katz, B. (1954). Quantal components of the end-plate potential. *J. Physiol.* 124, 560–573.
- Cenquizca, L.A., and Swanson, L.W. (2007). Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Res. Rev.* 56, 1–26.
- Chakraborty, T., Asok, A., Stanton, M.E., and Rosen, J.B. (2016). Variants of contextual fear conditioning induce differential patterns of Egr-1 activity within the young adult prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* 302, 122–130.
- Chapman, C.A., Perez, Y., and Lacaille, J.C. (1998). Effects of GABA(A) inhibition on the expression of long-term potentiation in CA1 pyramidal cells are dependent on tetanization parameters. *Hippocampus* 8, 289–298.
- Chiba, T. (2000). Collateral projection from the amygdalo–hippocampal transition area and CA1 to the hypothalamus and medial prefrontal cortex in the rat. *Neurosci. Res.* 38, 373–383.
- Choi, M., Lee, S.H., Wang, S.E., Ko, S.Y., Song, M., Choi, J.-S., Kim, Y.-S., Duman, R.S., and Son, H. (2015). Ketamine produces antidepressant-like effects through phosphorylation-dependent nuclear export of histone deacetylase 5 (HDAC5) in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201513913.
- Christianson, J.P., Ragole, T., Amat, J., Greenwood, B.N., Strong, P.V., Paul, E.D., Fleshner, M., Watkins, L.R., and Maier, S.F. (2010). 5-hydroxytryptamine 2C receptors in the basolateral amygdala are involved in the expression of anxiety after uncontrollable traumatic stress. *Biol. Psychiatry* 67, 339–345.
- Clem, R.L., and Huganir, R.L. (2010). Calcium-Permeable AMPA Receptor Dynamics Mediate Fear Memory Erasure. *Science* 330, 1108–1112.
- Cohen, N., and Squire, L. (1980). Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210, 207–210.
- Cole, A.J., Saffen, D.W., Baraban, J.M., and Worley, P.F. (1989). Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature* 340, 474–476.
- Coppen, A. (1967). The Biochemistry of Affective Disorders. *Br. J. Psychiatry* 113, 1237–1264.
- Corcoran, K.A., Donnan, M.D., Tronson, N.C., Guzman, Y.F., Gao, C., Jovasevic, V., Guedea, A.L., and Radulovic, J. (2011). NMDA Receptors in Retrosplenial Cortex Are Necessary for Retrieval of Recent and Remote Context Fear Memory. *J. Neurosci.* 31, 11655–11659.
- Courtin, J., Chaudun, F., Rozeske, R.R., Karalis, N., Gonzalez-Campo, C., Wurtz, H., Abdi, A., Baufreton, J., Bienvendu, T.C.M., and Herry, C. (2013). Prefrontal parvalbumin interneurons shape neuronal activity to drive fear expression. *Nature* 505, 92–96.

- Cryan, J.F., and Holmes, A. (2005). Model organisms: The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat. Rev. Drug Discov.* *4*, 775–790.
- Cullen, P.K., Gilman, T.L., Winiecki, P., Riccio, D.C., and Jasnow, A.M. (2015). Activity of the anterior cingulate cortex and ventral hippocampus underlie increases in contextual fear generalization. *Neurobiol. Learn. Mem.* *124*, 19–27.
- D C Blanchard, and Blanchard, and R.J. (1988). Ethoexperimental Approaches to the Biology of Emotion. *Annu. Rev. Psychol.* *39*, 43–68.
- Datta, S. (2000). Avoidance task training potentiates phasic pontine-wave density in the rat: A mechanism for sleep-dependent plasticity. *J. Neurosci.* *20*, 8607–8613.
- Datta, S. (2004). 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.* *24*, 1416–1427.
- Datta, S., and O'Malley, M.W. (2013). Fear Extinction Memory Consolidation Requires Potentiation of Pontine-Wave Activity during REM Sleep. *J. Neurosci.* *33*, 4561–4569.
- Datta, S., Li, G., and Auerbach, S. (2008). 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. *Eur. J. Neurosci.* *27*, 1876–1892.
- Dejean, C., Courtin, J., Karalis, N., Chaudun, F., Wurtz, H., Bienvenu, T.C.M., and Herry, C. (2016). Prefrontal neuronal assemblies temporally control fear behaviour. *Nature* *535*, 420–424.
- Deliens, G., Neu, D., and Peigneux, P. (2013). Rapid eye movement sleep does not seem to unbind memories from their emotional context. *J. Sleep Res.* *22*, 656–662.
- Dement, W. (1958). The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* *10*, 291–296.
- Desmedt, A., Marighetto, A., Garcia, R., and Jaffard, R. (2003). The effects of ibotenic hippocampal lesions on discriminative fear conditioning to context in mice: impairment or facilitation depending on the associative value of a phasic explicit cue. *Eur. J. Neurosci.* *17*, 1953–1963.
- Diekelmann, S., and Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nat. Rev. Neurosci.* *11*, 114–126
- Dinges, D.F., Pack, F., Williams, K., Gillen, K.A., Powell, J.W., Ott, G.E., Aptowicz, C., and Pack, A.I. (1997). Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. *Sleep* *20*, 267–277.
- Dolcos, F., LaBar, K.S., and Cabeza, R. (2005). Remembering one year later: Role of the amygdala and the medial temporal lobe memory system in retrieving emotional memories. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *102*, 2626–2631.
- Downer, J.L. deC. (1961). Changes in Visual Gnostic Functions and Emotional Behaviour Following Unilateral Temporal Pole Damage in the “Split-Brain” Monkey. *Nature* *191*, 50–51.
- Drevets, W.C. (1999). Prefrontal cortical-amygdalar metabolism in major depression. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *877*, 614–637.

- Drevets, W.C., Price, J.L., Simpson, J.R., Todd, R.D., Reich, T., Vannier, M., and Raichle, M.E. (1997). Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 386, 824–827.
- Dudai, Y. (2004). The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annu. Rev. Psychol.* 55, 51–86.
- Dudai, Y., Karni, A., and Born, J. (2015). The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron* 88, 20–32.
- Duman, R.S., and Aghajanian, G.K. (2012). Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science* 338, 68–72.
- Duman, R.S., and Voleti, B. (2012). Signaling pathways underlying the pathophysiology and treatment of depression: novel mechanisms for rapid-acting agents. *Trends Neurosci.* 35, 47–56.
- Economo, C.V. (1930). Sleep as a problem of localization. *J. Nerv. Ment. Dis.* 71, 249–259.
- Eichenbaum, H. (2004). Hippocampus. *Neuron* 44, 109–120.
- Einarsson, E.Ö., Pors, J., and Nader, K. (2015). Systems reconsolidation reveals a selective role for the anterior cingulate cortex in generalized contextual fear memory expression. *Neuropsychopharmacology* 40, 480–487.
- Ekman, P. (1992). An argument for basic emotions. *Cogn. Emot.* 6, 169–200.
- El Yacoubi, M., Bouali, S., Popa, D., Naudon, L., Leroux-Nicollet, I., Hamon, M., Costentin, J., Adrien, J., and Vaugeois, J.-M. (2003). Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 6227–6232.
- El Yacoubi, M., Rappeneau, V., Champion, E., Malleret, G., and Vaugeois, J.-M. (2013). The H/Rouen mouse model displays depression-like and anxiety-like behaviors. *Behav. Brain Res.* 256, 43–50.
- Elyacoubi, M., and Vaugeois, J. (2007). Genetic rodent models of depression. *Curr. Opin. Pharmacol.* 7, 3–7.
- Evans, F.J., and Thorn, W.A.F. (1966). Two types of posthypnotic amnesia: Recall amnesia and source amnesia. *Int. J. Clin. Exp. Hypn.* 14, 162–179.
- Fanselow, M.S. (2000). Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. *Behav. Brain Res.* 110, 73–81.
- Fanselow, M.S., and Dong, H.-W. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron* 65, 7–19.
- Fanselow, M.S., and Poulos, A.M. (2005). The Neuroscience of Mammalian Associative Learning. *Annu. Rev. Psychol.* 56, 207–234.
- Fernandez, L.M.J., Comte, J.-C., Le Merre, P., Lin, J.-S., Salin, P.-A., and Crochet, S. (2016). Highly Dynamic Spatiotemporal Organization of Low-Frequency Activities During Behavioral States in the Mouse Cerebral Cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991.
- Fishbein, W. (2000). The case against memory consolidation in REM sleep: Balderdash! *Behav. Brain Sci.* 23, 934–936.

