



HAL
open science

Implication de la connectivité anatomo-fonctionnelle des régions du cortex frontal dans la formation et la consolidation de la mémoire associative olfactive chez le rongeur

Céline Duffau

► To cite this version:

Céline Duffau. Implication de la connectivité anatomo-fonctionnelle des régions du cortex frontal dans la formation et la consolidation de la mémoire associative olfactive chez le rongeur. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Bordeaux, 2019. Français. NNT : 2019BORD0250 . tel-02869584

HAL Id: tel-02869584

<https://theses.hal.science/tel-02869584>

Submitted on 16 Jun 2020

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.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
École Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité Neurosciences

Par Céline DUFFAU

**Implication de la connectivité anatomo-
fonctionnelle des régions du cortex frontal dans la
formation et la consolidation de la mémoire
associative olfactive chez le rongeur**

Sous la direction d'Olivier NICOLE

Soutenue le 22 Novembre 2019

Membres du jury :

M. MICHEAU, Jacques	Professeur	Université de Bordeaux	Président
M. FRERET, Thomas	Professeur	Université de Caen	Rapporteur
M. MALLERET, Gaël	CR	CNRS	Rapporteur
Mme. POIRIER, Roseline	MCU	Université de Paris Sud	Examineur
Mme. Abrous, Nora	DR	INSERM	Examineur
M. BONTEMPI, Bruno	DR	CNRS	Invité
M. NICOLE, Olivier	CR	CNRS	Directeur de thèse

Un peu de gratitude

Je remercie les membres du jury, pour le temps qu'ils m'ont accordé et leur déplacement, afin d'assister à ma soutenance qui a été très enrichissante et qui nous a permis d'ouvrir de nouvelles perspectives sur mon travail et ses implications. Je remercie **Pr Jacques Micheau, Dr Nora Abrous et Dr Roseline Poirier**, pour le temps qu'ils ont consacré et pour l'attention qu'ils ont porté pour examiner mon travail de thèse. Je remercie vivement les rapporteurs **Dr Gaël Malleret et Pr Thomas Freret** pour leurs retours encourageants et pour les conseils reçus qui m'ont permis d'améliorer ma thèse.

Je remercie l'ensemble de l'IMN et son directeur **Erwan Bédard** pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire. Un grand merci à **Nathalie Dutheil, Marie-Evelyne Doudnikoff, Sandra Dovero et Nathalie Biendon** pour leur aide précieuse, leurs conseils, les virus et les formations reçues qui m'ont permis de réaliser ce travail de thèse dans les meilleures conditions.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à toute mon équipe pour des trois belles années passées, et plus particulièrement **Dr Bruno Bontempi** pour m'avoir permis d'intégrer son équipe, ainsi que pour les discussions scientifiques parfois pleines de passions riches et pertinentes, avec des conseils avisés, qui m'ont permis de développer mon sens critique et mes connaissances dans le domaine. Je sais que je n'arrive pas toujours à exprimer mes idées de la meilleure des façons, mais je m'entraîne! Je vous remercie d'avoir accepté l'invitation de participer à mon jury de thèse, et pour le temps que vous m'avez consacré tout au long de ces trois années. C'est rare de voir un chef d'équipe présent aussi souvent dans les expérimentations et autres aspects de la vie de laboratoire, et vous êtes pour moi un exemple inspirant d'humilité et d'implication dans un travail qui nous tient à cœur.

Je remercie **Anne**, pour m'avoir appris à monter des coupes comme personne: comme le dit le vieil adage, « l'élève a dépassé le maître » et j'ai gagné aujourd'hui mon titre de « monteuse en série », en plus de celui de « Miss petits points »! Merci d'avoir été mon binôme pour animer l'équipe toujours dans un esprit de compétition mordant! Nos méchancetés gratuites, échangées dès le matin, me manqueront ☺ .

Merci à **Jean-Luc**, pour toutes les fois où il m'a remonté le moral, par des mots ou des pains au chocolat (oui, la guerre est lancée, et j'ai choisis mon camp!). Je te remercie pour les discussions, scientifiques ou non, qui m'ont enrichi. Toujours discret, tu es une belle personne que j'ai aimé apprendre à connaître.

Merci également à **Murielle**, arrivée il y a quelques mois, mais dont l'aide a été précieuse pour terminer les manips dans le rush de la rédaction!

Merci à **Senza**, ma *Bestie* de bureau, pour nos compétitions à savoir qui de nous deux Olivier préférerait (tu avais gagné dès le début, mais c'était marrant de jouer aux enfants jaloux), pour m'avoir remonté le moral, pour tous ses rires, pour les conspirations face aux étudiants venus envahir notre bureau mois après mois... je te lègue avec grand plaisir mon tableau en liège, je sais que tu le convoites depuis des années et que tu as hâte que je disparaisse (qu'importe les circonstances) pour me le prendre!

Merci à **Voja**, pour tous les services rendus, les rats opérés, les trajets en voiture, la sympathie.... je suis maintenant votre secrétaire officielle Anglo-franco-serbe, traduisant plus vite que l'éclair! « *Free food!* »

Je remercie le personnel animalier, **Nathalie Argenta** et **Élodie Poinama** du B2, puis **Johannes, Caroline, Bastien, Enzo**, et tant d'autres (à croire que le poste d'animalier est un poste maudit où les gens disparaissent rapidement...), pour avoir pris soin de mes petites bêtes quand je n'étais pas là.

Je remercie bien sûr mes petites mains les stagiaires: **Frédéric Armand**, qui a fait un immense travail, qui a des talents graphiques certains, et dont la sympathie en fait une personne très agréable! **Anaël Erhardt**, pauvre Anaël! Torturé jusqu'au dernier jour par son effroyable thésarde! Toi aussi tu as fait du bon boulot (même s'il n'est pas dans cette thèse...), merci pour votre aide les gars, vous êtes les meilleurs! Merci à **Thomas Deluc** également, collègue de bureau de première année, notre collaboration fut courte, mais tu as été l'occasion de beaucoup de rires dont j'avais besoins au bon moment!

Merci à **Nicole Mons**, je sais que sans toi, je ne serai sans doute pas ici, tu as été, dans l'ombre, celle qui a scellé mon destin en route vers bordeaux, et quelle chance! Tu seras l'une des plus belles et impressionnantes rencontres de mon chapitre Bordelais, merci pour tout.

Je remercie aussi **Jacques Micheau** (encore), pour m'avoir permis de vivre tout ça. Vous avez, il y a quatre ans, cru en moi, à un moment où peut être moi-même je ne l'aurai pas fait. Finalement mon anglais et mon passé de psychologue n'était peut-être pas si handicapant ! Vous m'avez pris sous votre aile, m'avez permis de développer mon esprit critique et scientifique, et m'avez préparé pour faire une thèse. Vous m'avez permis de vivre ces belles expériences, un voyage fabuleux au Japon, et j'ai pour vous un respect et une gratitude que les mots ne peuvent exprimer.

Je remercie les éternels **Blanchons**, grands-parents de substitution à Bordeaux, un soutien essentiel au cours de ces années de dur labeur. Quelle bouffée d'oxygène que de vous voir deux fois par semaine! Merci pour les parties de belote, merci pour les mots gentils, merci pour tout votre amour.

Je remercie également mes trois parents, **Florence, Philippe et Gilles** qui malgré la distance ont su me montrer leur soutien, merci de m'avoir donné le désir de réussir, de relever des challenges, de pleurer un bon coup avant de retourner sur le ring. C'est grâce à vous que je suis moi, alors merci.

Merci à mes amis Bordelais, **Justine, Yohann, Leslie, Marc, Julie, Victoria, Selma, Emma, Maëva** et tant d'autres, pour leur soutien dans les moments difficiles, pour m'avoir changé les idées quand c'était nécessaire. Vous m'avez accueillie comme si on se connaissait depuis toujours, et j'ai l'impression que c'est le cas maintenant! Quatre ans, ça passe à une vitesse, c'est dingue! Je suis reconnaissante d'avoir des amis sur qui je peux toujours compter, et qui se défoncent (parfois beaucoup trop) pour moi. Vous êtes des crèmes!

Je garde le meilleur (ou le pire, ça dépend des jours) pour la fin!

Probablement la personne avec qui j'ai passé le plus de temps ces trois dernière années, mais aussi celle que j'ai eu envie de tuer le plus de fois! **Olivier**, Olivier. Que dire? Tellement de choses, et si peu. Merci. Merci, merci, merci.

J'ai choisi mon sujet de thèse en partie parce que c'était toi le directeur, et je n'ai aucun regret! Dès mon premier jour, tu m'as dit "tu ne travailles pas pour moi, tu travailles avec moi" et rien n'a été plus vrai. Tes conseils pertinents, ton œil avisé pour analyser et trouver des

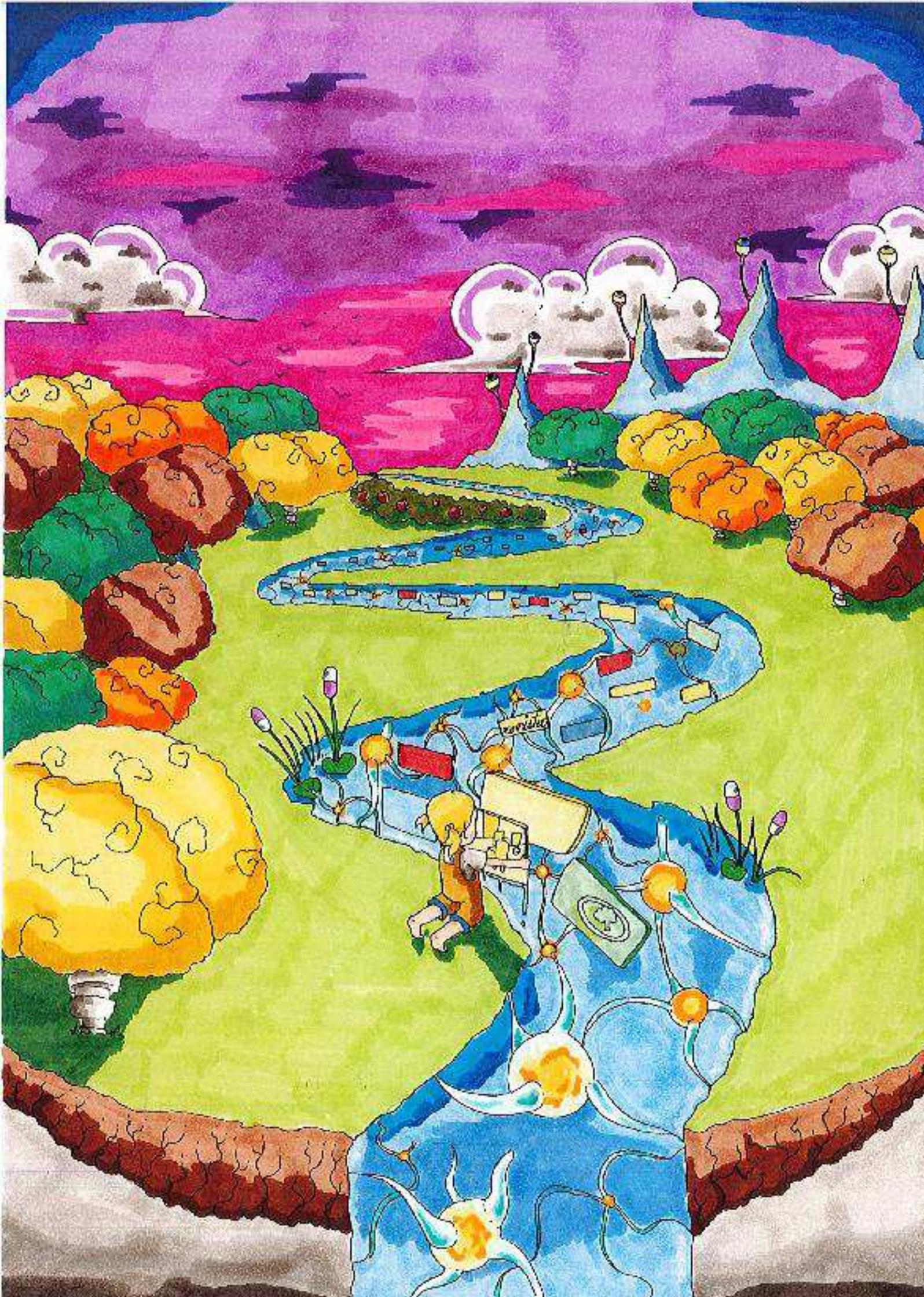
solutions à tous nos problèmes (même les moins rationnels) ta façon irritante d'être toujours à me contredire (alors même que des fois tu utilisais des arguments que j'avais moi-même utilisé une heure plus tôt, avant de finalement tomber d'accord avec toi, pour te voir par la suite défendre mon avis initial, juste pour le plaisir de me contredire..... Aucune crédibilité!), ta diplomatie légendaire (avec tout le monde sauf moi) et tes autres qualités (mais surtout tes défauts!) m'ont formé, et m'ont permis d'avoir le bagage scientifique et critique que j'ai aujourd'hui.

Au-delà de l'aspect scientifique, et malgré toutes les méchancetés que tu peux débiter à la minute (parce que si on t'écoute, tu es probablement le plus « méchant » qui existe), je sais que il n'existe pas de personne plus adorable que toi, si tu étais moins "dernier moment", tu serais parfait! Toujours présent, toujours à aider, paterner, rendre service (même si systématiquement quand tu fais le bien, il faut forcément que tu dises un truc méchant, sinon les gens risquerait de découvrir que dans le fond tu es gentil, catastrophe!), toujours à surveiller mes arrières : tu as été un support essentiel, sur tous les plans, au cours de ma thèse. Je pense sincèrement que tu es le meilleur encadrant de tous les temps.

Je pourrais continuer longtemps à t'inonder de compliments, parce que j'en ai à revendre (vu que j'en n'ai pas fait en 3 ans et qu'on a fait que de se taper dessus comme un vieux couple, j'ai donc un peu de réserve pour ces pages), mais je sais que c'est le genre de choses que tu détestes, après tout si toi tu devais en faire, tout ce que je récolterais c'est : « tu veux une médaille? ». Toi tu en mérites une, je sais que je ne suis pas un cadeau, et toi non plus des fois! Alors du coup c'était bien. Je pense qu'on a formé une super équipe, complice et efficace, et j'espère que c'est le sentiment que tu en tires aussi.

Il est assez tard au moment où j'écris ces lignes, il paraît que la nuit porte conseil et inspire les âmes, il faut croire que c'est vrai! Alors avant d'aller dormir, je te remercie toi, lecteur, pour l'attention porté à mon travail. J'espère que ma thèse te servira, dans la limite que l'humilité m'impose.

Qui que vous soyez, je vous souhaite une bonne lecture!



Implication de la connectivité anatomo-fonctionnelle des régions du cortex frontal dans la formation et la consolidation de la mémoire associative olfactive chez le rongeur

Initialement encodés dans l'hippocampe, les nouveaux souvenirs déclaratifs, aussi appelés engrammes, deviennent progressivement dépendants d'un réseau distribué de neurones corticaux au cours de leur maturation. Bien que le rôle du cortex dans le stockage de la mémoire ancienne (MA) ait été clairement démontré, plusieurs études montrent que certains réseaux corticaux pourraient être recrutés précocement, dès l'encodage, et participeraient après maturation, au stockage de la trace mnésique. Ceci a notamment été suggéré pour le cortex frontal, dans lequel des changements structuraux et fonctionnels précoces ont été observés, indiquant que la maturation de la trace corticale nécessiterait des renforcements dans la connectivité fonctionnelle entre les différentes structures dépositaires de la trace mnésique. Grâce au marqueur d'activité neuronale c-fos, nous avons étudié l'évolution temporelle, au cours de la consolidation mnésique, de la connectivité fonctionnelle des régions frontales : le Cortex PréFrontal médian (CPFm), les parties antérieure (CCa) et postérieure (CCp) du Cortex Cingulaire et le Cortex OrbitoFrontal (COF), lesquelles pourraient participer à la maturation de l'engramme. Nous avons comparé l'activité dans ces régions lors du rappel d'une mémoire olfactive associative récente (MR) ou ancienne à l'aide d'une tâche de transmission sociale de préférence alimentaire.