- Fishbein, W., Kastaniotis, C., and Chattman, D. (1974). Paradoxical sleep: Prolonged augmentation following learning. *Brain Res.* *79*, 61–75.
- Flint, J., and Kendler, K.S. (2014). The Genetics of Major Depression. *Neuron* *81*, 484–503.
- Ford, D.E., and Cooper-Patrick, L. (2001). Sleep disturbances and mood disorders: an epidemiologic perspective. *Depress. Anxiety* *14*, 3–6.
- Ford, D.E., and Kamerow, D.B. (1989). Epidemiologic study of sleep disturbances and psychiatric disorders. An opportunity for prevention? *JAMA* *262*, 1479–1484.
- Fraize, N., Carponcy, J., Joseph, M.A., Comte, J.-C., Luppi, P.-H., Libourel, P.-A., Salin, P.-A., Malleret, G., and Parmentier, R. (2016). Levels of Interference in Long and Short-Term Memory Differentially Modulate Non-REM and REM sleep. *Sleep*.
- Frankland, P.W., and Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nat. Rev. Neurosci.* *6*, 119–130.
- Frankland, P.W., Bontempi, B., Talton, L.E., Kaczmarek, L., and Silva, A.J. (2004). The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* *304*, 881–883.
- Franzen, P.L., and Buysse, D.J. (2008). Sleep disturbances and depression: risk relationships for subsequent depression and therapeutic implications. *Dialogues Clin. Neurosci.* *10*, 473–481.
- Fredholm, B.B., Bättig, K., Holmén, J., Nehlig, A., and Zvartau, E.E. (1999). Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. *Pharmacol. Rev.* *51*, 83–133.
- Freeman, L.C. (1977). A Set of Measures of Centrality Based on Betweenness. *Sociometry* *40*, 35–41.
- Frewen, P.A., Schmittmann, V.D., Bringmann, L.F., and Borsboom, D. (2013). Perceived causal relations between anxiety, posttraumatic stress and depression: extension to moderation, mediation, and network analysis. *Eur. J. Psychotraumatology* *4*.
- Frisbee, J.C., Brooks, S.D., Stanley, S.C., and d’Audiffret, A.C. (2015). An Unpredictable Chronic Mild Stress Protocol for Instigating Depressive Symptoms, Behavioral Changes and Negative Health Outcomes in Rodents. *JoVE J. Vis. Exp.* e53109–e53109.
- Friston, K., Kilner, J., and Harrison, L. (2006). A free energy principle for the brain. *J. Physiol.-Paris* *100*, 70–87.
- Fu, J., Li, P., Ouyang, X., Gu, C., Song, Z., Gao, J., Han, L., Feng, S., Tian, S., and Hu, B. (2007). Rapid eye movement sleep deprivation selectively impairs recall of fear extinction in hippocampus-independent tasks in rats. *Neuroscience* *144*, 1186–1192.
- Fujinaka, A., Li, R., Hayashi, M., Kumar, D., Changarathil, G., Naito, K., Miki, K., Nishiyama, T., Lazarus, M., Sakurai, T., et al. (2016). Effect of context exposure after fear learning on memory generalization in mice. *Mol. Brain* *9*, 2.
- Furlong, T.M., McDowall, L.M., Horiuchi, J., Polson, J.W., and Dampney, R.A.L. (2014). The effect of air puff stress on c-Fos expression in rat hypothalamus and brainstem: central circuitry mediating sympathoexcitation and baroreflex resetting. *Eur. J. Neurosci.* *39*, 1429–1438.

- Gais, S., Plihal, W., Wagner, U., and Born, J. (2000). Early sleep triggers memory for early visual discrimination skills. *Nat. Neurosci.* *3*, 1335–1339.
- Gallopín, T., Fort, P., Eggermann, E., Cauli, B., Luppi, P.-H., Rossier, J., Audinat, E., Mühlethaler, M., and Serafin, M. (2000). Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature* *404*, 992–995.
- Geng, F., Zhang, J., Wu, J.-L., Zou, W.-J., Liang, Z.-P., Bi, L.-L., Liu, J.-H., Kong, Y., Huang, C.-Q., Li, X.-W., et al. (2016). Neuregulin 1-ErbB4 signaling in the bed nucleus of the stria terminalis regulates anxiety-like behavior. *Neuroscience* *329*, 182–192.
- Genzel, L., Spoormaker, V.I., Konrad, B.N., and Dresler, M. (2015). The role of rapid eye movement sleep for amygdala-related memory processing. *Neurobiol. Learn. Mem.* *122*, 110–121.
- Germain, A. (2013). Sleep disturbances as the hallmark of PTSD: where are we now? *Am. J. Psychiatry* *170*, 372–382.
- Gervasoni, D. (2004). Global Forebrain Dynamics Predict Rat Behavioral States and Their Transitions. *J. Neurosci.* *24*, 11137–11147.
- Ghashghaei, H.T., and Barbas, H. (2002). Pathways for emotion: interactions of prefrontal and anterior temporal pathways in the amygdala of the rhesus monkey. *Neuroscience* *115*, 1261–1279.
- Ghika-Schmid, F., Assal, G., De Tribolet, N., and Regli, F. (1995). Klüver-Bucy syndrome after left anterior temporal resection. *Neuropsychologia* *33*, 101–113.
- Giuditta, A., Ambrosini, M.V., Montagnese, P., Mandile, P., Cotugno, M., Grassi Zucconi, G., and Vescia, S. (1995). The sequential hypothesis of the function of sleep. *Behav. Brain Res.* *69*, 157–166.
- Glenn Northcutt, R., and Kaas, J.H. (1995). The emergence and evolution of mammalian neocortex. *Trends Neurosci.* *18*, 373–379.
- Glin, L., Arnaud, C., Berracochea, D., Galey, D., Jaffard, R., and Gottesmann, C. (1991). The intermediate stage of sleep in mice. *Physiol. Behav.* *50*, 951–953.
- Goda, Y., and Stevens, C.F. (1994). Two components of transmitter release at a central synapse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *91*, 12942–12946.
- Goldstein, A.N., and Walker, M.P. (2014). The Role of Sleep in Emotional Brain Function. *Annu. Rev. Clin. Psychol.* *10*, 679–708.
- Goosens, K.A., and Maren, S. (2001). Contextual and Auditory Fear Conditioning are Mediated by the Lateral, Basal, and Central Amygdaloid Nuclei in Rats. *Learn. Mem.* *8*, 148–155.
- Goshen, I., Brodsky, M., Prakash, R., Wallace, J., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C., and Deisseroth, K. (2011). Dynamics of Retrieval Strategies for Remote Memories. *Cell* *147*, 678–689.
- Gottesmann, C., and Gottesman, I. (2007). The neurobiological characteristics of rapid eye movement (REM) sleep are candidate endophenotypes of depression, schizophrenia, mental retardation and dementia. *Prog. Neurobiol.* *81*, 237–250.
- Graef, S., Schönknecht, P., Sabri, O., and Hegerl, U. (2011). Cholinergic receptor subtypes and their role in cognition, emotion, and vigilance control: An overview of preclinical and clinical findings. *Psychopharmacology (Berl.)* *215*, 205–229.

Gräff, J., Joseph, N.F., Horn, M.E., Samiei, A., Meng, J., Seo, J., Rei, D., Bero, A.W., Phan, T.X., Wagner, F., et al. (2014). Epigenetic Priming of Memory Updating during Reconsolidation to Attenuate Remote Fear Memories. *Cell* 156, 261–276.

Gray, J.A. (1982). Précis of The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system. *Behav. Brain Sci.* 5, 469-484

Griffin, A.L. (2015). Role of the thalamic nucleus reuniens in mediating interactions between the hippocampus and medial prefrontal cortex during spatial working memory. *Front. Syst. Neurosci.* 9.

Groch, S., Wilhelm, I., Diekelmann, S., and Born, J. (2013). The role of REM sleep in the processing of emotional memories: evidence from behavior and event-related potentials. *Neurobiol. Learn. Mem.* 99, 1–9.

Guelfi, J.-D. (2010). Mini DSM-IV-TR: Critères diagnostiques (Elsevier Masson).

Gutwein, B.M., and Fishbein, W. (1980a). Paradoxical sleep and memory (II): sleep circadian rhythmicity following enriched and impoverished environmental rearing. *Brain Res. Bull.* 5, 105–109.

Gutwein, B.M., and Fishbein, W. (1980b). Paradoxical sleep and memory (I): Selective alterations following enriched and impoverished environmental rearing. *Brain Res. Bull.* 5, 9–12.

Hafting, T., Fyhn, M., Molden, S., Moser, M.-B., and Moser, E.I. (2005). Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature* 436, 801–806.

Hall, C.S., and Lindzey, G. (1957). *Theories of personality* (New York : Wiley)

van der Helm, E., Yao, J., Dutt, S., Rao, V., Saletin, J.M., and Walker, M.P. (2011). REM sleep de-potentiates amygdala activity to previous emotional experiences. *Curr. Biol.* CB 21, 2029–2032.