Nous avons identifié trois régions corticales clés co-activées lors du rappel de la MA, suggérant qu'elles forment un nœud critique au sein d'un réseau cortical plus vaste, nécessaire à la formation de l'engramme. L'analyse des corrélations interrégionales des activités neuronales révèle que l'activité du CPFm et du COF est corrélée dès le rappel de la MR, bien que leur recrutement soit dépendant de l'âge de la mémoire. Cette connectivité fonctionnelle s'appuie sur une connectivité anatomique unidirectionnelle entre le CPFm et le COF. Par contraste, le CCp est activé uniquement lors du rappel d'une mémoire récente. Par une approche pharmacogénétique, nous avons sélectivement inhibé le CPFm et révélé son implication lors de la phase d'encodage, mais également dans le rappel de la MR et de la MA. L'ensemble de ces résultats suggèrent que bien que le processus de maturation de la trace mnésique au niveau cortical soit spécifique à chaque région, il requiert une connectivité fonctionnelle entre plusieurs régions corticales dont les cinétiques d'activation distinctes mais coordonnées permettent le stockage et l'expression à long terme du souvenir.

Des altérations focalisées de cette connectivité, notamment lors du vieillissement, pourraient ralentir le processus d'apprentissage et/ou changer les stratégies d'apprentissage mis en place par l'animal pour résoudre une tâche complexe. À l'aide un test de discrimination spatiale, au cours de huit sessions d'apprentissage dans un labyrinthe radiaire à huit bras sur une large cohorte de souris âgées (22 mois), nous avons pu isoler deux populations : l'une avec une vitesse d'apprentissage similaire à celle d'un groupe de souris jeunes, et l'autre avec une vitesse d'apprentissage réduite. Des expériences futures permettraient de déterminer dans quelle mesure la connectivité fonctionnelle cérébrale est altérée de manière différentielle dans ces deux populations de souris âgées.

Mots clés : Mémoire olfactive associative, Mémoire spatiale, Consolidation mnésique, Cortex frontal, Vieillissement

Implication of the anatomo-functional connectivity of frontal cortex regions in the formation and consolidation of associative olfactory memory in the rodent

Initially encoded in the hippocampus, new associative memories, also referred to as memory engrams, are thought to become progressively dependent on a broadly distributed cortical network as they mature and consolidate over time. While acting as permanent repository sites for remote memories, converging findings point however to an earlier recruitment, upon encoding, of some cortical sites that participate actively to the generation of engram cells, albeit in an immature form. One such region is the frontal cortex in which rapid functional and structural changes occur, raising the possibility that subsequent maturation of cortical engrams requires a complex and time-dependent interplay between dedicated brain regions. Here, by tracking the expression of the activity-dependent gene *c-fos*, we sought to dissect the involvement of interconnected cortical regions: medial Prefrontal Cortex (mPFC), anterior (aCC) and posterior (pCC) parts of Cingulate Cortex, Orbitofrontal Cortex (OFC), which may participate to the generation of functionally mature engrams. Recent or remote associative olfactory memory was probed in rats submitted to the social transmission of food preference paradigm.

We identified three key brain regions that were co-activated upon remote memory retrieval (mPFC, aCC and OFC) suggesting that they act as critical “hub-like” nodes within the extended network of cortical regions supporting remote memory formation. By computing interregional correlations, we found that neuronal activity within mPFC and OFC were highly correlated although their recruitment was dependent on the age of memory. This correlated neuronal activity may be the consequence of a direct anatomical connection between these two cortices. While OFC activation was delayed, that of mPFC occurred at both recent and remote delays. Chemogenetic experiments aimed at examining causal relationships revealed a crucial role of mPFC in both encoding and retrieval phases of the memory process. Altogether, these findings suggest that cortical engram maturation holds region-specificity but also involves complex cortical network connections and distinct kinetics of interactions that likely guide engram cells to their final maturation state to enable optimal remote memory storage and expression.

A specific fragility inside this functional connectivity, especially during aging could slow down the learning process. Building upon the analysis of a comprehensive set of observations derived from a large population of aged (22 month-old) mice submitted to spatial discrimination testing in an 8-arm radial maze, we isolated two populations of aged mice, one with a memory performance similar to that a group of young mice (normal learners) and another exhibiting a reduced speed of learning (categorized as slow learners). Future studies could help to examine to what extent brain functional connectivity is differentially altered in these two aged mouse populations and might be responsible for their specific memory profile and underlying cognitive strategies.

Keywords: Associative olfactory memory, Spatial memory, Memory consolidation, Frontal cortex, Aging

Institut des Maladies Neurodégénératives

CNRS UMR 5293, Université de Bordeaux – Case 28

Centre Broca Nouvelle-Aquitaine – 3ème étage

146 rue Léo Saignat – CS 61292

33076 Bordeaux cedex

Publications et communications

Publications

Rolland B, Naassila M, Duffau C, Houchi H, Gierski F and André J (2017) Binge Eating, But Not Other Disordered Eating Symptoms, Is a Significant Contributor of Binge Drinking Severity: Findings from a Cross-Sectional Study among French Students. *Front. Psychol.* 8:1878. doi: 10.3389/fpsyg.2017.01878

Duffau C*, Hadzibegovic S*, Anelkovic V, Lagroye I, Bontempi B and Nicole O, A new method for discriminating normal versus slow learners in a large population of aged mice, *in preparation*

Posters

Duffau C, Bontempi B, and Nicole O, (2019), Mapping cortical brain activity associated with processing of recent and remote associative olfactory memories. Présenté à, *la Week of Science*, Tsukuba (Japon).

Duffau C*, Hadzibegovic S*, Anelkovic V, Lagroye I, Bontempi B, and Nicole O (2019), A new method for discriminating normal versus slow learners in a large population of aged mice. Présenté au 50^{ième} congrès annuel de la Society for Neuroscience, Chicago (USA).

Duffau C*, Hadzibegovic S*, Anelkovic V, Lagroye I, Bontempi B, and Nicole O (2018), A new method for discriminating normal versus slow learners in a large population of aged mice. Présenté à la 18^{ième} journée annuelle de l'école doctorale, Bordeaux (France).

Communication orale

Octobre 2019: Mapping cortical brain activity associated with processing of recent and remote associative olfactory memories, présentée au cours de la *Week of Science*, Tsukuba (Japon).

Liste des abréviations

- AAV** – Virus adéno-associé
- ADN** – Acide désoxyribonucléique
- AMPA** – Acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
- AP-1** – *Activating Protein-1*
- Arc** – *Activity-regulated cytoskeleton-associated protein*
- ARN** – Acide ribonucléique
- ARNm** – Acide ribonucléique messenger
- AP** – Antéropostérieur
- C21** – *Compound 21*
- CA** – Champs ammoniacaux
- Ca²⁺** – Calcium
- CaMK** – *Calcium/calmodulin-dependent kinase*
- CC** – Cortex cingulaire
- CCa** – Cortex cingulaire antérieur
- CCp** – Cortex cingulaire postérieur
- CellS** – Cell Signaling
- COF** – Cortex orbito-frontal
- CPF** – Cortex préfrontal
- CPFm** – Cortex préfrontal médian
- CPiri** – Cortex piriforme
- CREB** – *cAMP response element-binding protein*
- CTB** – *Cholera toxin B subunit*
- DLT** – Dépolarisation à long terme
- DREADD** – *Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs*
- ERK** – *Extracellular signal-regulated kinase*
- ESM** – Ecart standard à la moyenne
- EXP** – groupes Expérimentaux
- fEPSP** – potentiels de champs excitateurs
- GAP** – Gène d'activation précoce
- GD** – Gyrus denté
- GFP** – *Green fluorescent protein*
- HPC** – Hippocampe
- i.p.** – intra péritonéal
- K⁺** – Potassium
- KO** – *Knockout*
- LCSa** – Liquide cérébrospinal artificiel
- MAPK** – *Mitogen-activated protein kinase*
- MCT** – Mémoire à court terme

MEK – *Mitogen/Extracellular signal-regulated Kinase*
MLT – Mémoire à long terme
M-W – Mann Whitney
Na⁺ – Sodium
NAc – Noyau Accumbens
NeuN – *Neuronal Nucleus*
NMDA – N-méthyl-D-aspartate
PAI – Préférence alimentaire innée
pCREB – *phosphoryled cAMP response element-binding protein*
PFA – Paraformaldéhyde
PKA – Protéine Kinase C
PKC – Protéine Kinase A
PKM ζ – Protein kinase Mzeta
PLT – Potentialisation à long terme
RétroS – Cortex rétrosplénial
SantaC – Santa Cruz
SySy – Synaptic System
TSPA – Transmission sociale de la préférence alimentaire
TTM – Théorie des traces multiples
Zif268 – *Zinc finger protein 268*

Liste des figures

Introduction

Figure 1 | Taxonomie des systèmes de mémoire à long terme.

Figure 2 | Schéma du lobe temporal médian.

Figure 3 | Schéma du circuit tri-synaptique hippocampique et de ses connexions avec le cortex entorhinal.

Figure 4 | Modèle standard de la consolidation systémique.

Figure 5 | Prédictions des performances mnésiques selon les modèles standards

Figure 6 | Molécule clés impliquées dans la plasticité synaptique.

Figure 7 | La stimulation du neurone entraîne la production de c-Fos, qui joue un double rôle dans l'initiation et le maintien à long terme des changements synaptiques.

Figure 8 | Configuration fondamentale des trois sortes de systèmes neuroanatomiques du cerveau.

Figure 9 | Illustration montrant la position des différentes structures du cortex préfrontal.

Figure 10 | Illustration montrant les différentes sous-structures du cortex orbito-frontal.

Figure 11 | Modèle de l'implication du cortex préfrontal dans la prise de décision.

Figure 12 | Illustration montrant les différentes sous-structures du cortex préfrontal médian

Figure 13 | Illustrations des modèles de la distinction anatomo-fonctionnelle des zones du cortex cingulaire.

Figure 14 | Modèle hypothétique des entrées et sorties fonctionnelles des régions du cortex préfrontal médian.

Figure 15 | Principe du test de transmission sociale de la préférence alimentaire.

Partie A

Figure A.1 | Plan expérimental de l'expérience 1.

Figure A.2 | Principe de détection d'une protéine par Immunofluorescence indirecte.

Figure A.3 | Sections coronales schématiques du cerveau de rat.

Figure A.4 | Validation de la procédure d'analyse de l'activité c-Fos dans les structures cérébrales sous imageJ Fiji.

Figure A.5 | Sélection d'une dose-réponse appropriée pour chaque anticorps anti c-Fos.

Figure A.6 | Procédé de validation de l'utilisation d'anticorps anti c-Fos en condition activé/non activé.

Figure A.7 | Plan expérimental de l'expérience 2.

Figure A.8 | Sections coronales schématiques du cerveau de rat.

Figure A.9 | La mise en évidence de la corticalisation dépend de l'anticorps utilisé.

Figure A.10 | Validation de l'anticorps par une autre méthode d'acquisition.

Partie B

Figure B.1 | Plan expérimental de l'expérience 1.

Figure B.2 | Sections coronales schématisques du cerveau de rat.

Figure B.3 | Résultats comportementaux des tests de préférence alimentaire pour groupes expérimentaux et contrôle.

Figure B.4 | Mise en évidence du désengagement hippocampique lors de la corticalisation de l'information.

Figure B.5 | Implication rapide du cortex préfrontal médian dans le rappel de l'information.

Figure B.6 | Implication différentielle du cortex cingulaire dans le rappel de l'information.

Figure B.7 | Implication du Cortex rétrosplénial dans le rappel à long terme.

Figure B.8 | Corrélations de l'activité dans les différentes structures corticales activées.

Figure B.9 | Schéma de la zone d'injection par pipette de verre du traceur rétrograde.

Figure B.10 | Plan expérimental de l'expérience 2.

Figure B.11 | Illustration de la zone d'injection du traceur rétrograde par pipette de verre dans le COF.

Figure B.12 | Illustration du marquage du traceur rétrograde révélant les afférences du COF.

Figure B.13 | Illustration de la zone d'injection du traceur rétrograde par pipette de verre dans le CPFm.

Figure B.14 | Illustration du marquage du traceur rétrograde révélant les afférences du COF.

Figure B.15 | Schéma de la construction du vecteur viral.

Figure B.16 | Schéma de la zone d'injection du vecteur viral par pipette de verre dans le CPFm.

Figure B.17 | Plan expérimental de l'expérience 3.

Figure B.18 | Plan expérimental de l'expérience d'injection de sulpiride.

Figure B.19 | L'activation des DREADD inhibiteurs (DREADDi) entraîne une diminution de l'activité dans le CPFm.

Figure B.20 | Validation de la zone d'infection par les DREADDi.

Figure B.21 | Le C21 per se n'a pas d'effet sur le rappel d'une mémoire récente de la TSPA.

Figure B.22 | L'inactivation du CPFm par les DREADDi perturbe le rappel d'une mémoire récente de la TSPA.

Figure B.23 | L'inactivation du CPFm par les DREADDi perturbe le rappel d'une mémoire ancienne de la TSPA.

Figure B.24 | Plan expérimental de l'expérience 4.

Figure B.25 | L'inactivation du CPFm par les DREADDi au moment de l'encodage perturbe le rappel d'une mémoire récente de la TSPA.

Partie C

Figure C.1 | Schéma du labyrinthe radiaire à 8 bras.

Figure C.2 | Courbes d'apprentissage pour les groupes de souris âgées et jeunes.

Figure C.3 | Courbes d'apprentissage normalisée pour les groupes de souris âgées et jeunes.

Figure C.4 | Sélection des animaux basée sur la représentativité de la courbe modélisée.

Figure C.5 | Vitesse d'apprentissage en fonction de l'âge des souris.

Figure C.6 | Vitesse d'apprentissage en fonction des performances des souris.

Figure C.7 | La vitesse d'apprentissage permet de discriminer les animaux faisant plus d'erreurs au cours du processus d'apprentissage.

Discussion

Figure D.1 | Schéma de synthèse mettant le CPFm au cœur du processus de consolidation d'une information associative olfactive.

Figure D.2 | Stratégie d'injection virale permettant l'inhibition spécifique de projections entre les zones corticales.

Figure D.3 | La perturbation de la plasticité dans le COF au moment de l'encodage perturbe le stockage à long terme d'un souvenir de TSPA.

Table des matières

Introduction

A.	Histoire des Neurosciences : du cerveau fixe vers le cerveau plastique.....	3
I.	Le cerveau : entité homogène et figé dans le temps.....	3
	I.a – Intérêt pour le cerveau à travers l’Histoire.....	3
	I.b – Vers la théorie localisationniste.....	4
II.	Evolution des techniques et méthodes.....	5
	II.a – Naissance du concept de cellule.....	5
	II.b – De la théorie réticulariste.....	5
	II.c – à la théorie neuronale.....	6
III.	Introduction de la notion de plasticité.....	7
IV.	Conclusions.....	8
B.	La mémoire déclarative.....	8
I.	La mémoire : une entité multimodale.....	9
II.	Le cas du patient H.M.....	9
III.	Les systèmes de mémoires à long terme.....	10
IV.	Rôle du lobe temporal médian dans les processus mnésiques.....	12
	IV.a – Description anatomique du lobe temporal médian.....	12
	IV.b – Implications du Lobe Temporal Médian dans la mémoire déclarative : études par les cas d’amnésie.....	15
V.	Conclusions.....	18
C.	De l’engramme à la mémoire.....	19
I.	La théorie de l’engramme.....	19
	I.a – L’engramme selon Semon.....	19
	I.b – Les avancées post Semon.....	20
II.	À la recherche de l’engramme.....	20
	II.a – Un réseau de neurones activés contenant l’information.....	20

II.b – Un réseau distribué et unifié.....	21
II.c – Un réseau dynamique.....	22
III. L’engramme dans le temps.....	22
D. La consolidation mnésique.....	23
I. Naissance du concept.....	23
II. Les théories classiques de la consolidation mnésique.....	24
II.a – Le modèle standard de la consolidation.....	24
II.b – La théorie des traces multiples.....	28
II.c – Conclusions.....	30
III. La consolidation synaptique.....	31
III.a – Rôle clé des récepteurs NMDA dans la plasticité synaptique.....	32
III.b – Les formes de plasticité dépendantes des récepteurs NMDA.....	32
III.c – Mécanismes précoces d’expression de la PLT et de la DLT.....	34
III.d – Mécanismes tardifs de maintenance de la PLT et de la DLT.....	35
III.e – Implication de la plasticité synaptique hebbienne dans les processus mnésiques.....	40
III.f – Plasticité corticale au cours de la consolidation à long terme	44
III.g – Implication de la réactivation durant la consolidation et le stockage mnésique.....	45
IV. Consolidation systémique.....	46
IV.a – Quelques notions de connectivité.....	47
IV.b – Les différents rôles de l’hippocampe dans la consolidation mnésiques....	50
IV.c – le néocortex : un rôle central dans le stockage de la mémoire.....	54
IV.d - Perspectives.....	61
IV.e – Le cas de la Transmission Sociale de Préférence Alimentaire.....	63
E. Objectifs généraux.....	67

Partie A : Optimisation des protocoles de révélation de l’activité cérébrale

A. Introduction.....	73
-----------------------------	-----------

B.	Contributions expérimentales.....	74
I.	Mise au point du protocole d'analyse.....	74
	I.a - Matériels et méthodes.....	75
	I.b – Résultats.....	79
	I.c – Conclusions.....	82
II.	Validation de l'anticorps sur une problématique scientifique : révélation de la corticalisation d'une information.....	82
	II.a – Matériels et méthodes.....	83
	II.b – Résultats.....	86
	II.c – Conclusions.....	87
III.	Validation par d'autres méthodes d'acquisition et d'analyse.....	88
	III.a – Matériels et méthodes.....	88
	III.b – Résultats.....	88
	III.c – Conclusions.....	89
C.	Discussion.....	90

Partie B : Cartographie de l'activité corticale associée au rappel d'un souvenir olfactif associatif récent et ancien

A.	Introduction.....	95
B.	Contributions expérimentales.....	96
I.	Activité des structures impliquées dans le rappel à court et long terme de la TSPA	96
	I.a - Matériels et méthodes.....	97
	I.b - Résultats.....	100
II.	Étude de la connectivité anatomique entre le cortex orbitofrontal et le cortex préfrontal médian.....	107
	II.a - Matériels et méthodes.....	108
	II.b – Résultats.....	110
	II.c - Conclusions.....	112
III.	Implication fonctionnelle du cortex préfrontal médian dans le rappel d'une mémoire récente et ancienne.....	112

III.a – Matériels et méthodes.....	112
III.b – Résultats.....	118
III.c – Conclusions.....	123
IV. Implication du cortex préfrontal médian dans l’encodage d’une mémoire olfactive associative.....	123
IV.a – Matériels et méthodes.....	123
IV.b – Résultats.....	124
IV.c – Conclusions.....	125
C. Discussion.....	126

Partie C : Nouvelle méthode de discrimination basée sur la vitesse d’apprentissage chez la souris

A. Introduction.....	133
B. Contributions expérimentales.....	134
I. Matériels et méthodes.....	134
I.a - Sujets et conditions d’élevage.....	134
I.b - Labyrinthe radiaire à huit bras.....	134
I.c - Groupes et plan expérimental.....	134
I.d - Analyses.....	135
II. Résultats.....	136
II.a – Courbes d’apprentissage.....	136
II.b – Nouvelle stratégie de discrimination des animaux.....	137
II.c – Analyse des populations.....	139
C. Discussion.....	140

Discussion générale

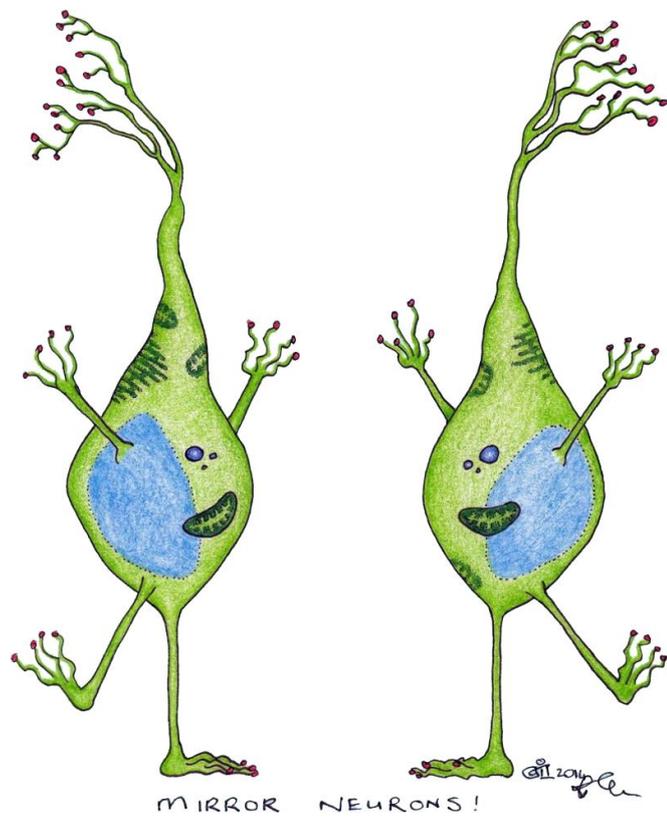
A. Évolution de la connectivité fonctionnelle lors du rappel d’une mémoire associative olfactive récente et ancienne : implication du CPFm dans la consolidation systémique	148
I. Les anticorps c-Fos : vers une validation systématique.....	148

II.	Rôle de la voie mPFC vers le COF dans la consolidation.....	148
B.	Vieillessement et mémoire	154
I.	Résumé de nos principaux résultats.....	154
II.	Perspectives.....	155

Bibliographie

.....	157
-------	-----

Introduction



A. Histoire des Neurosciences : du cerveau fixe vers le cerveau plastique

Des premières trépanations aux technologies contemporaines d'étude du cerveau, les preuves de l'intérêt de l'Homme pour essayer de se découvrir et de se comprendre, sont multiples. La compréhension que nous avons du cerveau ne s'est pas construite de façon linéaire : c'est dans des contextes sociaux, technologiques, religieux et historiques divers que nos connaissances ont été obtenues, niées, ignorées pour être de nouveau acceptées lors d'une période plus propice aux avancées scientifiques (Parent, 2009). Nous allons dans un premier temps dresser un historique des connaissances acquises de l'Antiquité au siècle des Lumières, puis nous verrons comment les avancées technologiques ont permis une étude plus fine du cerveau, et la découverte de ce qui le compose ainsi que de son dynamisme, et plus généralement comment ces avancées ont permis la prise de conscience de la complexité de cet organe.

I. Le cerveau : entité homogène et figé dans le temps

I.a – Intérêt pour le cerveau à travers l'Histoire

Malgré l'opposition aux investigations scientifiques mise en place par les religions, l'Histoire est marquée par de grandes découvertes. Hippocrate, au IV^e siècle avant notre ère, établit les normes de la médecine, dont certaines sont encore d'actualité. Il sera d'ailleurs le premier à s'intéresser réellement au cerveau, alors qu'à cette époque, le cœur était le principal organe d'intérêt dans la compréhension de l'esprit humain (Parent, 2009). C'est cependant six siècles plus tard que Galien de Pergame sera le premier à attribuer au cerveau les fonctions de sensibilité et d'intelligence qu'on lui connaît aujourd'hui (Dumesnil and Bonnet-Roy, 1947). Selon lui, ce seraient les ventricules qui seraient le siège des hautes fonctions cérébrales que sont les sensations, la cognition et la mémoire. Il est ainsi le premier à voir la mémoire comme un processus biologique ayant lieu au niveau cérébral. Le tissu cérébral *per se* est cependant encore loin de l'intérêt des scientifiques de l'époque.

Au XVII^e siècle, les investigations pour la compréhension du corps humain, et notamment du cerveau, se font majoritairement sous l'influence de la vision mécanistique, dont la figure emblématique est le scientifique français René Descartes (Dumesnil and Bonnet-Roy, 1947). Le cerveau est alors vu comme un « organisme machine », et l'un de ses composants, la glande pinéale, serait l'interface entre l'âme et le corps. Des Esprit animaux sortant de cette interface serait distribués dans le corps par le sang afin de permettre au corps de se mouvoir (Descartes, 1662). Cette idée influencera les modèles de pensée pendant des décennies, et conduira à

l'émergence de l'idée du cerveau sans âme, rendant l'humain, et plus généralement l'animal, limité à ses seuls processus biologiques.

C'est au XVIII^e siècle que paraissent les prémices de la neurologie, notamment dans le cadre d'études cliniques des pathologies. Là où la théorie mécanistique est fermée au progrès, cette nouvelle approche plus humble se place dans la perspective d'une investigation de la médecine en vue d'améliorer ses connaissances sur le fonctionnement du cerveau. C'est dans ce contexte que Thomas Willis base ces travaux sur la compréhension de l'anatomie. Il sera le pionnier dans l'idée que les tissus cérébraux sont plus importants que les ventricules, qu'il voit alors comme de simples cavités permettant la circulation des fluides (Parent, 2009). Il est également l'un des précurseurs dans la distinction entre matière grise et matière blanche. Selon ses théories, la matière grise génèrerait les Esprits animaux de Descartes, qui seraient ensuite distribués, via les voies que constituent la matière blanche, vers les nerfs et le corps, animant ce dernier. A cette même époque, Luigi Galvani est le premier à montrer que l'électricité est un élément majeur dans la communication entre les nerfs et les muscles (Dumesnil and Bonnet-Roy, 1947). Cette découverte marque un tournant et un clivage entre d'une part les théories de l'Antiquité et les Esprits animaux de la théorie mécanistique, et d'autre part cette approche d'un mécanisme observable et mesurable ; un processus physique de communication entre le cerveau et le corps.

I.b – Vers la théorie localisationniste

Vers la fin du XVIII^e siècle, l'idée d'un cerveau divisé commence à émerger. L'un des pionniers dans cette approche est Franz Joseph Gall, père de la phrénologie (Lantéri-Laura, 1970). Elle stipulait que **le cerveau est composé de régions fonctionnelles distinctes dont la morphologie pouvait permettre de prédire le comportement et les capacités des individus**. Il serait alors possible, en étudiant la forme du crâne, de déterminer si quelqu'un est un imbécile, un criminel ou un politicien né. Si cette théorie a été rapidement contestée par les scientifiques, elle a été un prétexte au racisme et à l'enfermement de personnes jugées comme potentiellement dangereuse. Malgré ces dérives, cette idée, bien qu'erronée, aura eu le mérite d'introduire une notion nouvelle et fondamentale ; celle d'un cerveau hétérogène, divisé en régions remplissant différentes fonctions.

C'est à cette période qu'apparaît également l'approche anatomo-clinique qui vise à comprendre les problèmes nerveux à l'origine de troubles cliniques. Les scientifiques portent ainsi leur attention sur le lien entre le cerveau et nos capacités cognitives, et plus généralement sur les « phénomènes de l'esprit » (Parent, 2009). Par cette approche, **Jean-Baptiste Bouillaud et Paul Broca, puis plus tard Carl Wernicke, seront les figures majeures de la découverte des centres du langage, mettant au point la Théorie des localisations cérébrales**. Le XVIII^e et le XIX^e siècle sont aussi marqués par un intérêt croissant pour l'expérimentation animale, et par un tournant remarquable dans l'accumulation des connaissances anatomiques et fonctionnelles du système nerveux. Par cette approche, Gustav Fritsch et Eduard Hitzig, suivis de David Ferrier, mettent en évidence à la fin du XIX^e siècle l'existence du cortex moteur. Cette découverte permet d'imposer définitivement dans les communautés aussi bien scientifiques que populaires, la théorie

localisationniste et les cartographies cérébrales, sur l'ensemble des fonctions du cerveau et non plus seulement sur celle du langage.

II. Evolution des techniques et méthodes

II.a – Naissance du concept de cellule

Parallèlement aux recherches sur le cerveau, l'Histoire est marquée par l'avancée des technologies permettant une étude plus poussée et précise de la biologie. Dès le XVII^e siècle, l'invention du microscope par Robert Hooke et Anton van Leeuwenhoek marque un tournant dans l'étude du microscopique. C'est Hooke qui parlera le premier du concept de cellule (Hooke, 1667), tandis que Leeuwenhoek sera l'un des précurseurs dans l'utilisation de colorants pour l'observation microscopique des tissus biologiques (Van Leeuwenhoek, 1675).

C'est cependant seulement au XIX^e siècle que les scientifiques commencent à s'intéresser à cet outil. Jan Evangelista Purkyne (ou Purkinje) sera le pionnier dans le domaine cérébral, en décrivant pour la première fois une cellule nerveuse du cervelet, avec un corps cellulaire et des fibrilles allongées (Purkyne, 1838). Cette découverte marque la naissance de la théorie cellulaire, où la cellule est un élément de base à la constitution des tissus biologiques.

II.b – De la théorie réticulariste...

Cette théorie cellulaire ne fait cependant pas l'unanimité pour expliquer la composition du tissu cérébral : l'existence de fibres entourant les cellules laisse les scientifiques de l'époque perplexes. Les techniques de microscopie et de coloration d'Otto Friedrich Karl Deiters et de Joseph von Gerlach ont permis de montrer que le soma des cellules nerveuses se prolonge par de multiples « extensions protoplasmiques » (aujourd'hui appelées dendrites) et d'un « cylindre-axe » (aujourd'hui appelé axone, (Deiters, 1865). Deiters émettra l'idée d'une fusion entre l'axone d'une cellule et les dendrites d'une autre, pour former un vaste réseau de cellules nerveuses. Selon Gerlach, ce réseau permettrait le transfert de l'impulsion électrique découverte par Galvani d'une cellule à une autre. Le cerveau serait alors un amas de cellules fusionnées sans unité propre. Cette théorie réticulariste est progressivement acceptée par la communauté scientifique jusqu'à la fin du XIX^e siècle (Parent, 2009).

En 1873, une nouvelle méthode de coloration à base de nitrate d'argent est mise au point par Camillo Golgi (Golgi, 1873). Cette technique permet pour la première fois l'observation et la description précise des cellules neuronales, et met en évidence l'existence de plusieurs types de neurones, classés selon la taille et l'arborisation de l'axone (Parent, 2009). Ces observations d'un « cerveau fusionné » seraient, selon Golgi, incompatibles avec la théorie des aires corticales fonctionnellement distinctes. Les observations de patients capables de récupérer des fonctions perdues suite à des lésions le conduisent à rejeter totalement cette théorie. Le succès de Golgi et sa forte influence dans le monde scientifique entraîne alors un retour en arrière et un rejet de la théorie localisationniste.

II.c – à la théorie neuronale

Certains scientifiques s'opposent néanmoins à cette théorie d'un cerveau fusionné, postulant que les cellules établissent seulement un contact entre elles. On parle alors de contiguïté plutôt que de continuité. Il faudra cependant attendre les travaux de l'espagnol Ramón y Cajal à la toute fin du XIX^e siècle pour sérieusement remettre en cause la théorie réticulariste. En améliorant la technique de coloration de Golgi, Cajal, associé à l'allemand Albrecht von Kölliker, démontre l'absence de fusion des cellules nerveuses (y Cajal, 1889). C'est Wilhelm von Waldeyer qui invente le mot neurone et le pose comme unité de base du système nerveux (von Waldeyer, 1891). Les fondements anatomiques du cerveau sont enfin posés pour permettre l'étude de cet organe tel qu'on le conçoit encore aujourd'hui.

Le rejet de la théorie réticulariste pose la question de la communication entre les neurones. En effet, si les découvertes passées ont permis de mettre en évidence que la communication électrique avait bien lieu dans le cerveau, cette absence de fusion entre les neurones pose la question du comment. Cette question sera alors le centre d'intérêt pour les biologistes à l'entrée du XX^e siècle. L'idée d'une communication chimique entre les cellules nerveuses avait été énoncée dès 1877, par Emil du Bois-Reymond (Finger, 2000). L'absence de résultats n'a cependant pas permis à ce scientifique d'appuyer sa théorie qui sera rapidement oubliée. C'est notamment par les expériences d'Otto Loewi, sur la manipulation du rythme cardiaque, qu'il a été possible de valider la théorie de la transmission chimique (Parent, 2009). Parallèlement, de nombreux chercheurs à travers l'Europe ont mis en évidence l'existence des neurotransmetteurs que l'on connaît aujourd'hui ; l'adrénaline par le prix Nobel Henry Dale, l'acétylcholine et la noradrénaline.

La vision du cerveau tel qu'on le conçoit aujourd'hui ; la source de l'ensemble des processus de perceptions sensorielles, de comportements moteurs, mais également des mécanismes cognitifs et de conscience, commence alors à s'installer dans l'esprit des chercheurs. C'est au milieu du XX^e siècle que les neurosciences voient finalement le jour, notamment avec la découverte par plusieurs scientifiques, dont Alan Lloyd Hodgkin, Andrew Fielding Huxley et John Carew Eccles, des mécanismes du potentiel d'action, qui se déplace de place en place par des systèmes de canaux ioniques (Parent, 2009). Cette nouvelle découverte, parallèlement à l'évolution des technologies d'électrophysiologie et de microscopie, va permettre aux scientifiques du XX^e siècle d'étudier le fonctionnement du cerveau et l'évolution des connexions neuronales, sur le plan moléculaire, cellulaire et systémique.

III. Introduction de la notion de plasticité

La récupération de certaines capacités par des patients cérébrolésés a été à l'origine de nombreux débats au cours des siècles. Au XIX^e siècle, ces cas permettent à Golgi d'étayer sa théorie réticulariste, et le font conclure que le cerveau est avant tout fusionné. Cependant, face à l'accumulation massive de preuves en faveur de la théorie localisationniste et de l'existence des neurones comme unité de base du cerveau, il a fallu chercher une autre explication à ces observations cliniques.