Henke, P.G. (1990). Hippocampal pathway to the amygdala and stress ulcer development. *Brain Res. Bull.* 25, 691–695.

Hennevin, E., and Hars, B. (1985). Post-Learning Paradoxical Sleep: A Critical Period When New Memory is Reactivated ? In *Brain Plasticity, Learning, and Memory*, B.E. Will, P. Schmitt, and J.C. Dalrymple-Alford, eds. (Springer US), pp. 193–203.

Hennevin, E., Leconte, P., and Bloch, V. (1974). Augmentation du sommeil paradoxal provoquée par l'acquisition, l'extinction et la réacquisition d'un apprentissage à renforcement positif. *Brain Res.* 70, 43–54.

Hennevin, E., Hars, B., Maho, C., and Bloch, V. (1995). Processing of learned information in paradoxical sleep: relevance for memory. *Behav. Brain Res.* 69, 125–135.

Herman, J.P., Figueiredo, H., Mueller, N.K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M.M., Choi, D.C., and Cullinan, W.E. (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. *Front. Neuroendocrinol.* 24, 151–180.

Herrick, C.J. (1933). The functions of the olfactory parts of the cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 19, 7–14.

Herry, C., Ciocchi, S., Senn, V., Demmou, L., Müller, C., and Lüthi, A. (2008). Switching on and off fear by distinct neuronal circuits. *Nature* 454, 600–606.

- Heuer, F., and Reisberg, D. Vivid memories of emotional events: The accuracy of remembered minutiae. *Mem. Cognit.* *18*, 496–506.
- Hobson, J.A., and Friston, K.J. (2012). Waking and dreaming consciousness: neurobiological and functional considerations. *Prog. Neurobiol.* *98*, 82–98.
- Hölscher, C., Anwyl, R., and Rowan, M.J. (1997). Stimulation on the positive phase of hippocampal theta rhythm induces long-term potentiation that can be depotentiated by stimulation on the negative phase in area CA1 in vivo. *J. Neurosci.* *17*, 6470–6477.
- Hoover, W.B., and Vertes, R.P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct. Funct.* *212*, 149–179.
- Hornak, J. (2003). Changes in emotion after circumscribed surgical lesions of the orbitofrontal and cingulate cortices. *Brain* *126*, 1691–1712.
- Horne, J.A., and McGrath, M.J. (1984). The consolidation hypothesis for REM sleep function: stress and other confounding factors--a review. *Biol. Psychol.* *18*, 165–184.
- Hosokawa, T., Kato, K., Inoue, M., and Mikami, A. (2007). Neurons in the macaque orbitofrontal cortex code relative preference of both rewarding and aversive outcomes. *Neurosci. Res.* *57*, 434–445.
- Huang, Z.-L., Urade, Y., and Hayaishi, O. (2011). The role of adenosine in the regulation of sleep. *Curr. Top. Med. Chem.* *11*, 1047–1057.
- Huber, R., Felice Ghilardi, M., Massimini, M., and Tononi, G. (2004). Local sleep and learning. *Nature* *430*, 78–81.
- Huff, M.L., Emmons, E.B., Narayanan, N.S., and LaLumiere, R.T. (2016). Basolateral amygdala projections to ventral hippocampus modulate the consolidation of footshock, but not contextual, learning in rats. *Learn. Mem.* *23*, 51–60.
- Inaba, H., Tsukagoshi, A., and Kida, S. (2015). PARP-1 activity is required for the reconsolidation and extinction of contextual fear memory. *Mol. Brain* *8*.
- Inostroza, M., Binder, S., and Born, J. (2013). Sleep-dependency of episodic-like memory consolidation in rats. *Behav. Brain Res.* *237*, 15–22.
- Izquierdo, A., Suda, R.K., and Murray, E.A. (2004). Bilateral Orbital Prefrontal Cortex Lesions in Rhesus Monkeys Disrupt Choices Guided by Both Reward Value and Reward Contingency. *J. Neurosci.* *24*, 7540–7548.
- Izquierdo, A., Suda, R.K., and Murray, E.A. (2005). Comparison of the Effects of Bilateral Orbital Prefrontal Cortex Lesions and Amygdala Lesions on Emotional Responses in Rhesus Monkeys. *J. Neurosci.* *25*, 8534–8542.
- Jenkins, J.G., and Dallenbach, K.M. (1924). Obliviscence during Sleep and Waking. *Am. J. Psychol.* *35*, 605–612.
- Johansen, J.P., Cain, C.K., Ostroff, L.E., and LeDoux, J.E. (2011). Molecular Mechanisms of Fear Learning and Memory. *Cell* *147*, 509–524.

- Johnson, L.A., Euston, D.R., Tatsuno, M., and McNaughton, B.L. (2010). Stored-Trace Reactivation in Rat Prefrontal Cortex Is Correlated with Down-to-Up State Fluctuation Density. *J. Neurosci.* *30*, 2650–2661.
- Joseph, M.A., Fraize, N., Ansoud-Lerouge, J., Sapin, E., Peyron, C., Arthaud, S., Libourel, P.-A., Parmentier, R., Salin, P.A., and Malleret, G. (2015). Differential Involvement of the Dentate Gyrus in Adaptive Forgetting in the Rat. *PloS One* *10*, e0142065.
- Jouvet, M., Michel, F., and Courjon, J. (1959). [On a stage of rapid cerebral electrical activity in the course of physiological sleep]. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* *153*, 1024–1028.
- Kalin, N.H., Shelton, S.E., and Davidson, R.J. (2007). Role of the Primate Orbitofrontal Cortex in Mediating Anxious Temperament. *Biol. Psychiatry* *62*, 1134–1139.
- Kang, H.J., Voleti, B., Hajszan, T., Rajkowska, G., Stockmeier, C.A., Licznanski, P., Lepack, A., Majik, M.S., Jeong, L.S., Banasr, M., et al. (2012). Decreased expression of synapse-related genes and loss of synapses in major depressive disorder. *Nat. Med.* *18*, 1413–1417.
- Kaouane, N., Porte, Y., Vallée, M., Brayda-Bruno, L., Mons, N., Calandreau, L., Marighetto, A., Piazza, P.V., and Desmedt, A. (2012). Glucocorticoids Can Induce PTSD-Like Memory Impairments in Mice. *Science* *335*, 1510–1513.
- Kaplan, I.V., Guo, Y., and Mower, G.D. (1995). Developmental expression of the immediate early gene EGR-1 mirrors the critical period in cat visual cortex. *Brain Res. Dev. Brain Res.* *90*, 174–179.
- Keene, C.S., and Bucci, D.J. (2008). Neurotoxic lesions of retrosplenial cortex disrupt signaled and unsigned contextual fear conditioning. *Behav. Neurosci.* *122*, 1070–1077.
- Kemp, N., and Bashir, Z.I. (2001). Long-term depression: a cascade of induction and expression mechanisms. *Prog. Neurobiol.* *65*, 339–365.
- Kennerley, S.W., Dahmubed, A.F., Lara, A.H., and Wallis, J.D. (2008). Neurons in the Frontal Lobe Encode the Value of Multiple Decision Variables. *J. Cogn. Neurosci.* *21*, 1162–1178.
- Kihlstrom, J.F. (1987). The cognitive unconscious. *Science* *18 ; 237 (4821): 1445-1452*
- Kim, E.-J., and Dimsdale, J.E. (2007). The Effect of Psychosocial Stress on Sleep: A Review of Polysomnographic Evidence. *Behav. Sleep. Med.* *5*, 256–278.
- Kim, J., and Fanselow, M. (1992). Modality-Specific Retrograde-Amnesia of Fear. *Science* *256*, 675–677.
- Kirouac, G.J. (2015). Placing the paraventricular nucleus of the thalamus within the brain circuits that control behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* *56*, 315–329.
- Kishi, T., Tsumori, T., Ono, K., Yokota, S., Ishino, H., and Yasui, Y. (2000). Topographical organization of projections from the subiculum to the hypothalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* *419*, 205–222.
- Kjelstrup, K.B., Solstad, T., Brun, V.H., Hafting, T., Leutgeb, S., Witter, M.P., Moser, E.I., and Moser, M.-B. (2008). Finite Scale of Spatial Representation in the Hippocampus. *Science* *321*, 140–143.