S'il est difficile d'établir clairement qui a utilisé le terme de « plasticité » pour la première fois, on sait que la notion de « *variations morphologiques* », a été introduite au début du XX^e siècle. Ces premiers travaux ont permis de mettre en évidence les notions de récupération et de modifications morphologiques suite à des ablations (Demoor, 1896; Marinesco, 1906; Minea, 1909; Berlucchi, 2002; Jones, 2000, 2004). Ce processus permettrait alors d'expliquer les phénomènes de récupération chez les patients ayant une lésion. Le belge Jean Demoor dira notamment « *Il ne s'agit pas seulement de savoir si les neurones sont morphologiquement variables ou non, [...] mais aussi et surtout d'envisager les prolongements cellulaires, en tant qu'organes d'association, et de rechercher s'ils sont rigides dans toutes leurs parties ou mobiles dans leurs arborisations terminales [...]. Si ces prolongements cellulaires étaient mobiles, ou simplement variables dans leur trajet, si l'expérience pouvait le démontrer, notre conception de l'acte psychique ou de son mécanisme en serait influencée* » (Demoor, 1896). Mais au-delà de cette approche clinique, des scientifiques soupçonnent un rôle plus fondamental de ce processus encore méconnu. Marinesco est le premier à suggérer que la plasticité n'aurait pas qu'un but réparateur, mais que ce serait une dynamique permanente mise en place par les neurones pour être dans un état optimal (Marinesco, 1907). Cependant, la notion de plasticité, notamment structurale, telle qu'on la connaît aujourd'hui, c'est-à-dire par la création de nouvelles synapses sur les axones, a été clairement établie en 1969 par Geoffrey Raisman (Raisman, 1969). Cette découverte sur le fonctionnement cérébral a marqué un tournant majeur dans la recherche sur la régénération cérébrale.

Depuis, la plasticité est au cœur des recherches sur le fonctionnement du cerveau, et de nombreux scientifiques tentent de comprendre les mécanismes sous-tendant ces changements continus, que ce soit à l'échelle moléculaire, cellulaire ou systémique. Il a été montré ces dernières décennies que ce mécanisme est à la base des processus cognitifs, et notamment ceux de la mémoire. L'un des pionniers dans ce domaine est Donald Hebb, qui établit un postulat aujourd'hui fondamental dans l'étude des mécanismes des synapses liés au processus de mémorisation. Il énonce que lorsque deux cellules sont activées au même moment et qu'elles ont une proximité synaptique, alors il y aura un renforcement des connexions entre ces cellules, facilitant les futures activations (Hebb, 1949). Depuis, des preuves ont confirmé cette théorie, que ce soit à l'échelle cellulaire (Bliss and Collingridge, 1993), ou structurale (Frankland and Bontempi, 2005; Frankland et al., 2004; Kitamura et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011; Poo et al., 2016; Ryan et al., 2015) que nous détaillerons dans les parties suivantes.

IV. Conclusions

Ce bref résumé historique permet de voir que l'ensemble des connaissances que nous avons acquies aujourd'hui concernant le cerveau et son fonctionnement ne s'est pas construit de façon linéaire. Comme pour une majeure partie des découvertes, l'amélioration de notre compréhension à ce sujet a été grandement dépendante des évolutions technologiques, notamment des techniques d'observation, de coloration, mais également d'une plus grande rigueur scientifique. Mais ce cheminement a également été tributaire d'un contexte plus global ;

historique, religieux et social. Certaines théories encore valables aujourd'hui ont mis du temps à être acceptées par la communauté scientifique, soit parce qu'elles provenaient de chercheurs plus modestes ou discrets, soit parce que certaines idées, malheureusement trop en avance sur leur temps, ont fait face à un public sceptique qui n'était pas prêt à les accepter. L'Histoire nous apprend ainsi qu'aucune connaissance n'est immuable, et que les recherches et évolutions techniques qui ont permis de changer notre regard sur le cerveau hier nous amèneront à repenser nos modèles d'aujourd'hui.

Ces nombreuses découvertes ont permis de faire avancer grandement notre compréhension de notre cerveau, de notre fonctionnement, de notre identité. Parmi ces grandes découvertes, la notion de plasticité est sans doute l'une des plus révolutionnaire, car elle ouvre la porte à de nombreux axes de recherche fondamentale comme clinique pour tenter de mieux comprendre le fonctionnement de cet organe qui pose encore aujourd'hui de nombreuses questions. Entre autres, la plasticité joue un rôle capital dans l'apprentissage et la mémoire, et permet au cerveau de s'ajuster, de s'améliorer, pour permettre une réponse comportementale toujours plus adaptée de l'individu face aux changements de son environnement. Ces ajustement se font, nous le verrons, sur plusieurs niveaux ; du plan moléculaire jusqu'aux modifications structurales du cerveau. C'est dans cet axe que s'inscrit ce travail de thèse, qui vise à étudier les changements systémiques qui se mettent en place au cours du processus de mémorisation pour permettre une rétention à long terme des informations.

B. La mémoire déclarative

La mémoire est un processus dynamique qui regroupe plusieurs mécanismes : d'une part les mécanismes de stockage des informations, qui se fait au niveau cérébral, d'autre part des mécanismes pour l'expression et l'organisation ou la réorganisation de ce stock de connaissances. Il y a trois grandes phases dans les processus mnésiques : 1) l'acquisition de nouvelles informations lors de l'encodage, qui peut être influencée notamment par le degré d'attention et l'état émotionnel, 2) le stockage de l'information, qui regroupe différents processus lors de la phase de latence permettant l'organisation et le maintien des informations, et 3) le rappel de l'information, lorsque celle-ci est réactivée, soit au niveau mental, soit par l'exécution d'un comportement.

L'approche actuelle dans la conception biologique de la mémoire se fonde sur l'existence de plusieurs types de mémoire. Plusieurs preuves scientifiques ont en effet mis en évidence que la mémoire ne serait pas une entité unique, mais qu'elle serait bien plus complexe en se distinguant en différentes sous-catégories qui se différencierait par leurs fonctions, mais également par les circuits cérébraux impliqués dans le traitement et le stockage de ces informations.

I. La mémoire : une entité multimodale

Selon l'encyclopédie Universalis, la mémoire se définit comme « *la propriété de conserver et de restituer des informations* » (Lieury et al.). Ce processus peut se faire à trois niveaux : 1) au **niveau cellulaire**, illustré par le phénomène d'immunisation ou bien par le mécanisme d'habituation qui conduit les organismes monocellulaires à ne plus réagir à un stimulus répété. 2) Au niveau du **système nerveux** (qui correspondrait à nos réflexes et habitudes, telles que marcher ou manger). Nous parlerons alors de **mémoire procédurale**. 3) Au **niveau représentatif**, qui nécessiterait des opérations mentales de représentations abstraites des objets et concepts. Pour ces deux derniers niveaux, on parle alors de **mémoire déclarative**, qui fait principalement appel à des connaissances acquises au cours de notre vie, plutôt qu'à des connaissances innées. Ce sont ces connaissances qui nous constituent, qui constituent nos habitudes et nos réactions, faisant de la mémoire et donc de l'apprentissage, un processus essentiel à notre construction en tant qu'individu.

Au cours de ces dernières décennies, la question de savoir où et comment nos souvenirs se forment et sont conservés a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs, que ce soit sur le plan fonctionnel avec les sciences cognitives, ou mécanistique avec les neurosciences. De nombreuses études, notamment cliniques, ont mis en évidence le fait que la mémoire est fragmentée en plusieurs types de mémoires, qui seraient sous-tendues par des structures cérébrales différentes. L'un des cas les plus emblématiques est celui du patient H.M., dont les troubles ont été étudiés par William B. Scoville et Brenda Milner vers la fin des années 1950 (Scoville and Milner, 1957). Ces études à la fois neurologiques et comportementales ont permis une avancée considérable dans la compréhension des processus neurobiologiques de la mémoire.

II. Le cas du patient H.M.

Henry Gustav Molaison, dit H.M, était victime de crises d'épilepsie très violentes suite à un accident de vélo. Afin de supprimer ses crises, il subit une ablation bilatérale d'une large partie de son **Lobe Temporal Médian**, incluant l'**Hippocampe** (HPC) ainsi que les régions adjacentes. Si cette opération a permis la suppression totale des crises épileptiques, des troubles importants de la mémoire sont apparus chez ce patient. Son médecin, William B. Scoville, notera qu'il souffrait **d'amnésie antérograde**, c'est-à-dire qu'il était incapable de former de nouveaux souvenirs (Scoville and Milner, 1957). H.M. était cependant capable de garder une information pendant quelques minutes grâce à des stratégies cognitives, telles que la boucle phonologique, lui permettant de maintenir active l'information en se la répétant mentalement. Malgré la mise en place de ces mécanismes compensatoires, les informations étaient oubliées après un certain laps de temps ou lorsque son attention était dirigée vers autre chose. Brenda Milner avait cru dans un premier temps que l'amnésie de H.M était totale. Cependant, elle démontra en 1962 qu'il était capable de développer une sorte de mémoire inconsciente, et était notamment capable de mémoriser certaines informations devenues familières, comme le plan de sa maison (Corkin, 2002), voire répétitives : il était en effet conscient de sa situation d'amnésique (Pour revue, voir Tulving, 1972). Le patient H.M pouvait également retenir les informations à forte valeur

émotionnelle, par exemple concernant la mort de ses parents survenue après sa chirurgie. Ces observations mettent en lumière l'existence de différents types de mémoire, qui ne feraient pas appel aux mêmes structures cérébrales et pouvaient donc s'exécuter malgré l'ablation du lobe temporal médian. De plus, Milner a mis en évidence une amélioration de l'exécution de certains paradigmes d'apprentissage qui relevaient pourtant de la mémoire à long terme, comme par exemple la tâche du dessin en miroir. H.M. montrait en effet une amélioration dans son tracé et dans sa rapidité d'exécution, et ce malgré le fait qu'il n'avait aucun souvenir d'avoir au préalable réalisé cet exercice.

Ces travaux ont permis à Brenda Milner de souligner plusieurs principes fondamentaux sur les processus mnésiques :

1) Les lésions au niveau du lobe temporal médian n'ont pas d'impact sur les aptitudes perceptives, motrices et cognitives globales. Elles affectent en réalité principalement les processus cognitifs et neurologiques sous-tendant la formation de la mémoire.

2) La **Mémoire à Court Terme** (MCT) et la **Mémoire à Long Terme** (MLT) sont distinctes, d'un point de vue tant systémique qu'anatomique. En effet, bien que le patient HM ait eu une mémoire à court terme équivalente à celle de sujets sains, il était incapable de stocker ces informations plus de quelques minutes. Cela montre que les structures du lobe temporal médian ne sont pas nécessaires ou suffisantes pour la MLT.

3) Il existe plusieurs formes de MLT, qui sont sous-tendues par des structures cérébrales différentes. En effet, l'amnésie que subit le patient H.M. suite à son ablation du lobe temporal médian concerne surtout la mémoire des faits et des événements. Cette mémoire sera par la suite appelée « *mémoire déclarative* ».

III. Les systèmes de mémoires à long terme

Il y a aujourd'hui un consensus général concernant les différents systèmes de mémoire existants et les régions cérébrales qui les sous-tendent. L'un des modèles les plus utilisés dans les neurosciences cognitives pour expliquer les systèmes de mémoire à long terme est la taxonomie de Larry Squire (Squire, 2004), représenté en figure 1. Le niveau de conscience lors du rappel des informations est le critère de distinction majeur entre les différents systèmes de mémoire. En effet, il semble que notre capacité de retrouver des faits ou des événements de façon explicite et consciente ou au contraire de façon implicite et non consciente reflète la différence entre deux types principaux de mémoire: les mémoires déclaratives et non déclaratives.

Dans le sens courant, lorsque nous parlons de « mémoire », nous faisons référence à cette mémoire déclarative. Initialement proposée par Endel Tulving et repris par Larry Squire (Squire, 2004; Tulving, 1972), celle-ci est divisé en deux types : 1) la **mémoire sémantique**, qui regroupe les connaissances globales que nous avons concernant l'environnement dans lequel nous vivons (les concepts, les définitions, etc...). 2) La **mémoire épisodique**, définie comme « l'ensemble des événements personnels ayant eu lieu au cours de la vie de l'individu ». Cette notion intègre non

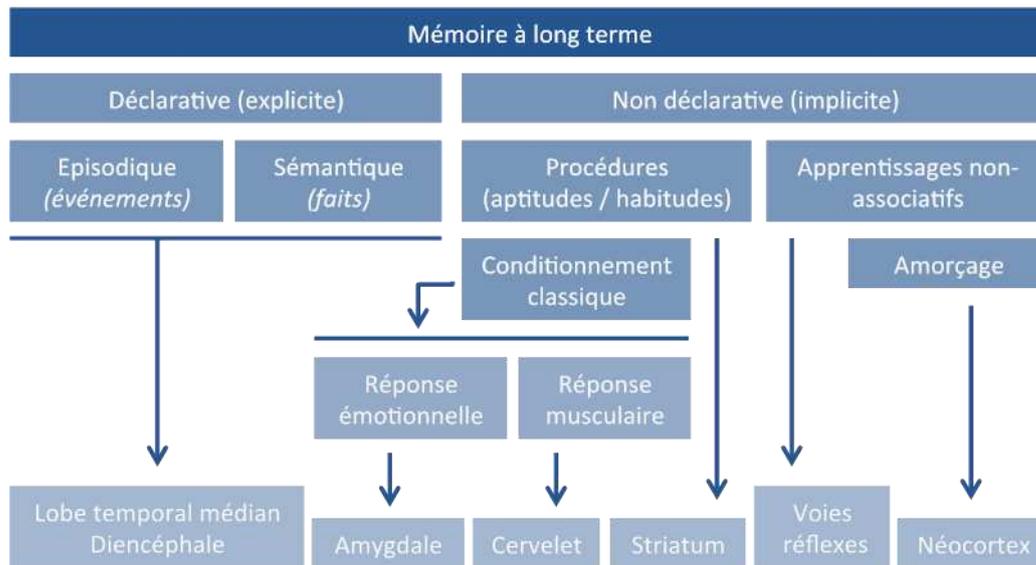


Figure 1 | Taxonomie des systèmes de mémoire à long terme. D’après Squire, 2004, tiré de Bessières, 2016.

seulement le contexte spatio-temporel dans lequel les informations sont encodées lors des évènements mais également l’état de conscience dit « *autonoétique* » qui est lié à la prise de conscience de la part de l’individu de l’expérience qu’il est en train de vivre, de sa propre identité, et de sa capacité à se représenter les événements passés en les intégrant à des perspectives futures (Wheeler et al., 1997). Ainsi, lors de la récupération d’un souvenir épisodique, la conscience autonoétique permet au sujet d’avoir une impression subjective et consciente du souvenir (Tulving, 1985; Wheeler et al., 1997). Cet état de conscience propre à la mémoire épisodique est opposé à la conscience noétique (le fait de savoir sans référence au « Moi »), caractéristique de la mémoire sémantique.

La mémoire non déclarative, également dite implicite, est le résultat de l’expérience et s’exprime de façon inconsciente par une action de la part de l’individu et une amélioration dans l’exécution de cette action. Bien qu’inconscient, ce type de mémoire est essentiel et couvre la plupart de nos capacités mnésiques : motrices et perceptives, apprentissages émotionnels, habitude, conditionnement classique et opérant. Si nous marchons, nous brossons les dents et parlons, c’est grâce à l’expression de ce type de mémoire.

D’un point de vue neuroanatomique, les systèmes de mémoire se distinguent par la différence entre les structures cérébrales et les connexions impliquées dans la formation du souvenir et de son stockage. Ce sont en effet ces connexions qui permettent le traitement de l’information et le stockage de celle-ci (Sporns et al., 2000). L’étude des différents systèmes mnésiques permet d’identifier les substrats anatomiques, physiologiques et moléculaires mis en œuvre pour le traitement et le stockage de l’information. Toutefois, il est important de noter qu’il y a une interaction permanente entre ces systèmes, car bien souvent lors de l’encodage d’une information, plusieurs modalités sont traitées par des aires corticales différentes (McDonald et al., 2004a; Packard and McGaugh, 1996; Poldrack and Packard, 2003; Thompson and Kim, 1996), créant entre ces aires des relations dynamiques d’interdépendance, de synergie ou de compétition (Kim and Baxter, 2001).

IV. Rôle du lobe temporal médian dans les processus mnésiques

IV.a – Description anatomique du lobe temporal médian

Le lobe temporal médian, qui se situe dans le système limbique, comprend trois structures (figure 2 - [Amaral and Witter, 1989](#)):

- Une structure centrale appelée « *formation hippocampique* » qui se compose de l'HPC (comprenant les **Champs Ammoniques** (CA), le **Gyrus Denté** (GD) et le subiculum) et le cortex entorhinal,
- Le cortex périrhinal,
- Le cortex parahippocampique.

Les cortex périrhinaux et parahippocampiques reçoivent des afférences unimodales et polymodales des aires d'association des lobes frontaux, temporaux et pariétaux. Ces cortex sont en connexions réciproques avec le cortex entorhinal, principale voie d'entrée des afférences corticales dans l'HPC. L'organisation neuroanatomique de l'HPC diffère peu selon les espèces. Cette stabilité phylogénétique suggère un rôle crucial dans le fonctionnement du système nerveux central (figure 3).

1) *Organisation structurale de la formation hippocampique*

Chez les mammifères, la formation hippocampique est principalement constituée de deux couches cellulaires distinctes en forme de C (figure 3) qui s'imbriquent l'une dans l'autre : (1) une couche de cellules granulaires du GD. (2) Une seconde couche constituée par le subiculum et l'HPC, constitué de la couche des cellules pyramidales des quatre champs ammoniques: le CA1, le CA2, le CA3 et le CA4. Au niveau de l'HPC dorsal, le CA1 et le CA2 constituent la région supérieure tandis que le CA3 et le CA4 forment la région inférieure.

La plupart des auteurs englobent dans le CA2 dans le CA3, et le considèrent plutôt comme la partie distale du CA3, car il est très peu développé et donc difficile à étudier. Néanmoins, des études récentes ont mis en évidence une distinction dans le rôle fonctionnel de ces deux sous-régions. Notamment, le CA2 serait davantage impliqué dans la mémoire et les comportements sociaux ([Leroy et al., 2018](#); [Meira et al., 2018](#)), ainsi que dans le niveau d'excitabilité global de l'HPC ([Piskorowski and Chevaleyre, 2018](#)), tandis que le CA3 aurait un rôle plus global dans les processus mnésiques et notamment lors de l'encodage ([Chiang et al., 2018](#); [Gilbert and Brushfield, 2009](#); [Rebola et al., 2017](#)).

Les couches cellulaires de l'HPC sont étroitement interconnectées. L'une des caractéristiques majeures de l'HPC est son organisation structurale formant un circuit tri-synaptique (Entorhinal → GD → CA3 → CA1) unidirectionnel et principalement glutamatergique ([Amaral and Witter, 1989](#)). Les cellules granulaires du GD projettent massivement leurs axones sur l'arborisation dendritique des cellules pyramidales du CA3, *via* les fibres moussues (figure 3). Ces cellules envoient à leur tour leurs prolongements axoniques (collatérales de Schaffer) sur les cellules pyramidales du CA1

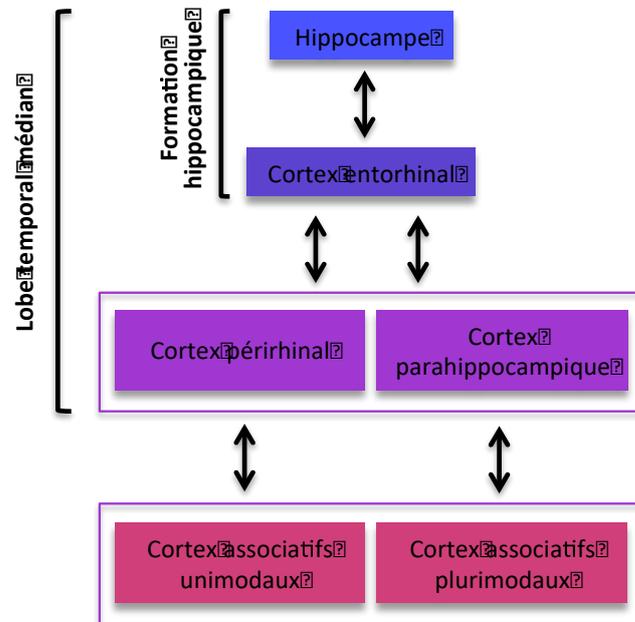


Figure 2 | Schéma du lobe temporal médian. D'après Lavenex and Amaral, 2000, tiré de Bessières, 2016.

selon une topographie extrêmement précise. Longtemps décrite comme l'unique organisation interne de l'HPC, cette organisation lamellaire n'est cependant pas la seule. Ainsi, par exemple, les cellules du CA3 envoient de nombreuses projections sur les autres cellules pyramidales du CA3 par des collatérales axoniques. L'existence de ce circuit récurrent (système collatéral récurrent) fait du CA3 une région très fortement interconnectée de l'HPC. Cette structure est, de ce fait, importante dans l'acquisition rapide d'informations (Rebola et al., 2017; Rolls and Kesner, 2006), ce qui contraste beaucoup avec l'organisation de CA1 où les cellules pyramidales ne sont que faiblement interconnectées. De plus, il existe des projections directes du cortex entorhinal (couche III) sur le CA3 et le CA1. Le CA1 projette d'ailleurs en retour sur le cortex entorhinal *via* le subiculum (figure 3). A cette organisation architecturale interne complexe, il faut ajouter les relations diverses que l'HPC entretient avec les autres structures environnantes, en particulier corticales.

2) Les afférences corticales de l'Hippocampe

La majorité des afférences hippocampiques sont issues du cortex entorhinal (*via* la voie perforante), lequel reçoit de nombreuses informations en provenance de diverses aires néocorticales. Les projections qui arrivent sur les couches superficielles (couches II et III) viennent des régions du bulbe olfactif et du cortex périrhinal. Les couches profondes du cortex entorhinal reçoivent des afférences de nombreuses aires corticales, notamment du cortex insulaire, du cortex rétrosplénial (Amaral and Witter, 1989; Lavenex and Amaral, 2000), mais également du **Cortex Préfrontal médian (CPFm)** (Eichenbaum, 2017; Kitamura et al., 2017; Maharjan et al., 2018; Preston and Eichenbaum, 2013), ainsi que le **Cortex Cingulaire Antérieur (CCa)** (Jones and Witter, 2007; Kitamura et al., 2017; Rajasethupathy et al., 2015). Leurs projections sont directement impliquées dans les processus mnésiques (Eichenbaum, 2017; Maharjan et al., 2018; Preston and Eichenbaum, 2013; Rajasethupathy et al., 2015; Rebola et al., 2017). Les cortex entorhinal et parahippocampique reçoivent également des projections du **Cortex Orbito-Frontal (COF)** (Kondo and Witter, 2014; Suzuki and Amaral, 1994).

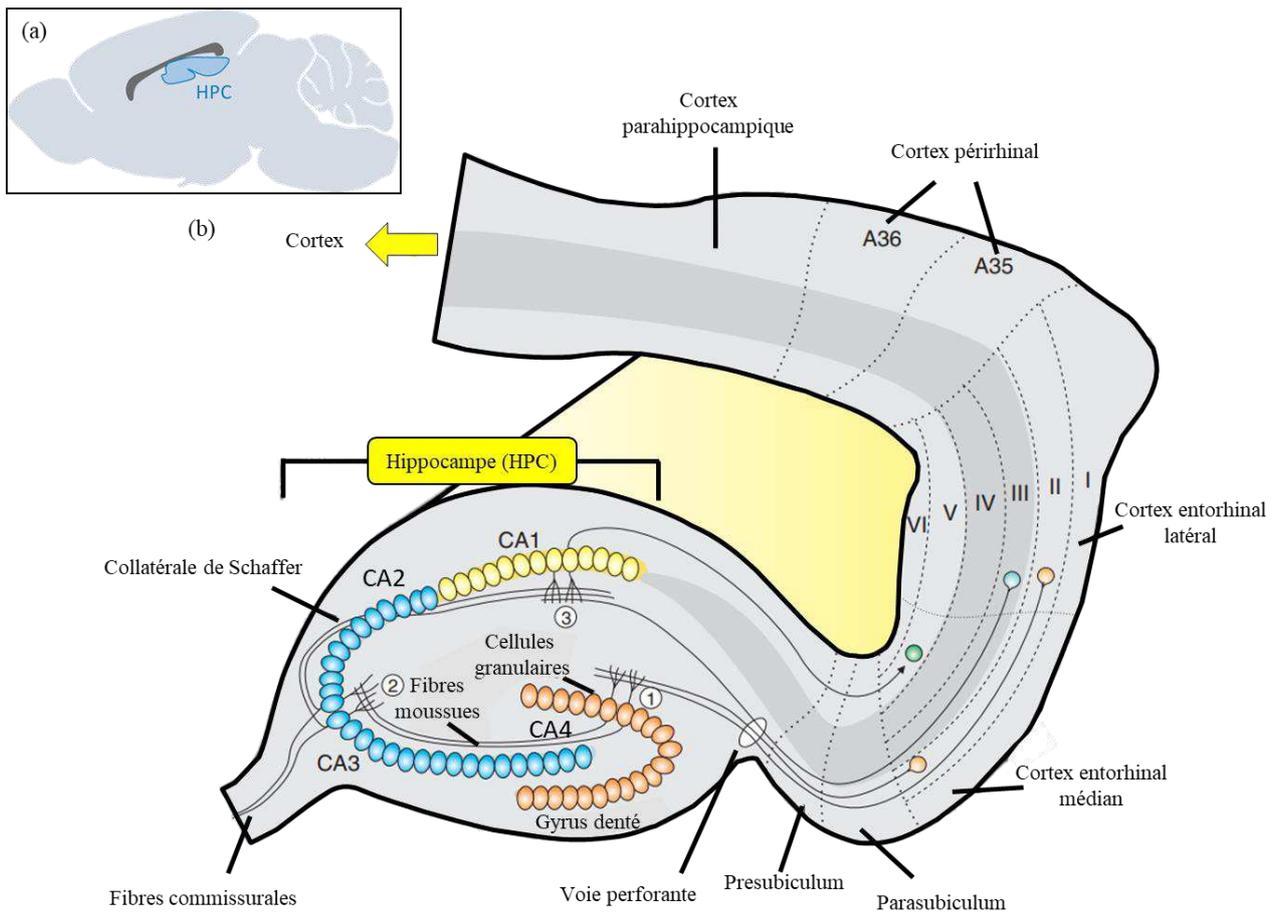


Figure 3 | Schéma du circuit tri-synaptique hippocampique et de ses connexions avec le cortex entorhinal. (a) illustration montrant la localisation de l'hippocampe (HPC) dans un cerveau de rat. (b) Schéma du circuit tri-synaptique de l'HPC, montrant la voie perforante véhiculant des informations sensorielles polymodales en provenance des neurones de la couche II du cortex entorhinal et se projetant sur les cellules granulaires du gyrus denté (1). Ceux-ci, via les fibres moussues projettent sur la couche pyramidale du champ CA3 (2), qui, via la collatérale de Schaffer projettent sur les cellules pyramidales du champ CA1 ipsilatéral et sur les cellules pyramidales du CA3 et du CA1 (3) controlatéraux via les connexions commissurales. Les cellules pyramidales du CA3 et du CA1 reçoivent aussi des afférences en provenance directe respectivement de la couche II et III du cortex entorhinal. L'HPC reçoit aussi des afférences modulatrices importantes. La voie de sortie du circuit est le subiculum. Adapté de Berridge, 2014.

3) Les afférences corticales de l'Hippocampe

L'HPC envoie lui-même de nombreuses projections. Les cellules pyramidales de CA1 se projettent selon une organisation bien précise sur le subiculum (Amaral et al., 1991), qui constitue la principale voie de sortie de l'HPC et innerve la plupart des structures extrahippocampiques telles que le cortex rétrosplénial et le cortex entorhinal (Amaral and Witter, 1989; Lavenex and Amaral, 2000) et le PFCm (Eichenbaum, 2017; Kitamura et al., 2017; Preston and Eichenbaum, 2013), dont les projections sont également impliquées dans les processus mnésiques (Eichenbaum, 2017; Kitamura et al., 2017; Maharjan et al., 2018; Preston and Eichenbaum, 2013).

IV.b – Implications du Lobe Temporal Médian dans la mémoire déclarative : études par les cas d'amnésie

1) Chez l'Homme

- Amnésie antérograde

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

Les troubles liés à l'amnésie rétrograde peuvent être plus ou moins sévères. Les études de cas ont montré que cette sévérité est dépendante de l'étendue des lésions cérébrales dans le lobe temporal médian (Squire and Zola, 1996). Dans le cas d'une ablation bilatérale, comme pour le patient E.P., la mémoire immédiate et la mémoire non déclarative sont intactes, mais il souffre d'une amnésie antérograde plus profonde que le patient H.M. Ses performances dans une grande variété de tâches de mémoire déclarative de type verbal et non-verbal se trouvent grandement perturbées (Stefanacci et al., 2000). Au contraire, le patient R.B., dont les lésions sont limitées au CA1 de l'HPC, ne présente qu'une amnésie antérograde modérée (Stefanacci et al., 2000).

- Amnésie rétrograde

Les lésions du lobe temporal médian peuvent également avoir pour conséquence une amnésie dite rétrograde, c'est-à-dire une **incapacité à se remémorer des informations acquises avant l'apparition des dommages cérébraux**. De même que pour l'amnésie antérograde, la sévérité de l'amnésie rétrograde semble dépendre de l'étendue de la lésion (Squire and Zola, 1996). Le fait que les souvenirs les plus récents puissent être inaccessibles tandis que les informations plus anciennes soient préservées met en évidence le caractère graduel de cette amnésie. En effet, l'amnésie rétrograde de H.M. et E.P. couvrait une période de 11 et 15 ans (Corkin, 2002; Squire, 2009), période au-delà de laquelle la mémoire semblait intacte. D'autres patients avec des lésions plus étendues du lobe temporal médian incluant par exemple les cortex entorhinal, périrhinal et parahippocampique, présentaient une amnésie rétrograde couvrant plusieurs décennies. Ainsi, des patients avec des lésions limitées au lobe temporal médian ont la capacité de se rappeler des événements anciens, cependant cette capacité tend à diminuer quand les dommages sont étendus au néocortex, cas dans lesquels les patients ne sont pas très aptes à donner des détails des événements passés lors de l'enfance (Squire et al., 2015). Cela pourrait s'expliquer par le fait que des amnésies rétrogrades au gradient temporel « plat » (c'est-à-dire total) puisse être observées dans le cas de dommages additionnels de structures corticales (Kirwan et al., 2008), reconnues comme étant les sites de stockage à long terme des traces mnésiques (Frankland and Bontempi, 2005). C'est le cas de quatre patients présentant des lésions du cortex temporal

postérieur, et qui sont incapables de se remémorer la moindre expérience personnelle (Rosenbaum et al., 2005).

Ces études cliniques mettent aussi en évidence que l'étendue et la sévérité de l'amnésie dépendent également du type de mémoire déclarative qui doit être rappelée. Ainsi, quel que soit l'âge du souvenir, la mémoire épisodique dépendrait toujours de l'intégrité du lobe temporal médian, et de l'HPC en particulier, alors que la mémoire sémantique, dépendante de l'HPC pour une période limitée après l'acquisition, pourrait progressivement devenir indépendamment de cette région (Nadel and Moscovitch, 1997). Si cette hypothèse est vraie, des lésions hippocampiques devraient réduire le nombre de détails contextuels (dans le temps et dans l'espace) capables d'être rappelés et ainsi résulter en un rappel essentiellement sémantique de l'information. Dans le sens de cette théorie, trois patients avec des lésions du lobe temporal médian : K.C. (Rosenbaum et al., 2005), G.T. (Bayley et al., 2005) ou A.D. (Gilboa et al., 2006), présentent une perte de mémoire autobiographique résultant en une connaissance impersonnelle du passé. Il est à noter que cette amnésie rétrograde non graduelle peut s'expliquer par des modifications significatives des lobes frontaux (réduction du volume et/ou altération), dont on a mis en évidence l'implication dans le rappel des événements autobiographiques (Bayley et al., 2003, 2005).

Il est toutefois intéressant de considérer ces résultats, tirés des cas cliniques de patients ayant subi des lésions cérébrales irréversibles, à la lumière de certains mécanismes biologiques aujourd'hui bien connus. Un nombre important d'études pointent en effet l'importance de la plasticité, et plus particulièrement des **mécanismes de compensation, qui peuvent se mettre en place suite à une lésion cérébrale**, permettant de suppléer les structures qui sont partiellement ou totalement endommagées (Balbinot and Schuch, 2019; Barulli and Stern, 2013; Lazzouni and Lepore, 2014), ceci afin d'assurer les fonctions qui leur étaient auparavant attribuées.