- Kjelstrup, K.G., Tuvnes, F.A., Steffenach, H.-A., Murison, R., Moser, E.I., and Moser, M.-B. (2002). Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *99*, 10825–10830.
- Klüver, H., and Bucy, P.C. (1936). Psychic blindness and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. *Am J Physiol* *119*: 352-353. ResearchGate *119*, 352–353.
- Koba, S., Inoue, R., and Watanabe, T. (2016). Role played by periaqueductal gray neurons in parasympathetically mediated fear bradycardia in conscious rats. *Physiol. Rep.* *4*, e12831.
- Koike, H., Iijima, M., and Chaki, S. (2011). Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression. *Behav. Brain Res.* *224*, 107–111.
- Kragel, P.A., and LaBar, K.S. (2016). Decoding the Nature of Emotion in the Brain. *Trends Cogn. Sci.* *20*, 444–455.
- Krueger, J.M., Rector, D.M., Roy, S., Dongen, H.P.A.V., Belenky, G., and Panksepp, J. (2008). SLEEP AS A FUNDAMENTAL PROPERTY OF NEURONAL ASSEMBLIES. *Nat. Rev. Neurosci.* *9*, 910-919
- Kudrimoti, H.S., Barnes, C.A., and McNaughton, B.L. (1999). Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *19*, 4090–4101.
- Kumar, A., and Kalonia, H. (2007). Protective effect of melatonin on certain behavioral and biochemical alterations induced by sleep-deprivation in mice. *Indian J. Pharmacol.* *39*, 48.
- Kwapis, J.L., Jarome, T.J., Lee, J.L., and Helmstetter, F.J. (2015). The retrosplenial cortex is involved in the formation of memory for context and trace fear conditioning. *Neurobiol. Learn. Mem.* *123*, 110–116.
- Landgraf, D., Long, J., Der-Avakian, A., Streets, M., and Welsh, D.K. (2015). Dissociation of Learned Helplessness and Fear Conditioning in Mice: A Mouse Model of Depression. *PLOS ONE* *10*, e0125892.
- Langella, M., Colarieti, L., Ambrosini, M.V., and Giuditta, A. (1992). The sequential hypothesis of sleep function. IV. A correlative analysis of sleep variables in learning and nonlearning rats. *Physiol. Behav.* *51*, 227–238.
- de Lavilléon, G., Lacroix, M.M., Rondi-Reig, L., and Benchenane, K. (2015). Explicit memory creation during sleep demonstrates a causal role of place cells in navigation. *Nat. Neurosci.* *18*, 493–495.
- Lazarus, R.S., and McCleary, R.A. (1951). Autonomic discrimination without awareness: a study of subception. *Psychol. Rev.* *58*, 113–122.
- Lecas, J.C. (1976). Changes in paradoxical sleep accompanying instrumental learning in the cat. *Neurosci. Lett.* *3*, 349–355.
- Lechner, H.A., Squire, L.R., and Byrne, J.H. (1999). 100 Years of Consolidation— Remembering Müller and Pilzecker. *Learn. Mem.* *6*, 77–87.
- Leconte, P., and Hennevin, E. (1973). Caractéristiques temporelles de l'augmentation de sommeil paradoxal consécutif à l'apprentissage chez le Rat. *Physiol. Behav.* *11*, 677–686.

- Leconte, P., and Hennevin, E. (1981). Post-learning paradoxical sleep, reticular activation and noradrenergic activity. *Physiol. Behav.* *26*, 587–594.
- LeDoux, J. (2007). The amygdala. *Curr. Biol.* *17*, R868–R874.
- LeDoux, J.E. (2000). Emotion Circuits in the Brain. *Annu. Rev. Neurosci.* *23*, 155–184.
- LeDoux, J.E., Iwata, J., Cicchetti, P., and Reis, D.J. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J. Neurosci.* *8*, 2517–2529.
- Lee, A.K., and Wilson, M.A. (2002). Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron* *36*, 1183–1194.
- Lee, A.K., and Wilson, M.A. (2004). A combinatorial method for analyzing sequential firing patterns involving an arbitrary number of neurons based on relative time order. *J. Neurophysiol.* *92*, 2555–2573.
- Lee, K.J., Park, S.-B., and Lee, I. (2014). Elemental or contextual? It depends: individual difference in the hippocampal dependence of associative learning for a simple sensory stimulus. *Front. Behav. Neurosci.* *8*.
- van de Leemput, I.A., Wichers, M., Cramer, A.O.J., Borsboom, D., Tuerlinckx, F., Kuppens, P., van Nes, E.H., Viechtbauer, W., Giltay, E.J., Aggen, S.H., et al. (2014). Critical slowing down as early warning for the onset and termination of depression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *111*, 87–92.
- Legault, G., Delay, S., and Madore, A. (2010). 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.
- Li, N., Liu, R.-J., Dwyer, J.M., Banasr, M., Lee, B., Son, H., Li, X.-Y., Aghajanian, G., and Duman, R.S. (2011). Glutamate N-methyl-D-aspartate Receptor Antagonists Rapidly Reverse Behavioral and Synaptic Deficits Caused by Chronic Stress Exposure. *Biol. Psychiatry* *69*, 754–761.
- Libourel, P.-A., Corneyllie, A., Luppi, P.-H., Chouvet, G., and Gervasoni, D. (2015). Unsupervised Online Classifier in Sleep Scoring for Sleep Deprivation Studies. *SLEEP* *38* (5): 815-828
- Likhtik, E. (2005). Prefrontal Control of the Amygdala. *J. Neurosci.* *25*, 7429–7437.
- Likhtik, E., Popa, D., Apergis-Schoute, J., Fidacaro, G.A., and Paré, D. (2008). Amygdala intercalated neurons are required for expression of fear extinction. *Nature* *454*, 642–645.
- Likhtik, E., Stujenske, J.M., A Topiwala, M., Harris, A.Z., and Gordon, J.A. (2013). Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nat. Neurosci.* *17*, 106–113.
- Louie, K., and Wilson, M.A. (2001). Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron* *29*, 145–156.
- Luppi, P.-H., Gervasoni, D., Verret, L., Goutagny, R., Peyron, C., Salvert, D., Leger, L., and Fort, P. (2006). Paradoxical (REM) sleep genesis: the switch from an aminergic-cholinergic to a GABAergic-glutamatergic hypothesis. *J. Physiol. Paris* *100*, 271–283.

- Machado, C.J., and Bachevalier, J. (2007). The effects of selective amygdala, orbital frontal cortex or hippocampal formation lesions on reward assessment in nonhuman primates: Reward assessment in nonhuman primates. *Eur. J. Neurosci.* *25*, 2885–2904.
- MacLean, P.D. (1949). Psychosomatic Disease and the “Visceral Brain”: Recent Developments Bearing on the Papez Theory of Emotion. *Psychosom. Med.* *11*, 338–353.
- Maclean, P.D. (1952). Some psychiatric implications of physiological studies on frontotemporal portion of limbic system (visceral brain). *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* *4*, 407–418.
- MacQueen, G., and Frodl, T. (2011). The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research? *Mol. Psychiatry* *16*, 252–264.
- Majchrzak, M., Ferry, B., Marchand, A.R., Herbeaux, K., Seillier, A., and Barbelivien, A. (2006). Entorhinal cortex lesions disrupt fear conditioning to background context but spare fear conditioning to a tone in the rat. *Hippocampus* *16*, 114–124.
- Mandile, P., Vescia, S., Montagnese, P., Piscopo, S., Cotugno, M., and Giuditta, A. (2000). Post-trial sleep sequences including transition sleep are involved in avoidance learning of adult rats. *Behav. Brain Res.* *112*, 23–31.
- Maquet, P., Péters, J.-M., Aerts, J., Delfiore, G., Degueldre, C., Luxen, A., and Franck, G. (1996). Functional neuroanatomy of human rapid-eye-movement sleep and dreaming. *Publ. Online* 12 Sept. 1996 Doi101038383163a0 *383*, 163–166.
- Maren, S. (1999). Neurotoxic or electrolytic lesions of the ventral subiculum produce deficits in the acquisition and expression of Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav. Neurosci.* *113*, 283–290
- Maren, S. (2005). Synaptic Mechanisms of Associative Memory in the Amygdala. *Neuron* *47*, 783–786.
- Maren, S., and Fanselow, M.S. (1995). Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *J. Neurosci.* *15*, 7548–7564.
- Maren, S., and Fanselow, M.S. (1997). Electrolytic Lesions of the Fimbria/Fornix, Dorsal Hippocampus, or Entorhinal Cortex Produce Anterograde Deficits in Contextual Fear Conditioning in Rats. *Neurobiol. Learn. Mem.* *67*, 142–149.
- Maren, S., and Holt, W.G. (2004). Hippocampus and Pavlovian Fear Conditioning in Rats: Muscimol Infusions Into the Ventral, but Not Dorsal, Hippocampus Impair the Acquisition of Conditional Freezing to an Auditory Conditional Stimulus. *Behav. Neurosci.* *118*, 97–110.
- Maren, S., Aharonov, G., and Fanselow, M.S. (1997a). Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav. Brain Res.* *88*, 261–274.
- Maren, S., Aharonov, G., and Fanselow, M.S. (1997b). Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav. Brain Res.* *88*, 261–274.
- Marks, I.M. (1987). *Fears, Phobias, and Rituals: Panic, Anxiety, and Their Disorders* (Oxford University Press).
- Marr, D. (1970). A Theory for Cerebral Neocortex. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* *176*, 161–234.