2) Modèles de l'amnésie chez l'animal

Bien que ces études cliniques aient eu un rôle fondamental dans notre compréhension du rôle du lobe temporal médian dans les processus mnésiques, les études chez l'Homme présentent certaines limites. L'une des limites à l'étude de l'amnésie rétrograde repose sur la difficulté à étudier les souvenirs de façon rétrospective et à former des groupes homogènes de participants. En outre, il est également impossible d'utiliser des approches invasives pour cibler des régions cérébrales spécifiques. L'expérimentation animale va pallier à ces obstacles, et permettre également un meilleur contrôle de l'âge des souvenirs et du type d'information acquise ou de la mémoire sollicitée, même s'il rend impossible une communication claire avec le sujet. L'utilisation du modèle animal est possible car le système du lobe temporal médian est relativement préservé entre les espèces (Squire and Kandel, 1999). Des études ont ainsi pu être menées en observant les effets de lésions spécifiques de différentes régions de la formation hippocampique, ou plus largement du lobe temporal médian, sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation (McDonald et al., 2004b).

Dans le cadre de cette problématique, c'est l'équipe de Squire qui a été l'une des premières à étudier les relations entre l'étendue des dommages dans le lobe temporal médian et la sévérité des déficits mnésiques. Chez le primate, l'équipe a soumis des singes à une tâche de discrimination d'objet à cinq intervalles de temps différents précédant la lésion de l'HPC. Après lésion, les animaux ont une meilleure mémoire des problèmes appris 12 semaines avant la lésion que de ceux appris juste avant (Zola-Morgan and Squire, 1990), corroborant les observations cliniques. Ils ont également révélé que des lésions de l'HPC induisent un déficit mnésique et que la sévérité de ce dernier dépend de l'étendue des dommages subis : ils ont en effet mis en évidence des déficits plus sévères avec des lésions additionnelles des cortex entorhinal et parahippocampique, et enfin des déficits encore plus importants après lésion du cortex périrhinal (Zola-Morgan et al., 1994). Ces données permettent de confirmer, dans le cadre d'une expérimentation animale rigoureuse, l'implication du lobe temporal médian dans les processus mnésiques.

Dès lors, de nombreuses études ont pu confirmer l'existence d'une amnésie rétrograde temporellement graduée après lésion ou inactivation de l'HPC chez un grand nombre de modèles animaux et au cours de diverses tâches cognitives (pour revue, voir Squire et al., 2015). Dans la même période, d'autres chercheurs ont mis en évidence chez la souris le rôle limité dans le temps du cortex entorhinal dans l'apprentissage d'une tâche de discrimination spatiale (Cho and Jaffard, 1995; Cho et al., 1993). Dans leur expérience, cette équipe révèle que suite à une lésion du cortex entorhinal, les animaux présentent une perturbation sévère du rappel de l'information spatiale apprise 3 jours ou 2 semaines avant la lésion, mais que si l'apprentissage avait eu lieu 4 à 6 semaines avant celle-ci, le rappel n'est pas perturbé. Les chercheurs en ont conclu que 4 semaines étaient le délai minimum pour que le rappel d'une tâche de discrimination spatiale puisse se faire indépendamment du cortex entorhinal (Cho et al., 1993). Chez le rat, une étude utilisant une **tâche de transmission sociale de la préférence alimentaire (TSPA)** démontre aussi un gradient d'amnésie rétrograde suite à la lésion de l'HPC dorsal (Winocur, 1990). En conditionnement de peur au contexte, des rats soumis à une lésion hippocampique 28 jours après leur conditionnement fournissent une réponse de peur au moment de leur réexposition au contexte, contrairement aux rats lésés un jour après l'apprentissage (Kim and Fanselow, 1992). De façon similaire, des rats expriment une réponse de peur au contexte 50 jours avant la lésion hippocampique mais pas dans un contexte différent de celui dans lequel le conditionnement de peur a été établi un jour avant la lésion (Anagnostaras et al., 1999). L'ensemble de ces résultats démontre que **l'induction de lésions dans des régions spécifiques du lobe temporal médian chez l'animal entraîne les mêmes conséquences que celles observées chez l'Homme.**

Certaines expérimentations ont cependant montré des résultats opposés à ceux que l'on peut observer chez l'Homme. En effet, l'implication limitée dans le temps de l'HPC dans les souvenirs déclaratifs n'a pas toujours été observé expérimentalement chez l'animal. Dans ce sens, l'équipe de R.J. Sutherland a successivement échoué à montrer une amnésie rétrograde temporellement graduée dans une tâche de conditionnement de peur au contexte (Goshen et al., 2011; Lehmann et al., 2007; Sparks et al., 2011; Sutherland and Lehmann, 2011; Sutherland et al., 2008). Une

autre étude n'est pas parvenue à mettre en évidence ce désengagement hippocampique, malgré la modulation d'un grand nombre de paramètres tels que le protocole de conditionnement, l'intervalle entre le conditionnement et la lésion de l'HPC, la taille de la lésion, et la méthode lésionnelle utilisée (Broadbent and Clark, 2013). D'autres paradigmes d'apprentissage spatial montrent une implication à long terme de l'HPC comme dans le paradigme de la piscine de Morris (Broadbent et al., 2006; Clark et al., 2005; Martin et al., 2005; Sutherland et al., 2001). Ces résultats ont mené les scientifiques à conclure que la trace mnésique pouvait dans certains cas rester dépendante de l'HPC pour un délai de rétention très étendu, voire de façon permanente. Pour d'autres, l'HPC pourrait être toujours requis pour des aspects liés à la réalisation de la tâche, sans lien direct avec le processus de consolidation. Dans ce cas, avec le passage du temps, la trace mnésique serait effectivement disponible ailleurs que dans l'HPC, mais quel que soit le délai, la réalisation du test lui-même nécessiterait l'implication de l'HPC (Squire and Bayley, 2007; Sutherland et al., 2001).

Ces résultats qui semblent contradictoires de prime abord peuvent être liés à la variabilité des stimuli présentés ou du type de mémoire étudié (spatiale vs non spatiale). Cependant, chacun des paradigmes utilisés partage des caractéristiques comparables à la mémoire déclarative chez l'Homme. En effet, la réalisation de ces tâches demande à l'animal d'exprimer le souvenir d'associations complexes entre divers stimuli et/ou l'intégration des aspects contextuels, spatiaux ou temporels de l'information, et d'utiliser de façon flexible ces divers aspects (Eichenbaum, 2000, 2004). Ces variations dans les résultats, relançant le débat sur l'implication du lobe temporal médian dans la mémoire déclarative, pourraient également être étudiées dans la perspective des phénomènes de compensation et de réorganisation cérébrale, inhérents à l'induction d'une lésion. Il a été montré plus récemment qu'en fonction de l'utilisation d'une approche pharmacologique ou lésionnelle, et donc avec une résolution temporelle peu précise, les résultats comportementaux étaient totalement différents de ceux obtenus avec une approche optogénétique, qui fournit une excellente résolution temporelle permettant de supprimer les mécanismes de compensation (Goshen et al., 2011). On voit donc que ces mécanismes peuvent conduire à des résultats de performances mnésiques qui ne reflètent pas les fonctions naturellement sous-tendues par une structure.

V. Conclusions

Ces données à la fois cliniques et expérimentales démontrent l'implication du lobe temporal médian dans la formation de la mémoire déclarative. Les résultats divergents démontrent que son implication n'est pas aussi binaire que ne le suggèrent les premières interprétations des études cliniques. Plusieurs phénomènes biologiques, dont les mécanismes de compensations, peuvent être à l'origine de tels résultats. Les données des études sur l'amnésie rétrograde temporellement graduée semblent indiquer qu'avec le temps, le rappel des souvenirs déclaratifs devient moins sensible aux lésions du lobe temporal médian, et pourrait être supporté par les aires corticales indépendamment du lobe temporal médian. Ainsi, les neuroscientifiques ont postulé **l'existence d'une interaction entre le lobe temporal médian et les aires corticales permettant la**

stabilisation de la trace mnésique au niveau cortical (Dudai, 2004; Dudai and Eisenberg, 2004). Cependant les mécanismes de réorganisation des réseaux corticaux sous-tendant la stabilisation du souvenir restent mal connus. Des études récentes ont montré que ces interactions pouvaient se mettre en place dès l'encodage (Kitamura et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011; Pignatelli et al., 2019; Tonegawa et al., 2018) et étaient nécessaires pour le rappel de l'information, confirmant le rôle critique de cette phase dans le processus de mémorisation.

C. De l'engramme à la mémoire

La première phase des processus mnésique est l'encodage, qui a lieu lors de l'acquisition de nouvelles informations. Lors de cette acquisition, les neurones engagés dans la tâche mnésique vont subir des **modifications structurales et biochimiques durables**, permettant de créer de nouvelles connexions ou de renforcer les connexions synaptiques existantes dans les réseaux neuronaux recrutés lors de l'encodage. Ces modifications vont conduire à la formation de réseaux neuronaux sous-tendant l'information, c'est-à-dire d'une **trace mnésique**, également appelée « engramme » (Josselyn et al., 2015, 2017), dont les bases du concept ont été proposées dès le début du XX^e siècle par le biologiste allemand Richard Semon.

I. La théorie de l'engramme

La - L'engramme selon Semon

Bien avant les travaux de Hebb sur les ensembles neuronaux, qui représentent en réalité les mécanismes biologiques de l'engramme, Richard Semon défend l'existence de processus physiques sous-tendant la mémoire. Il élabore la « théorie de l'engramme », appelée plus tard trace mnésique, qu'il définit comme « *les modifications latentes et [...] persistantes de la substance [...] par un stimulus* » (Semon, 1904). Cette théorie repose sur deux postulats, d'une part une « *loi de l'engraphie* », qui stipule qu'une stimulation au cours d'une expérience entraînant l'excitation d'un ensemble de neurones va induire la formation d'un complexe unifié de ces neurones, appelé « *complexe-engramme* », et qui représenterait le stockage de la mémoire (Semon, 1923). D'autre part, une « *loi de l'ecphorie* », qui stipule que la réactivation d'une partie de ce réseau est suffisante pour réactiver l'ensemble du complexe-engramme (Semon, 1923).

Pour Semon, l'engramme possède quatre caractéristiques (Josselyn et al., 2015; Semon, 1923) : 1) son caractère persistant, car l'ensemble des neurones subit des **changements durables** induits par une expérience. 2) L'ecphorie, car l'ensemble peut être **réactivé** en interaction avec des indices de rappel. 3) Son **contenu est stable**, c'est-à-dire qu'il représente ce qui a été encodé et permettrait de prédire le comportement lors du rappel. 4) Son **état de latence** entre deux rappels réactivant le réseau. Cependant, les limites technologiques empêchèrent Semon de pouvoir aller plus loin dans ses recherches et d'apporter des preuves aux caractéristiques qu'il impute à l'engramme. Pourtant, malgré ces limites, cette théorie pose les bases du stockage et du rappel de l'information telles qu'on les conçoit encore aujourd'hui.

I.b – Les avancées post Semon

La théorie de Semon a été longtemps ignorée, et il faudra attendre la seconde moitié du XX^e siècle, avec les travaux des influents scientifiques Daniel Schacter et Endel Tulving pour restituer à Semon tout l'intérêt de sa théorie (Schacter et al., 1978). Au cours du XX^e siècle, la possibilité de localiser la mémoire a fasciné beaucoup de scientifiques, et de nombreuses expérimentations ont permis d'appréhender un peu mieux l'engramme. Parmi les expériences les plus notables, résumées dans une revue récente (Josselyn et al., 2017), on peut citer l'américain Karl Lashley, qui a effectué des lésions de taille croissante sur le cortex de rongeurs afin de localiser la trace mnésique lors d'un apprentissage spatial (Lashley, 1950). Lashley montra que la lésion induisait quasiment systématiquement un déficit, dont la sévérité dépendait de la taille de l'ablation. Il en a conclu que **la trace mnésique n'a pas de localisation précise mais qu'elle est distribuée dans les aires fonctionnelles du cortex**. Ces résultats mettent ainsi en lumière, malgré les limites technologiques, certaines propriétés de l'engramme encore valables aujourd'hui.

II. A la recherche de l'engramme

Grâce à l'élaboration de méthodes et de technologies toujours plus précises et surtout grâce à l'utilisation de souris transgéniques permettant de marquer durablement les neurones activés lors d'une tâche (Reijmers et al., 2007), il a été permis au cours de ces dernières décennies de mieux appréhender l'engramme et ses propriétés (Josselyn et al., 2015; Tonegawa et al., 2015, 2018). C'est par des méthodes corrélatives d'abord (étude de l'activité, des protéines ou par électrophysiologie), puis causales ensuite (pharmacologie, pharmacogénétique et par optogénétique) que les équipes de scientifiques ont récemment pu démontrer certaines propriétés de l'engramme, ou en préciser les termes en identifiant et en manipulant les neurones constituant la trace mnésique d'un apprentissage.

II.a – Un réseau de neurones activés contenant l'information

Les récentes évolution techniques ont rendu possible l'étude d'une population de neurones spécifiquement activés au moment de l'acquisition puis au moment du rappel de la MCT (Reijmers et al., 2007) et plus récemment de la MLT (Roy et al., 2017; Tayler et al., 2013). Dans cette dernière étude, les auteurs ont pu démontrer qu'une large population de neurones activés dans l'HPC, l'amygdale et le néocortex durant l'encodage est réactivée au moment du rappel de la MCT. En revanche, lors du rappel de la MLT, la population de neurones réactivés dans l'HPC et l'amygdale est réduite alors qu'elle reste inchangée dans le cortex (Tayler et al., 2013). Ces résultats suggèrent que les assemblées neuronales corticales recrutées lors de l'acquisition sont également celles qui assurent le stockage et le rappel de la MCT et de la MLT. Des études ont montré que le recrutement des neurones n'étaient pas aléatoire, mais dépendant du niveau d'excitabilité lors de l'encodage (Pignatelli et al., 2019; Yiu et al., 2014; Zhou et al., 2009). De plus, le rappel de la mémoire est altéré lorsque les neurones spécifiquement recrutés lors de l'encodage sont inhibés (DeNardo et al., 2019; Han et al., 2009; Kitamura et al., 2017). Au contraire, l'activation artificielle des neurones faisant partie de l'engramme permet l'expression

comportementale du souvenir (Liu et al., 2012; Ohkawa et al., 2015; Yiu et al., 2014), allant jusqu'à la possibilité d'induire une fausse mémoire (Cowansage et al., 2014; Ramirez et al., 2013), démontrant que c'est **ce réseau spécifique, activé lors de l'encodage, qui est recruté pour détenir l'information à stocker et permettre son rappel.**

II.b – Un réseau distribué et unifié

Les études plus récentes ont confirmé les hypothèses de Lashley en démontrant, par des techniques invasives, que l'engramme n'est pas limité à une seule région du cerveau, mais qu'un réseau sous-tendant une trace mnésique comprend des neurones de différentes aires corticales impliquées dans le traitement de l'information lors de l'encodage. Il a en effet été montré le rôle prépondérant des neurones de l'HPC (Cowansage et al., 2014; DeNardo et al., 2019; Lisman et al., 2018; Park et al., 2016; Pignatelli et al., 2019) et de l'amygdale (Han et al., 2007) dans la formation des réseaux neuronaux activés lors de l'encodage dans le néocortex (Cowansage et al., 2014; DeNardo et al., 2019; Lesburgueres et al., 2011; Tayler et al., 2013). L'implication des neurones de l'engramme dans ces différentes structures suit une dynamique temporelle que nous aborderons dans la partie suivante.

Les travaux de Hebb ont largement influencé la vision de l'engramme, notamment concernant l'une de ses propriétés clés ; le renforcement des connexions au sein des assemblées de neurones activées lors de l'encodage (Hebb, 1949). Des études corrélatives ont également confirmé la loi de l'engraphie en montrant que l'apprentissage induisait des changements : 1) au niveau moléculaire : l'activation de ces neurones entraîne rapidement l'expression des **gènes d'activation précoce (GAP)**, tels que **c-fos et Arc** (cf. paragraphe D.III.a.2). Ces GAP sont utilisés pour localiser les neurones activés lors d'un apprentissage (Barry et al., 2016; Curran and Morgan, 1987; Flavell and Greenberg, 2008; Gallo et al., 2018; Miyashita et al., 2018; Smith et al., 2007; Sonnenberg et al., 1989), et pour étudier l'expression de protéines impliquées dans la **plasticité cérébrale**, que ce soit au niveau de l'HPC ou dans les aires corticales (Day and Sweatt, 2011; Lisman et al., 2018; Naseem et al., 2019; Silva et al., 1998) et qui sont indispensables au stockage et au rappel de la mémoire (Josselyn et al., 2001; Miyashita et al., 2018; Ryan et al., 2015). Des modifications épigénétiques à plus long terme ont également été observées à la fois au niveau de l'HPC et du cortex (Day and Sweatt, 2011). 2) Au niveau synaptique, avec une modification de la distribution des récepteurs observés au niveau de l'Amygdale et de l'HPC (Rumpel et al., 2005; Whitlock et al., 2006), entraînant des modifications de la **force des connexions** (Rogan et al., 1997; Whitlock et al., 2006) et de l'excitabilité des neurones de l'hippocampe et du cortex (Oh et al., 2003; Pignatelli et al., 2019). 3) Au niveau systémique, **renforçant les connexions entre les structures** liées par l'engramme permettant le stockage de l'information à court et à long terme (Frankland and Bontempi, 2005; Lesburgueres et al., 2011; Zovkic et al., 2014). Ces deux derniers niveaux de changements sont plus persistants dans le temps.