- Marr, D. (1971). Simple Memory: A Theory for Archicortex. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 262, 23–81.
- Martin, C.B.P., Ramond, F., Farrington, D.T., Aguiar, A.S., Chevarin, C., Berthiau, A.S., Caussanel, S., Lanfumey, L., Herrick-Davis, K., Hamon, M., et al. (2013). RNA splicing and editing modulation of 5-HT_{2C} receptor function: relevance to anxiety and aggression in VGV mice. *Mol. Psychiatry* 18, 656–665.
- Massey, P.V., and Bashir, Z.I. (2007). Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci.* 30, 176–184.
- Matzeu, A., Zamora-Martinez, E.R., and Martin-Fardon, R. (2014). The paraventricular nucleus of the thalamus is recruited by both natural rewards and drugs of abuse: recent evidence of a pivotal role for orexin/hypocretin signaling in this thalamic nucleus in drug-seeking behavior. *Front. Behav. Neurosci.* 8.
- Maviel, T., Durkin, T.P., Menzaghi, F., and Bontempi, B. (2004). Sites of Neocortical Reorganization Critical for Remote Spatial Memory. *Science* 305, 96–99.
- McDermott, C.M., LaHoste, G.J., Chen, C., Musto, A., Bazan, N.G., and Magee, J.C. (2003). Sleep deprivation causes behavioral, synaptic, and membrane excitability alterations in hippocampal neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 9687–9695.
- McEchron, M.D., Bouwmeester, H., Tseng, W., Weiss, C., and Disterhoft, J.F. (1998). Hippocampectomy disrupts auditory trace fear conditioning and contextual fear conditioning in the rat. *Hippocampus* 8, 638–646.
- McEwen, B.S. (2008). Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 174–185.
- McGaugh, J.L. (2000). Memory—a century of consolidation. *Science* 287, 248–251.
- McKinney, W.T., and Bunney, W.E. (1969). Animal Model of Depression: I. Review of Evidence: Implications for Research. *Arch. Gen. Psychiatry* 21, 240–248.
- Menz, M.M., Rihm, J.S., Salari, N., Born, J., Kalisch, R., Pape, H.C., Marshall, L., and Büchel, C. (2013). The role of sleep and sleep deprivation in consolidating fear memories. *NeuroImage* 75, 87–96.
- Meyza, K.Z., Bartal Ben-Ami, I., Monfils, M.H., Panksepp, J.B., and Knapska, E. (2016). The roots of empathy: through the lens of rodent models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* [Epub ahead of print]
- Minkel, J.D., Banks, S., Htaik, O., Moreta, M.C., Jones, C.W., McGlinchey, E.L., Simpson, N.S., and Dinges, D.F. (2012). Sleep deprivation and stressors: evidence for elevated negative affect in response to mild stressors when sleep deprived. *Emot. Wash. DC* 12, 1015–1020.
- Mirmiran, M., van den Dungen, H., and Uylings, H.B. (1982). Sleep patterns during rearing under different environmental conditions in juvenile rats. *Brain Res.* 233, 287–298.
- Miyauchi, S., Misaki, M., Kan, S., Fukunaga, T., and Koike, T. (2009). Human brain activity time-locked to rapid eye movements during REM sleep. *Exp. Brain Res.* 192, 657–667.
- Morrison, S.E., and Salzman, C.D. (2009). The Convergence of Information about Rewarding and Aversive Stimuli in Single Neurons. *J. Neurosci.* 29, 11471–11483.

- Morrissey, M.D., Maal-Bared, G., Brady, S., and Takehara-Nishiuchi, K. (2012). Functional Dissociation within the Entorhinal Cortex for Memory Retrieval of an Association between Temporally Discontiguous Stimuli. *J. Neurosci.* *32*, 5356–5361.
- Moser, M.-B., and Moser, E.I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* *8*, 608–619.
- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., and Morris, R.G. (1995). Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *92*, 9697–9701.
- Motomura, Y., Kitamura, S., Oba, K., Terasawa, Y., Enomoto, M., Katayose, Y., Hida, A., Moriguchi, Y., Higuchi, S., and Mishima, K. (2013). Sleep debt elicits negative emotional reaction through diminished amygdala-anterior cingulate functional connectivity. *PLoS One* *8*, e56578.
- Muller, J., Corodimas, K.P., Fridel, Z., and LeDoux, J.E. (1997). Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behav. Neurosci.* *111*, 683–691.
- Muris, P., Merckelbach, H., Schmidt, H., Gadet, B.B., and Bogie, N. (2001). Anxiety and depression as correlates of self-reported behavioural inhibition in normal adolescents. *Behav. Res. Ther.* *39*, 1051–1061.
- Murray, E.A. (2007). The amygdala, reward and emotion. *Trends Cogn. Sci.* *11*, 489–497.
- Murray, E.A., and Izquierdo, A. (2007). Orbitofrontal Cortex and Amygdala Contributions to Affect and Action in Primates. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1121*, 273–296.
- Nádasy, Z., Hirase, H., Czurkó, A., Csicsvari, J., and Buzsáki, G. (1999). Replay and time compression of recurring spike sequences in the hippocampus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *19*, 9497–9507.
- Nadel, L., and Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr. Opin. Neurobiol.* *7*, 217–227.
- Nair, D., Zhang, S.X.L., Ramesh, V., Hakim, F., Kaushal, N., Wang, Y., and Gozal, D. (2011). Sleep Fragmentation Induces Cognitive Deficits Via Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase-dependent Pathways in Mouse. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* *184*, 1305–1312.
- Nakashiba, T., Buhl, D.L., McHugh, T.J., and Tonegawa, S. (2009). Hippocampal CA3 Output Is Crucial for Ripple-Associated Reactivation and Consolidation of Memory. *Neuron* *62*, 781–787.
- Newport, D.J., Carpenter, L.L., McDonald, W.M., Potash, J.B., Tohen, M., Nemeroff, C.B., and The APA Council of Research Task Force on Novel Biomarkers and Treatments (2015). Ketamine and Other NMDA Antagonists: Early Clinical Trials and Possible Mechanisms in Depression. *Am. J. Psychiatry* *172*, 950–966.
- Niethard, N., Hasegawa, M., Itokazu, T., Oyanedel, C.N., Born, J., and Sato, T.R. (2016). Sleep-Stage-Specific Regulation of Cortical Excitation and Inhibition. *Curr. Biol.* *26* (20), 2739–2749
- Nir, Y., and Tononi, G. (2010). Dreaming and the brain: from phenomenology to neurophysiology. *Trends Cogn. Sci.* *14*, 88.
- Nishida, M., Pearsall, J., Buckner, R.L., and Walker, M.P. (2009). REM Sleep, Prefrontal Theta, and the Consolidation of Human Emotional Memory. *Cereb. Cortex* *19*, 1158–1166.

- O'Doherty, J.P. (2007). Lights, Camembert, Action! The Role of Human Orbitofrontal Cortex in Encoding Stimuli, Rewards, and Choices. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1121*, 254–272.
- Oliet, S.H.R., Malenka, R.C., and Nicoll, R.A. (1996). Bidirectional Control of Quantal Size by Synaptic Activity in the Hippocampus. *Science* *271*, 1294–1297.
- O'Neill, J., Senior, T.J., Allen, K., Huxter, J.R., and Csicsvari, J. (2008). Reactivation of experience-dependent cell assembly patterns in the hippocampus. *Nat. Neurosci.* *11*, 209–215.
- Onishi, B.K.A., and Xavier, G.F. (2010). Contextual, but not auditory, fear conditioning is disrupted by neurotoxic selective lesion of the basal nucleus of amygdala in rats. *Neurobiol. Learn. Mem.* *93*, 165–174.
- Padilla-Coreano, N., Bolkan, S.S., Pierce, G.M., Blackman, D.R., Hardin, W.D., Garcia-Garcia, A.L., Spellman, T.J., and Gordon, J.A. (2016). Direct Ventral Hippocampal-Prefrontal Input Is Required for Anxiety-Related Neural Activity and Behavior. *Neuron* *89*, 857–866.
- Padoa-Schioppa, C., and Assad, J.A. (2006). Neurons in the orbitofrontal cortex encode economic value. *Nature* *441*, 223–226.
- Padoa-Schioppa, C., and Assad, J.A. (2008). The representation of economic value in the orbitofrontal cortex is invariant for changes of menu. *Nat. Neurosci.* *11*, 95–102.
- Palagini, L., Baglioni, C., Ciapparelli, A., Gemignani, A., and Riemann, D. (2013). REM sleep dysregulation in depression: State of the art. *Sleep Med. Rev.* *17*, 377–390.
- Panayi, M.C., and Killcross, S. (2014). Orbitofrontal cortex inactivation impairs between- but not within-session Pavlovian extinction: An associative analysis. *Neurobiol. Learn. Mem.* *108*, 78–87.
- Parent, M.A., Wang, L., Su, J., Netoff, T., and Yuan, L.-L. (2010). Identification of the Hippocampal Input to Medial Prefrontal Cortex In Vitro. *Cereb. Cortex* *20*, 393–403.
- Pavlidis, C., and Winson, J. (1989). Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *9*, 2907–2918.
- Peyrache, A., Khamassi, M., Benchenane, K., Wiener, S.I., and Battaglia, F.P. (2009). Replay of rule-learning related neural patterns in the prefrontal cortex during sleep. *Nat. Neurosci.* *12*, 919–926.
- Phillips, R.G., and LeDoux, J.E. (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav. Neurosci.* *106*, 274.
- Phillips, R.G., and LeDoux, J.E. (1994). Lesions of the dorsal hippocampal formation interfere with background but not foreground contextual fear conditioning. *Learn. Mem.* *1*, 34–44.
- Phillips, R.G., and LeDoux, J.E. (1995). Lesions of the fornix but not the entorhinal or perirhinal cortex interfere with contextual fear conditioning. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *15*, 5308–5315.
- Pidoplichko, V.I., Prager, E.M., Aroniadou-Anderjaska, V., and Braga, M.F.M. (2013). α 7-Containing nicotinic acetylcholine receptors on interneurons of the basolateral amygdala and their role in the regulation of the network excitability. *J. Neurophysiol.* *110*, 2358–2369.

- Pikkarainen, M., Ronkko, S., Savander, V., Insausti, R., and Pitkanen, A. (1999). Projections from the lateral, basal, and accessory basal nuclei of the amygdala to the hippocampal formation in rat. *J. Comp. Neurol.* *403*, 229–260.
- Pine, D.S., Fyer, A., Grun, J., Phelps, E.A., Szeszko, P.R., Koda, V., Li, W., Ardekani, B., Maguire, E.A., Burgess, N., et al. (2001). Methods for developmental studies of fear conditioning circuitry. *Biol. Psychiatry* *50*, 225–228.
- Pinho, N., Moreira, K.M., Hipolide, D.C., Sinigaglia-Coimbra, R., Ferreira, T.L., Nobrega, J.N., Tufik, S., and Menezes Oliveira, M.G. (2013). Sleep deprivation alters phosphorylated CREB levels in the amygdala: Relationship with performance in a fear conditioning task. *Behav. Brain Res.* *236*, 221–224.
- Pires, G.N., Tufik, S., and Andersen, M.L. (2015). Sleep deprivation and anxiety in humans and rodents—Translational considerations and hypotheses. *Behav. Neurosci.* *129*, 621–633.
- Pitkänen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N., and Ylinen, A. (2006). Reciprocal Connections between the Amygdala and the Hippocampal Formation, Perirhinal Cortex, and Postrhinal Cortex in Rat: A Review. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *911*, 369–391.
- Plutchik, R. (1980). *Emotion : A psychoevolutionary synthesis* (New York : Harper & Row)
- Poe, G.R., Nitz, D.A., McNaughton, B.L., and Barnes, C.A. (2000). Experience-dependent phase-reversal of hippocampal neuron firing during REM sleep. *Brain Res.* *855*, 176–180.
- Poe, G.R., Walsh, C.M., and Bjorness, T.E. (2010). Cognitive Neuroscience of Sleep. *Prog. Brain Res.* *185*, 1–19.
- Poirier, G.L., Amin, E., and Aggleton, J.P. (2008). Qualitatively Different Hippocampal Subfield Engagement Emerges with Mastery of a Spatial Memory Task by Rats. *J. Neurosci.* *28*, 1034–1045.
- Pokk, P., and Väli, M. (2001). Small platform stress increases exploratory activity of mice in staircase test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* *25*, 1435–1444.
- Pokk, P., and Väli, M. (2002). The effects of the nitric oxide synthase inhibitors on the behaviour of small-platform-stressed mice in the plus-maze test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* *26*, 241–247.
- Popa, D., El Yacoubi, M., Vaugeois, J.-M., Hamon, M., and Adrien, J. (2006). Homeostatic Regulation of Sleep in a Genetic Model of Depression in the Mouse: Effects of Muscarinic and 5-HT_{1A} Receptor Activation. *Neuropsychopharmacology* *31*, 1637–1646.
- Popa, D., Duvarci, S., Popescu, A.T., Lena, C., and Pare, D. (2010). Coherent amygdalocortical theta promotes fear memory consolidation during paradoxical sleep. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *107*, 6516–6519.
- Portell-Cortés, I., Martí-Nicolovius, M., Segura-Torres, P., and Morgado-Bernal, I. (1989). Correlations between paradoxical sleep and shuttle-box conditioning in rats. *Behav. Neurosci.* *103*, 984–990.
- Price, J.L., and Drevets, W.C. (2010). Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* *35*, 192–216.
- Prince, T.-M., and Abel, T. (2013). The impact of sleep loss on hippocampal function. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* *20*, 558–569.

- de Quervain, D.J.-F. (2006). Glucocorticoid-induced inhibition of memory retrieval: implications for posttraumatic stress disorder. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1071*, 216–220.
- Rajkowska, G., Miguel-Hidalgo, J.J., Wei, J., Dilley, G., Pittman, S.D., Meltzer, H.Y., Overholser, J.C., Roth, B.L., and Stockmeier, C.A. (1999). Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol. Psychiatry* *45*, 1085–1098.
- Rajkowska, G., O'Dwyer, G., Teleki, Z., Stockmeier, C.A., and Miguel-Hidalgo, J.J. (2007). GABAergic neurons immunoreactive for calcium binding proteins are reduced in the prefrontal cortex in major depression. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* *32*, 471–482.
- Rasch, B., and Born, J. (2013). About Sleep's Role in Memory. *Physiol. Rev.* *93*, 681–766.
- Ratiu, P., and Talos, I.-F. (2004). The Tale of Phineas Gage, Digitally Remastered. *N. Engl. J. Med.* *351*, e21.
- Ravassard, P., Pachoud, B., Comte, J.C., Mejia-Perez, C., Scote-Blachon, C., Gay, N., Claustrat, B., Touret, M., Luppi, P.H., and Salin, P.A. (2009). Rapid Eye Movement (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* *32*, 227–240.
- Ravassard, P., Hamieh, A.M., Malleret, G., and Salin, P.-A. (2015). Paradoxical sleep: A vigilance state to gate long-term brain plasticity? *Neurobiol. Learn. Mem.* *122*, 4–10.
- Ravassard, P., Hamieh, A.M., Joseph, M.A., Fraize, N., Libourel, P.-A., Lebarillier, L., Arthaud, S., Meissirel, C., Touret, M., Malleret, G., et al. (2016). REM Sleep-Dependent Bidirectional Regulation of Hippocampal-Based Emotional Memory and LTP. *Cereb. Cortex* *26*, 1488–1500.
- Renouard, L., Billwiller, F., Ogawa, K., Clement, O., Camargo, N., Abdelkarim, M., Gay, N., Scote-Blachon, C., Touret, R., Libourel, P.-A., et al. (2015). The supramammillary nucleus and the claustrum activate the cortex during REM sleep. *Sci. Adv.* *1*, e1400177–e1400177.
- Ribeiro, S., Goyal, V., Mello, C.V., and Pavlides, C. (1999). Brain gene expression during REM sleep depends on prior waking experience. *Learn. Mem.* *6*, 500–508.
- Ribeiro, S., Mello, C.V., Velho, T., Gardner, T.J., Jarvis, E.D., and Pavlides, C. (2002). 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.
- Ritchey, M., Dolcos, F., Eddington, K.M., Strauman, T.J., and Cabeza, R. (2011). Neural correlates of emotional processing in depression: changes with cognitive behavioral therapy and predictors of treatment response. *J. Psychiatr. Res.* *45*, 577–587.
- Rodrigues, S.M., LeDoux, J.E., and Sapolsky, R.M. (2009). The Influence of Stress Hormones on Fear Circuitry. *Annu. Rev. Neurosci.* *32*, 289–313.
- Ross, R.J., Ball, W.A., Sullivan, K.A., and Caroff, S.N. (1989). Sleep disturbance as the hallmark of posttraumatic stress disorder. *Am. J. Psychiatry* *146*, 697–707.
- Rozeske, R.R., Valerio, S., Chaudun, F., and Herry, C. (2015). Prefrontal neuronal circuits of contextual fear conditioning: Prefrontal neuronal circuits of contextual fear. *Genes Brain Behav.* *14*, 22–36.