II.c – Un réseau dynamique

L'une des propriétés fondamentales de l'engramme est son dynamisme spatial, c'est-à-dire que la force et la qualité de l'engramme peuvent être modifiées par des changements dans son organisation physique et chimique (Dudai and Eisenberg, 2004). Une étude récente démontre en effet des **transformations dynamiques dans les assemblées de neurones activés lors de l'encodage** au niveau cortical au cours du processus de consolidation et montre que ces changements sont nécessaires pour le rappel de l'information à long terme (DeNardo et al., 2019). Cette dynamique n'empêche cependant pas la traçabilité de l'engramme au cours du temps (Josselyn et al., 2015).

III. L'engramme dans le temps

En plus d'une dynamique spatiale, l'une des propriétés fondamentales de l'engramme est sa dynamique temporelle. Cette dynamique est fortement liée au processus de **consolidation mnésique** qui fera l'objet de toute la partie suivante. Ce processus serait en effet lié à des changements morphologiques des neurones, notamment dans l'HPC et le néocortex. En effet, la partie de l'engramme se situant dans l'HPC peut « disparaître » : des études ont montré une activation limitée dans le temps des neurones de l'engramme dans l'HPC, au profit des neurones du CCA (Tayler et al., 2013; Wang et al., 2012). Des études récentes ont permis de mettre en évidence cette dynamique temporelle, en montrant que la formation des connexions entre les neurones corticaux et les neurones de l'HPC dès l'encodage sont essentiels pour la mise en place de la mémoire à long terme et faisant partie de l'engramme (Kitamura et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011; Ohkawa et al., 2015).

Une revue récente de l'équipe de Tonegawa élabore un modèle prenant en compte les différentes propriétés de l'engramme en les inscrivant dans les dynamiques spatiale et temporelle récemment mises en évidence (Tonegawa et al., 2018). Lors de l'encodage d'un souvenir épisodique, le cerveau combine une multitude de stimuli provenant de différentes modalités (visuelle, auditive, spatiale, sémantique, épisodique, émotionnelle, etc.) à travers un ensemble cohérent contenant les informations (le contenu, le contexte spatial et temporel) d'une façon telle qu'il est possible ultérieurement de réactiver cet ensemble. L'hippocampe joue un rôle central dans **l'étiquetage de cet ensemble** en stockant la représentation du pattern d'activation de l'engramme (Teyler and DiScenna, 1986) qui est distribué à travers les différentes aires corticales. Les mécanismes de plasticité qui se mettent en place entre l'HPC et cet ensemble permettraient le renforcement des connexions au sein de ce réseau. A ce stade, les cellules de l'engramme au niveau cortical sont dans un « **état silencieux** » car elles ne sont pas réactivées ni nécessaire lors d'un rappel à court terme (Kitamura et al., 2017; Roy et al., 2017; Ryan et al., 2015; Ye et al., 2016). Cet état silencieux vs actif au sein de l'engramme ferait expliquerait la dynamique spatiale évoquée précédemment. Pour le groupe de Tonegawa, cet état silencieux de l'engramme au niveau cortical serait lié au processus de maturation au niveau cellulaire. Cela corrobore de récents résultats montrant que ces cellules seraient silencieuses à cause d'un faible nombre

d'épines dendritiques (Kitamura et al., 2017; Roy et al., 2016; Ryan et al., 2015). L'activation des neurones entraînent différents changements au sein de la cellule, afin de permettre un renforcement des connexions lors du processus de maturation. Ces changements ont lieu au niveau nucléaire (Zovkic et al., 2014), où ils se traduisent par l'activation de différentes cascades protéiques (Kitamura et al., 2017) entraînant des changements au niveau des connexions synaptiques et de l'activité des cellules (Lesburgueres et al., 2011; Takehara-Nishiuchi and McNaughton, 2008). Au cours de ce processus de maturation, **il y a un changement entre l'état des cellules de l'engramme de l'HPC** (jusqu'ici actives) **et celles du néocortex** (jusqu'ici silencieuses). En effet, bien que les cellules de l'engramme dans l'HPC ne soient pas réactivées lors d'un rappel plus tardif (Kitamura et al., 2017; Tayler et al., 2013), la réactivation par optogénétique de ces cellules permet toujours l'expression du comportement lié au souvenir (Kitamura et al., 2017).

Ce modèle permet de prendre en compte les récents résultats démontrant la complexité de l'engramme, sur le plan spatial aussi bien que temporel. Il pose également la question du devenir des cellules silencieuses suite aux changements d'état. Cette composante dynamique de l'engramme fait directement référence aux processus de consolidation mnésique, au cours desquels une information est stockée et consolidée pour permettre sa rétention à long terme. Ces processus sont au cœur de la recherche sur la mémoire de ces dernières décennies, et beaucoup de questions sont encore en suspens pour expliquer la complexité des processus mnésiques.

D. La consolidation mnésique

I. Naissance du concept

La première référence connue du concept de « *consolidation mnésique* » nous vient de l'Antiquité, lorsqu'un professeur de rhétorique du I^e siècle après J.-C., Marcus Fabius Quintilianus pointe du doigt « *le fait curieux [...] que l'intervalle d'une nuit augmente la force de la mémoire* » et souleva la possibilité que « *le pouvoir de restitution [...] subit un processus de maturation durant cet intervalle* » (Quintilianus, traduit par Ouizille, 1829). Cette idée resurgit à plusieurs reprises à travers l'Histoire, mais c'est à la fin du XIX^e siècle que cette notion s'inscrit définitivement dans l'intérêt scientifique. Théodule Ribot, psychologue français, fut le premier à décrire l'existence d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde suite à des dommages cérébraux : les informations récemment encodées étaient oubliées, alors que le rappel d'informations plus anciennes était possible (Ribot, 1881; Serge, 2003). Cette « *loi de régression de Ribot* » ou « *gradient de Ribot* » (Ribot, 1881), reflète l'existence d'un **processus dynamique de réorganisation progressive des circuits neuronaux qui sous-tendent la mémoire pour la rendre stable dans le temps**.

Le concept de « *consolidation* » prend véritablement forme au début du XX^e siècle. Deux scientifiques allemands, Georg Elias Müller et Alfons Pilzecker, observent pour la première fois le phénomène « *d'interférences rétroactives* » (Müller and Pilzecker, 1900): la présentation d'éléments perturbateurs durant les premières minutes suivant l'apprentissage d'une information

nouvelle, empêchait par la suite le rappel correct de ce souvenir. Ainsi, l'information récemment encodée, pour résister à l'oubli immédiat et aux interférences, doit subir un processus de stabilisation, permettant sa transformation en une représentation mentale stable (pour revue [Lechner et al., 1999](#)). Sans le savoir, tous ces scientifiques à travers l'histoire venaient de mettre en évidence deux aspects bien distincts du processus de consolidation mnésique : **les consolidations synaptique et systémique**.

Beaucoup d'études ont été menées depuis pour comprendre ces deux mécanismes interdépendants, qui s'opèrent en parallèle l'un de l'autre ([Dudai and Morris, 2013](#); [Dudai et al., 2015](#); [Takeuchi et al., 2014](#)). Il a été démontré qu'ils se produisent selon une cinétique temporelle différente. En effet, la consolidation synaptique est un processus mis en place rapidement, se déroulant dans les premières minutes ou heures qui suivent l'encodage et conduisant à la stabilisation des changements synaptiques induits par l'apprentissage ([Bliss and Collingridge, 1993](#); [Deisseroth et al., 1995](#); [Lisman et al., 2018](#); [Rumpel et al., 2005](#); [Takeuchi et al., 2014](#); [Yuste and Bonhoeffer, 2001](#)). En revanche, la consolidation systémique est un processus plus lent, s'opérant durant plusieurs semaines, voire années, après l'apprentissage ([Barry et al., 2016](#); [Dudai, 2004](#); [Eichenbaum, 2000](#); [McDonald et al., 2004a](#)). Pour cette dernière, la cinétique de consolidation et le stockage des informations dépend grandement du type de mémoire (déclarative ou non déclarative), de la nature de la tâche, et également de l'espèce étudiée.

II. Les théories classiques de la consolidation mnésique

Au cours du siècle dernier, les études cliniques et expérimentales par approche lésionnelle ou par inactivation pharmacologique ont permis de mettre en évidence le rôle clé du lobe temporal médian et plus particulièrement de l'HPC dans la consolidation mnésique. Certains résultats ont cependant nuancé cette implication, notamment dans le cadre de la rétention à long terme. C'est principalement deux modèles qui ont émergé et influencé la recherche à la fin du 20^e siècle et du début du 21^e siècle dans les domaines des neurosciences et de la psychologie cognitive. Tandis que la théorie standard de la consolidation, acceptée par la majorité de la communauté scientifique jusqu'à aujourd'hui, se base sur les données du célèbre cas H.M. et privilégie une implication graduelle de l'HPC au cours du processus de consolidation, la théorie des traces multiples (TTM) se base sur le cas du patient K.C et favorise une implication de l'HPC non pas en fonction du temps mais du type de mémoire considéré.

II.a - Le modèle standard de la consolidation

La théorie classique (ou standard) de la consolidation a été développée par Larry Squire et Pablo Alvarez ([Alvarez and Squire, 1994](#); [Squire and Alvarez, 1995](#)), et a été jusqu'à présent le modèle le plus accepté et défendu par la communauté scientifique. Il s'appuie sur l'existence d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde observé après des dommages de l'HPC, notamment mis en évidence chez le patient H.M. Ce modèle stipule que le stockage des informations est initialement supporté par des circuits hippocampo-corticaux activés lors de l'encodage ([Dudai, 2004](#)) mais qu'avec le passage du temps, il devient dépendant de l'intégrité de certaines aires

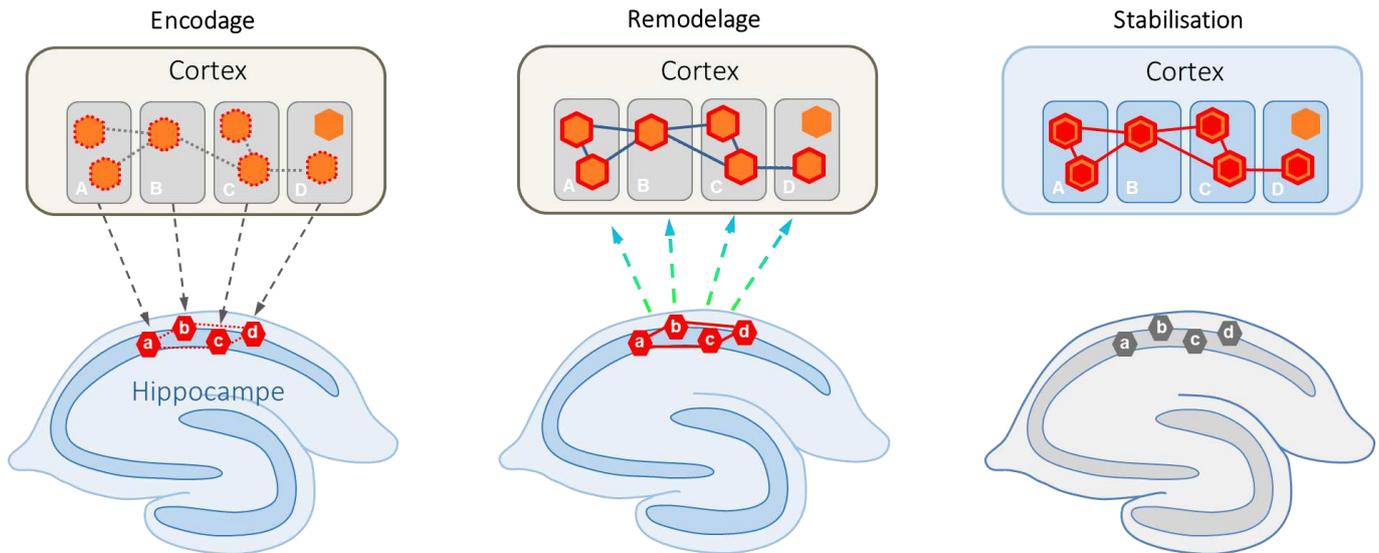


Figure 4 | Modèle standard de la consolidation systémique. Lors de l'encodage, les neurones activés dans les différentes aires corticales (hexagones entourés de pointillés rouges) seraient étiquetés par l'Hippocampe (HPC). Celui-ci génère alors un « index » (hexagones rouges pleins), qui permet d'intégrer les différents aspects de l'information portés par chacune des aires corticales de façon à former un ensemble cohérent sous-tendant l'information. Dans la phase de remodelage, des réactivations successives du réseau hippocampo-cortical vont permettre un renforcement progressif des connexions cortico-corticales, permettant de stabiliser l'information. Les modifications des connexions à l'intérieur du réseau hippocampique sont rapides et transitoires alors que celles qui se produisent à l'intérieur du réseau néocortical prennent du temps et perdurent (en rouge). La maturation du réseau au niveau cortical permet la stabilisation de l'information et s'accompagne d'un désengagement progressif de l'hippocampe. D'après [Frankland et Bontempi, 2005](#) ; [Lesburguères et al., 2011](#).

néocorticales ayant pris en charge la trace mnésique ([McClelland et al., 1995](#)), qui s'accompagne progressivement d'un désengagement hippocampique ([Bontempi et al., 1999](#); [Frankland and Bontempi, 2005](#); [Squire and Alvarez, 1995](#)). **L'HPC aurait alors pour rôle de stocker temporairement la trace mnésique, cette dernière étant par la suite progressivement transférée dans les aires corticales pour le stockage à long terme** (figure 4). Ce modèle implique des processus différents selon les phases de la mémorisation.

1) La phase d'acquisition

Lors de l'encodage, l'information traitée est encodée dans diverses aires corticales en fonction des modalités requises (spatiales, visuelle, gustatives, etc.) par les neurones activés lors de cet encodage. Ces assemblées de neurones sont alors « étiquetées » par l'HPC ([Morris, 2006](#); [Squire and Bayley, 2007](#); [Teyler and DiScenna, 1986](#)), qui stocke ces *patterns* d'activation. Grâce à des modifications synaptiques rapides et à une forte capacité associative, **l'HPC va pouvoir encoder les adresses de ces diverses assemblées sous la forme d'un index hippocampique** et est capable de les relier de façon à permettre une représentation cohérente et unifiée de l'évènement en cours de traitement.

2) Le dialogue hippocampo-cortical

Suite à l'encodage, lors de la phase précoce de la consolidation, il y a un phénomène de « *replay* », qui consiste en **une réactivation synchrone et répétée des ensembles neuronaux étiquetés par l'HPC, notamment au cours de phases de veille active ou de sommeil** ([Skaggs and](#)

McNaughton, 1996; Axmacher et al., 2006; Drieu and Zugaro, 2019; Kentros, 2006; Ólafsdóttir et al., 2018). En accord avec les principes hebbiens, cette réactivation simultanée des assemblées neuronales va permettre un renforcement des connexions cortico-corticales au sein de cet ensemble, donnant à la trace corticale une forme cohérente. La mémoire est consolidée lorsque ce réseau a atteint une maturité suffisante, c'est-à-dire lorsque les connexions cortico-corticales sont suffisamment renforcées pour permettre le rappel de l'information sans l'assistance de l'HPC (Bontempi et al., 1999; Lesburgueres et al., 2011).