- Rubinov, M., and Sporns, O. (2010). Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *NeuroImage* 52, 1059–1069.
- Rudy, J.W., Huff, N.C., and Matus-Amat, P. (2004). Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 28, 675–685.
- Ruskin, D.N., Liu, C., Dunn, K.E., Bazan, N.G., and LaHoste, G.J. (2004). Sleep deprivation impairs hippocampus-mediated contextual learning but not amygdala-mediated cued learning in rats. *Eur. J. Neurosci.* 19, 3121–3124.
- Saint-Mleux, B., Bayer, L., Eggermann, E., Jones, B.E., Mühlethaler, M., and Serafin, M. (2007). Suprachiasmatic modulation of noradrenaline release in the ventrolateral preoptic nucleus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 6412–6416.
- Sánchez, C. (2003). Stress-induced vocalisation in adult animals. A valid model of anxiety? *Eur. J. Pharmacol.* 463, 133–143.
- Sanford, L.D., Yang, L., Wellman, L.L., Liu, X., and Tang, X. (2010). Differential effects of controllable and uncontrollable footshock stress on sleep in mice. *Sleep* 33, 621–630.
- Saper, C.B., Fuller, P.M., Pedersen, N.P., Lu, J., and Scammell, T.E. (2010). Sleep State Switching. *Neuron* 68, 1023–1042.
- Sauvet, F., Leftheriotis, G., Gomez-Merino, D., Langrume, C., Drogou, C., Van Beers, P., Bourrilhon, C., Florence, G., and Chennaoui, M. (2010). Effect of acute sleep deprivation on vascular function in healthy subjects. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 108, 68–75.
- Schachter, S., and Singer, J. (1962). Cognitive, social, and physiological determinants of emotional state. *Psychol. Rev.* 69, 379–399.
- Schacter, D.L., and Graf, P. (1986). Effects of elaborative processing on implicit and explicit memory for new associations. *J. Exp. Psychol. Learn. Mem. Cogn.* 12, 432.
- Scharbarg, E., Daenens, M., Lemaître, F., Geoffroy, H., Guille-Collignon, M., Gallopin, T., and Rancillac, A. (2016). Astrocyte-derived adenosine is central to the hypnogenic effect of glucose. *Sci. Rep.* 6, 19107.
- Scharfman, H.E. (2000). Epileptogenesis in the parahippocampal region. Parallels with the dentate gyrus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 911, 305–327.
- Schildkraut, J.J. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry* 122, 509–522.
- Schmidt, M.H. (2014). The energy allocation function of sleep: a unifying theory of sleep, torpor, and continuous wakefulness. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 47, 122–153.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A., and Gallagher, M. (1998). Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nat. Neurosci.* 1, 155–159.
- Schoenbaum, G., Setlow, B., and Ramus, S.J. (2003). A systems approach to orbitofrontal cortex function: recordings in rat orbitofrontal cortex reveal interactions with different learning systems. *Behav. Brain Res.* 146, 19–29.

Scoville, W.B., and Milner, B. (1957). LOSS OF RECENT MEMORY AFTER BILATERAL HIPPOCAMPAL LESIONS. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 20, 11–21.

Seminowicz, D., Mayberg, H., McIntosh, A., Goldapple, K., Kennedy, S., Segal, Z., and Rafi-Tari, S. (2004). Limbic–frontal circuitry in major depression: a path modeling metanalysis. *NeuroImage* 22, 409–418.

Sharma, A.K., Reams, R.Y., Jordan, W.H., Miller, M.A., Thacker, H.L., and Snyder, P.W. (2007). Mesial Temporal Lobe Epilepsy: Pathogenesis, Induced Rodent Models and Lesions. *Toxicol. Pathol.* 35, 984–999.

Sharpley, C., Bitsika, V., Jesolola, E., and Agnew, L. (2016). Prevalence and structure of anxiety-depression in an Australian community sample. *Arch. Psychiatry Psychother.* 18, 29–39.

Shi, S.H., Hayashi, Y., Petralia, R.S., Zaman, S.H., Wenthold, R.J., Svoboda, K., and Malinow, R. (1999). Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science* 284, 1811–1816.

Shiba, Y., Santangelo, A.M., and Roberts, A.C. (2016). Beyond the Medial Regions of Prefrontal Cortex in the Regulation of Fear and Anxiety. *Front. Syst. Neurosci.* 10.

Silva, R.H., Kameda, S.R., Carvalho, R.C., Takatsu-Coleman, A.L., Niigaki, S.T., Abilio, V.C., Tufik, S., and Frussa-Filho, R. (2004). Anxiogenic effect of sleep deprivation in the elevated plus-maze test in mice. *Psychopharmacology (Berl.)* 176, 115–122.

Silvestri, A.J., and Root, D.H. (2008). Effects of REM deprivation and an NMDA agonist on the extinction of conditioned fear. *Physiol. Behav.* 93, 274–281.

Sladky, R., Hoflich, A., Kublbock, M., Kraus, C., Baldinger, P., Moser, E., Lanzenberger, R., and Windischberger, C. (2015). Disrupted Effective Connectivity Between the Amygdala and Orbitofrontal Cortex in Social Anxiety Disorder During Emotion Discrimination Revealed by Dynamic Causal Modeling for fMRI. *Cereb. Cortex* 25, 895–903.

Smith, C. (1996). Sleep states, memory processes and synaptic plasticity. *Behav. Brain Res.* 78, 49–56.

Smith, C., and Lapp, L. (1986). Prolonged increases in both PS and number of REMS following a shuttle avoidance task. *Physiol. Behav.* 36, 1053–1057.

Smith, C., and Wong, P.T. (1991). Paradoxical sleep increases predict successful learning in a complex operant task. *Behav. Neurosci.* 105, 282–288.

Smith, C., Kitahama, K., Valatx, J.-L., and Jouvet, M. (1974). Increased paradoxical sleep in mice during acquisition of a shock avoidance task. *Brain Res.* 77, 221–230.

Smith, C., Lowe, D., and Smith, M.J. (1977). Increases in paradoxical and slow sleep during the acquisition of an appetitive task in rats. *Physiol. Psychol.* 5, 364–372.

Smith, C., Young, J., and Young, W. (1980). Prolonged increases in paradoxical sleep during and after avoidance-task acquisition. *Sleep* 3, 67–81.

Smith, C.T., Conway, J.M., and Rose, G.M. (1998). Brief paradoxical sleep deprivation impairs reference, but not working, memory in the radial arm maze task. *Neurobiol. Learn. Mem.* 69, 211–217.

- Spoormaker, V.I., Schröter, M.S., Andrade, K.C., Dresler, M., Kiem, S.A., Goya-Maldonado, R., Wetter, T.C., Holsboer, F., Sämann, P.G., and Czisch, M. (2012). Effects of rapid eye movement sleep deprivation on fear extinction recall and prediction error signaling. *Hum. Brain Mapp.* *33*, 2362–2376.
- Squire, L. (1992). Memory and the Hippocampus - a Synthesis from Findings with Rats, Monkeys, and Humans. *Psychol. Rev.* *99*, 195–231.
- Squire, L.R., and Zola, S.M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *93*, 13515–13522.
- Squire, L.R., Zola-Morgan, S., Cave, C.B., Haist, F., Musen, G., and Suzuki, W.A. (1990). Memory: Organization of Brain Systems and Cognition. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* *55*, 1007–1023.
- Squire, L.R., Stark, C.E.L., and Clark, R.E. (2004). The medial temporal lobe. *Annu. Rev. Neurosci.* *27*, 279–306.
- Sterpenich, V., Albouy, G., Boly, M., Vandewalle, G., Darsaud, A., Balteau, E., Dang-Vu, T.T., Desseilles, M., D'Argembeau, A., Gais, S., et al. (2007). Sleep-Related Hippocampo-Cortical Interplay during Emotional Memory Recollection. *PLoS Biol.* *5*, e282.
- Sterpenich, V., Albouy, G., Darsaud, A., Schmidt, C., Vandewalle, G., Dang Vu, T.T., Desseilles, M., Phillips, C., Degueldre, C., Balteau, E., et al. (2009). Sleep Promotes the Neural Reorganization of Remote Emotional Memory. *J. Neurosci.* *29*, 5143–5152.
- Stevens, C.F. (1993). Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation. *Cell* *72 Suppl*, 55–63.
- Stiedl, O., Birkenfeld, K., Palve, M., and Spiess, J. (2000). Impairment of conditioned contextual fear of C57BL/6J mice by intracerebral injections of the NMDA receptor antagonist APV. *Behav. Brain Res.* *116*, 157–168.
- van Strien, N.M., Cappaert, N.L.M., and Witter, M.P. (2009). The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. *Nat. Rev. Neurosci.* *10*, 272–282.
- Sukhatme, V.P., Cao, X.M., Chang, L.C., Tsai-Morris, C.H., Stamenkovich, D., Ferreira, P.C., Cohen, D.R., Edwards, S.A., Shows, T.B., and Curran, T. (1988). A zinc finger-encoding gene coregulated with c-fos during growth and differentiation, and after cellular depolarization. *Cell* *53*, 37–43.
- Tagney, J. (1973). Sleep patterns related to rearing rats in enriched and impoverished environments. *Brain Res.* *53*, 353–361.
- Takashima, A., Petersson, K.M., Rutters, F., Tendolkar, I., Jensen, O., Zwarts, M.J., McNaughton, B.L., and Fernández, G. (2006). Declarative memory consolidation in humans: a prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *103*, 756–761.
- Takashima, A., Nieuwenhuis, I.L.C., Jensen, O., Talamini, L.M., Rijpkema, M., and Fernández, G. (2009). Shift from hippocampal to neocortical centered retrieval network with consolidation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *29*, 10087–10093.
- Thierry, A.-M., Gioanni, Y., Dégnétais, E., and Glowinski, J. (2000). Hippocampo-prefrontal cortex pathway: Anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* *10*, 411–419.

- Thorpe, S., Rolls, E., and Maddison, S. (1983). The Orbitofrontal Cortex - Neuronal-Activity in the Behaving Monkey. *Exp. Brain Res.* *49*, 93–115.
- Todd, T.P., and Bucci, D.J. (2015). Retrosplenial Cortex and Long-Term Memory: Molecules to Behavior. *Neural Plast.* *2015*, e414173.
- Tononi, G., and Cirelli, C. (2003). Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Res. Bull.* *62*, 143–150.
- Tononi, G., and Cirelli, C. (2006). Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Med. Rev.* *10*, 49–62.
- Tremblay, L., and Schultz, W. (1999). Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* *398*, 704–708.
- Trifilieff, P., Calandrea, L., Herry, C., Mons, N., and Micheau, J. (2007). Biphasic ERK1/2 activation in both the hippocampus and amygdala may reveal a system consolidation of contextual fear memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* *88*, 424–434.
- Tsuno, N., Besset, A., and Ritchie, K. (2005). Sleep and Depression. *J. Clin. Psychiatry* *66*, 1254–1269.
- Tulving, E. (1987). Multiple memory systems and consciousness. *Hum. Neurobiol.* *6*, 67–80.
- Uwaya, A., Lee, H., Park, J., Lee, H., Muto, J., Nakajima, S., Ohta, S., and Mikami, T. (2016). Acute immobilization stress following contextual fear conditioning reduces fear memory: timing is essential. *Behav. Brain Funct.* *12*.
- Vaugeois, J.M., Passera, G., Zuccaro, F., and Costentin, J. (1997). Individual differences in response to imipramine in the mouse tail suspension test. *Psychopharmacology (Berl.)* *134*, 387–391.
- Vertes, R.P., and Hoover, W.B. (2008). Projections of the paraventricular and paratenial nuclei of the dorsal midline thalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* *508*, 212–237.
- Vescia, S., Mandile, P., Montagnese, P., Romano, F., Cataldo, G., Cotugno, M., and Giuditta, A. (1996). Baseline transition sleep and associated sleep episodes are related to the learning ability of rats. *Physiol. Behav.* *60*, 1513–1525.
- Vogel, G.W. (1975). A review of REM sleep deprivation. *Arch. Gen. Psychiatry* *32*, 749–761.
- 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.
- Walker, M.P., and van der Helm, E. (2009). Overnight therapy? The role of sleep in emotional brain processing. *Psychol. Bull.* *135*, 731–748.
- Wallis, J.D., and Miller, E.K. (2003). Neuronal activity in primate dorsolateral and orbital prefrontal cortex during performance of a reward preference task. *Eur. J. Neurosci.* *18*, 2069–2081.
- Wang, M.E., Fraize, N.P., Yin, L., Yuan, R.K., Petsagourakis, D., Wann, E.G., and Muzzio, I.A. (2013). Differential roles of the dorsal and ventral hippocampus in predator odor contextual fear conditioning. *Hippocampus* *23*, 451–466.

- Watts, D.J., and Strogatz, S.H. (1998). Collective dynamics of “small-world” networks. *Nature* 393, 440–442.
- Weiskrantz, L. (1956). Behavioral changes associated with ablation of the amygdaloid complex in monkeys. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 49, 381–391.
- Wellman, L.L., Fitzpatrick, M.E., Machida, M., and Sanford, L.D. (2014). The basolateral amygdala determines the effects of fear memory on sleep in an animal model of PTSD. *Exp. Brain Res.* 232, 1555–1565.
- Wetzel, W., Wagner, T., and Balschun, D. (2003). REM sleep enhancement induced by different procedures improves memory retention in rats. *Eur. J. Neurosci.* 18, 2611–2617.
- Wheeler, A.L., Teixeira, C.M., Wang, A.H., Xiong, X., Kovacevic, N., Lerch, J.P., McIntosh, A.R., Parkinson, J., and Frankland, P.W. (2013). Identification of a Functional Connectome for Long-Term Fear Memory in Mice. *PLoS Comput. Biol.* 9, e1002853.
- Wilson, M.A., and McNaughton, B.L. (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265, 676–679.
- Wilson-Mendenhall, C.D., Barrett, L.F., and Barsalou, L.W. (2013). Neural Evidence That Human Emotions Share Core Affective Properties. *Psychol. Sci.* 24, 947–956.
- Winocur, G., and Moscovitch, M. (2011). Memory Transformation and Systems Consolidation. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 17, 766–780.
- Winocur, G., Frankland, P.W., Sekeres, M., Fogel, S., and Moscovitch, M. (2009). Changes in context-specificity during memory reconsolidation: Selective effects of hippocampal lesions. *Learn. Mem.* 16, 722–729.
- Winocur, G., Moscovitch, M., and Bontempi, B. (2010). Memory formation and long-term retention in humans and animals: Convergence towards a transformation account of hippocampal–neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48, 2339–2356.
- Witter, M.P. (2003). Organization of cortico-hippocampal networks in rats related to learning and memory. *Int. Congr. Ser.* 1250, 131–145.
- Xu-Friedman, M.A., and Regehr, W.G. (1999). Presynaptic strontium dynamics and synaptic transmission. *Biophys. J.* 76, 2029–2042.
- Yarkoni, T., Poldrack, R.A., Nichols, T.E., Essen, D.C.V., and Wager, T.D. (2011). Large-scale automated synthesis of human functional neuroimaging data. *Nat. Methods* 8, 665–670.
- Yasenkov, R., and Deboer, T. (2012). Circadian modulation of sleep in rodents. In *Progress in Brain Research*, (Elsevier), pp. 203–218.
- Yoo, S.-S., Gujar, N., Hu, P., Jolesz, F.A., and Walker, M.P. (2007). The human emotional brain without sleep—a prefrontal amygdala disconnect. *Curr. Biol.* 17, R877–R878.
- Young, S., Bohenek, D., and Fanselow, M. (1994). Nmda Processes Mediate Anterograde Amnesia of Contextual Fear Conditioning Induced by Hippocampal Damage - Immunization Against Amnesia by Context Preexposure. *Behav. Neurosci.* 108, 19–29.

Zajonc, R.B. (1980). Feeling and thinking: Preferences need no inferences. *Am. Psychol.* 35, 151–175.

Zanos, P., Moaddel, R., Morris, P.J., Georgiou, P., Fischell, J., Elmer, G.I., Alkondon, M., Yuan, P., Pribut, H.J., Singh, N.S., et al. (2016). NMDAR inhibition-independent antidepressant actions of ketamine metabolites. *Nature* 533, 481–486.

Zhong, X., Hilton, H.J., Gates, G.J., Jelic, S., Stern, Y., Bartels, M.N., Demeersman, R.E., and Basner, R.C. (2005). Increased sympathetic and decreased parasympathetic cardiovascular modulation in normal humans with acute sleep deprivation. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 98, 2024–2032.

Zhu, P.J. (2005). Activation of Nicotinic Acetylcholine Receptors Increases the Frequency of Spontaneous GABAergic IPSCs in Rat Basolateral Amygdala Neurons. *J. Neurophysiol.* 94, 3081–3091.

Zielinski, M.R., Davis, J.M., Fadel, J.R., and Youngstedt, S.D. (2013). Influence of chronic moderate sleep restriction and exercise training on anxiety, spatial memory, and associated neurobiological measures in mice. *Behav. Brain Res.* 250, 74–80.

Zohar, D., Tzischinsky, O., Epstein, R., and Lavie, P. (2005). The effects of sleep loss on medical residents' emotional reactions to work events: a cognitive-energy model. *Sleep* 28, 47–54.