Un nombre important d'études au cours des dernières décennies a appuyé cette théorie. Outre l'utilisation d'approches invasives chez l'animal révélant une amnésie rétrograde temporellement graduée après lésion ou inactivation de l'HPC (pour revue, voir Winocur et al., 2010), de nombreuses études cliniques utilisant l'imagerie cérébrale chez l'Homme ont démontré que le rappel d'une mémoire déclarative s'accompagne d'une réduction progressive dans le temps de l'activité de l'HPC, parallèlement à une augmentation de l'activité au niveau cortical (Smith and Squire, 2009; Smith et al., 2010; Takashima et al., 2006, 2009). Par des approches similaires chez l'animal et grâce à la cartographie neuro-anatomique des changements de l'activité métabolique (en utilisant le (14C)2-déoxyglucose) ou de l'activité neuronale (par mesure de l'expression de protéines reflétant l'activité, telles que c-fos, Arc ou Zif268 (cf. paragraphe D.III.a.2), il a été possible de mettre également en évidence ce désengagement hippocampique au profit d'une activité corticale lors d'un rappel à long terme (Bontempi et al., 1999; Frankland et al., 2004; Hall et al., 2001; Lesburgueres et al., 2011; Maviel et al., 2004; Ross and Eichenbaum, 2006; Takehara et al., 2003; Takehara-Nishiuchi and McNaughton, 2008). L'analyse de l'architecture neuronale dans les différentes aires corticales a permis de démontrer que la corticalisation de la trace mnésique s'accompagnait d'une réorganisation structurale des neurones corticaux (augmentation du nombre d'épines ou de l'expression de marqueurs synaptiques - Lee et al., 2007; Lesburgueres et al., 2011; Restivo et al., 2009; Maviel et al., 2004; pour revue, voir Segal, 2017) illustrant la nécessité d'un raffinement des réseaux neuronaux pour la maturation corticale de la trace. Des approches invasives ont permis de conforter les études corrélatives en démontrant, par des stratégies génétiques, lésionnelles ou pharmacologiques, que l'activité dans des aires corticales spécifiques est nécessaire pour permettre le rappel d'une mémoire ancienne (Frankland et al., 2004; Lesburgueres et al., 2011; Liu et al., 2009; Maviel et al., 2004) alors que l'HPC n'a qu'un rôle limité dans le temps pour le rappel de la mémoire (Lesburgueres et al., 2011; Takehara et al., 2003; Zola-Morgan and Squire, 1990), qui dépendrait alors d'un réseau cortical mature.

3) La théorie des schémas

Dans la lignée de la théorie standard, la théorie des schémas se base également sur une implication graduelle de l'HPC, qui ne serait pas seulement tributaire du temps, mais également du degré de familiarité des informations. C'est une approche introspective de la mémoire, postulant que l'apprentissage est facilité lorsque les informations encodées sont en relation avec des connaissances préalablement acquises (Bartlett, 1932). Les schémas seraient alors un vaste

réseau d'informations sur lequel viennent s'implanter les nouvelles informations ayant un lien avec ce réseau, afin de former un souvenir cohérent (Ghosh and Gilboa, 2014).

Ce modèle a été testé par une approche expérimentale par l'équipe de Richard Morris (Tse et al., 2007, 2011), avec un apprentissage spatial d'association de paires chez le rat. Le rat est exposé à une odeur avant son entrée dans l'arène. Il doit alors associer l'odeur à laquelle il a été exposé à une paire d'emplacements récompensés qui varie selon l'odeur. Si les premières paires sont lentement apprises (jusqu'à 6 semaines), les nouvelles associations peuvent être acquises en une seule session, avec une rétention durable de l'information. Par ce paradigme, les auteurs ont pu étudier l'implication des structures corticales et limbiques au cours du temps (Tse et al., 2007, 2011). Bien que, selon les théories standards, ce processus d'assimilation au niveau cortical devrait être plus lent pour permettre l'intégration des informations aux souvenirs plus anciens générés lors d'expériences antérieures (McClelland et al., 1995), les auteurs ont montré une implication rapide d'une aire corticale, le CPFm, dans le rappel des paires et dans l'apprentissage de nouvelles paires (Tse et al., 2011). En effet, si une ablation de l'HPC trois heures après l'apprentissage d'une nouvelle paire entraîne une perturbation du rappel de cette paire, une ablation de cette même structure deux jours après l'apprentissage ne perturbe plus le rappel. Ces études apportent la preuve que de nouvelles informations peuvent être rapidement intégrées au niveau cortical si elles sont en relation avec des informations préalablement encodées, ayant formé une représentation corticale (ou schéma) d'un environnement spatial complexe.

Cette étude souligne également la possibilité de rappeler un souvenir, pourtant spatial, indépendamment de l'HPC, alors que cette structure est une région clé pour le traitement des informations spatiales (O'Keefe and Dostrovsky, 1971; O'Keefe and Nadel, 1978). Ce serait alors le niveau élevé de familiarité de l'environnement qui permettrait le rappel du schéma intégré au niveau cortical, indépendamment de l'HPC. En accord avec cette théorie, des rats placés en permanence dans un environnement complexe et riche en stimuli (multiples voies d'accès à la nourriture/eau, sur deux étages, présence de congénères, etc.) appelé « le village », ne sont pas perturbés pour retrouver la nourriture suite à une lésion de l'HPC (Winocur et al., 2005a). Ces résultats suggèrent l'établissement d'une carte cognitive corticale de l'environnement spatial liée à la familiarité de l'environnement spatial, permettant alors un maintien de certaines informations indépendamment de l'HPC (Rosenbaum et al., 2000, 2001; Tse et al., 2011).

Bien que les études comportementales semblent valider ce modèle (pour revue, voir Dudai, 2004; Squire et al., 2015), il est cependant à noter que ces conditions expérimentales nécessitent souvent un environnement relativement pauvre en stimuli et des animaux naïfs au moment de l'apprentissage. Elles modélisent assez peu la situation observée chez l'animal vivant dans son environnement naturel où chaque nouvel apprentissage s'ajoute à un ensemble complexe de connaissances précédemment acquises. De plus ce modèle n'explique pas certaines observations lors du phénomène d'amnésie rétrograde avec un gradient plat (i.e. totale) observé dans certaines études (Bayley et al., 2005; Gilboa et al., 2006; Rosenbaum et al., 2000). En effet, la corticalisation

à terme de toutes les formes de mémoire déclarative, postulée par le modèle standard, est un aspect qui reste très débattu, amenant certains auteurs à rejeter le modèle standard.

Allant dans le sens de cette théorie, trois patients avec des lésions du lobe temporal médian : K.C. (Rosenbaum et al., 2005), G.T. (Bayley et al., 2005) ou A.D. (Gilboa et al., 2006), présentent une perte de mémoire autobiographique ayant pour résultat une connaissance impersonnelle du passé. Il est à noter que cette amnésie rétrograde non graduelle peut s'expliquer par des modifications significatives des lobes frontaux (réduction du volume et/ou altération), dont on a mis en évidence l'implication dans le rappel des événements autobiographiques (Bayley et al., 2003, 2005).

II.b – La théorie des traces multiples

1) Conception de la théorie

Suite à un accident de moto, Kent Cochrane, plus connu sous le nom du « patient K. C. », a subi une lésion importante du lobe temporal médian et notamment de l'HPC, entraînant une amnésie antérograde sévère, ainsi qu'une amnésie rétrograde avec un gradient plat. Cependant, contrairement au patient H. M., K.C présentait une mémoire sémantique intacte (Rosenbaum et al., 2005). Cette observation incompatible avec le modèle standard, semble montrer qu'une lésion du lobe temporal médian n'affecterait pas tous les types de mémoire de la même façon et toucherait davantage les souvenirs épisodiques.

Basés sur leurs observations qui remettent en cause le rôle graduel de l'HPC dans les processus de consolidation, Morris Moscovitch et Lynn Nadel réfutent le modèle Standard et proposent la **Théorie des Traces Multiples** (TTM - Moscovitch and Nadel, 1998; Nadel and Moscovitch, 1997). Ce modèle postule que la formation initiale de la mémoire déclarative requiert de façon systématique l'implication de l'HPC. La trace mnésique générée lors de l'encodage serait établie au sein d'un réseau hippocampo-cortical étendu, avec une implication de neurones de diverses aires cérébrales. La trace mnésique contient au niveau des neurones de l'HPC les informations liées au contexte (à la fois spatial et temporel) de l'encodage, et l'HPC serait alors capable de réactiver ces assemblées pour obtenir une représentation cohérente et unifiée de l'information (Moscovitch and Nadel, 1998; Nadel and Moscovitch, 1997). **Dans cette perspective, la mémoire épisodique, dont l'encodage serait toujours lié à un contexte spatio-temporel, serait alors perpétuellement dépendante de l'HPC, quel que soit le stade de maturation du réseau. A l'inverse, le rappel de la mémoire sémantique qui se fait indépendamment d'un contexte, pourrait se faire sans l'HPC lorsque le souvenir est ancien** (figure 5 - Eldridge et al., 2000; Moscovitch et al., 2005). Ainsi, la distinction dans les structures impliquées dans le stockage et le rappel d'un souvenir ne se ferait alors plus seulement en fonction de l'âge du souvenir, mais également en fonction du type de mémoire impliquée.

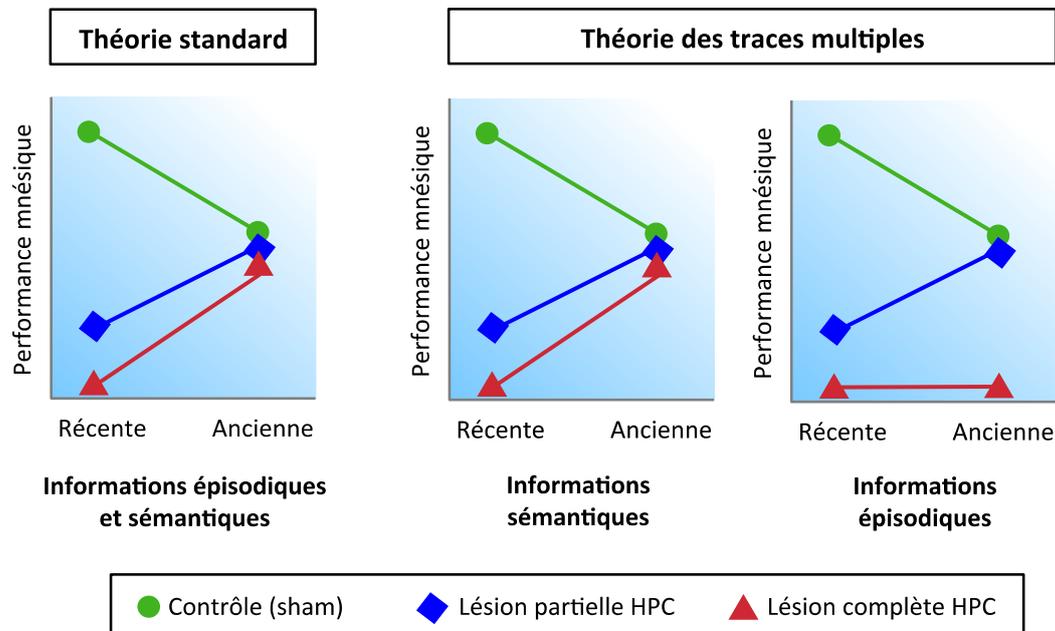


Figure 5 | Prédiction des performances mnésiques selon les modèles standards : du modèle standard de la consolidation mnésique (à gauche) et de la théorie des traces multiples (à droite), en cas de lésion ou d'inactivation hippocampiques lors du rappel. D'après Frankland et Bontempi, 2005 tiré de Bessières, 2016.

Dans leur théorie, Morris Moscovitch et Lynn Nadel proposent un mécanisme de réencodage systématique lorsqu'un souvenir épisodique est réactivé (Moscovitch and Nadel, 1998). En effet, lors du rappel, le sujet ou l'animal se rappelant une information de façon explicite, selon son degré de conscience, va induire un réencodage de cette information. Cela permettrait un renforcement du réseau initial et créant de nouvelles annexes à ce réseau (multiplication des traces), de la même façon qu'une seconde couche de peinture sur une première une fois séchée, permet de renforcer l'ensemble. La multiplication des rappels permettrait alors une multiplication des traces et un réseau hippocampo-cortical de plus en plus étendu, permettant aux souvenirs épisodiques anciens d'être moins sujets à des dommages ou interférences. Cette hypothèse expliquerait alors l'existence d'amnésie graduelle chez les patients ayant une lésion au niveau du lobe temporal médian, tandis qu'une lésion bilatérale totale du lobe temporal médian et notamment de l'HPC induirait une amnésie rétrograde avec un gradient plat.

Ce nouveau modèle pose l'hypothèse d'une variation des mécanismes en fonction du type de mémoire considéré. En outre, **la réactivation de la trace mnésique permettrait la création de multiples traces et le renforcement du réseau. Ce renforcement serait accompagné d'une dissociation entre les aspects factuels d'un épisode et sa valeur sémantique**, qui seraient tous deux stockés de façon indépendante. Cet aspect serait alors intégré au réseau des souvenirs sémantiques préexistants. Ainsi, en accord avec la prédiction du modèle standard de la consolidation, la mémoire sémantique ne dépendrait de l'HPC que le temps de l'intégration de ces aspects sémantiques au réseau préexistant, période après laquelle le réseau serait dépendant uniquement des aires corticales. Plusieurs études ont été menées chez l'animal (Kim and Fanselow, 1992; Mumby and Glenn, 2000; Winocur et al., 2005b; Zola-Morgan and Squire, 1990) et chez l'Homme (Cipolotti et al., 2001; Viskontas et al., 2000) permettant d'appuyer ce modèle (pour revue, voir Nadel et al., 2007; Rosenbaum et al., 2001). Bien que la plupart des résultats concernant la mémoire sémantique vont dans le sens d'un désengagement graduel de l'HPC,

certaines études mettent en évidence des résultats contradictoires (Moscovitch et al., 2005). Ceci pourrait être dû à la présence d'une modalité épisodique dans la composition d'un souvenir sémantique.

2) L'hypothèse de la transformation

Sous l'influence de cette théorie, des chercheurs ont plus récemment émis l'hypothèse d'une *transformation* de la trace mnésique au cours de sa consolidation. Cette hypothèse se base sur l'observation de la perte des détails contextuels des souvenirs autobiographiques au cours du temps (Biedenkapp and Rudy, 2007; Furman et al., 2012; Levine et al., 2002; Wiltgen et al., 2010). Cette théorie unifie les hypothèses des deux courants de pensée de la théorie standard et la TTM, en expliquant **qu'un souvenir épisodique pourrait être initialement dépendant d'un réseau hippocampo-cortical, mais qu'au cours de la consolidation mnésique, la trace mnésique serait transformée en une représentation sémantique au niveau cortical, en accord avec les propriétés de dynamisme à la fois temporel et spatial de l'engramme.** Cette corticalisation serait un processus de « décontextualisation » ou de « sémantisation » au cours du temps de l'information, ou le « vécu » deviendrait alors un « savoir » (Moscovitch et al., 2005, 2006).

Cette hypothèse est appuyée par plusieurs résultats issus de la recherche animale. En utilisant deux tâches dépendantes de l'HPC (la TSPA et un conditionnement de peur au contexte) en faisant varier le contexte lors du rappel (contexte initial d'acquisition ou dans un nouveau contexte), il a été montré que le changement de contexte perturbe le rappel à court terme mais pas à long terme (Winocur et al., 2007). En accord avec la théorie, la trace mnésique se serait modifiée au cours de la consolidation, entraînant une *décontextualisation* du souvenir et permettant son rappel dans d'autres contextes. D'autres auteurs confirment que la mémoire ancienne peut être généralisée à plusieurs contextes, alors que la mémoire récente semble être plus discriminative, révélant que la mémoire contextuelle perd en précision au cours du temps (Biedenkapp and Rudy, 2007; Wiltgen and Silva, 2007). Par une inactivation de l'HPC, d'autres résultats suggèrent son implication dans le rappel de la mémoire contextuelle, alors qu'une mémoire généralisée pourrait être rappelée par les aires corticales uniquement (Wiltgen et al., 2010).

II.c - Conclusions

Longtemps vus comme les principaux modèles pour expliquer les processus de consolidation, la théorie standard et la théorie des traces multiples sont pourtant de plus en plus discutées au sein de la communauté scientifique. Un nombre de plus en plus important de données obtenues dans une large variété de paradigmes et de méthodes obligent aujourd'hui à penser le processus de consolidation autrement (Gisquet-Verrier and Riccio, 2019; Kitamura et al., 2017; Loureiro et al., 2019; Rajasethupathy et al., 2015; Tonegawa et al., 2015, 2018). Ces données mettent en évidence l'implication précoce d'aires néocorticales dans le rappel de la MCT (Blum et al., 2006; Genzel et al., 2017; Kitamura et al., 2017; Loureiro et al., 2019; Rajasethupathy et al., 2015; Rizzo et al., 2017), alors que d'autres résultats ont montré une implication de l'HPC dans un rappel de la MLT (Goshen et al., 2011). Ces derniers mois, plusieurs nouveaux modèles ont émergés pour tenter

d'expliquer le processus très complexe de consolidation mnésique (Gisquet-Verrier and Riccio, 2018; Runyan et al., 2019; Yonelinas et al., 2019), en conciliant les différents résultats obtenus, qui semblent contradictoires si on les regarde avec la perspective des théories classiques. Si les modèles classiques ont principalement tenu compte d'une réorganisation de la trace mnésique à l'échelle systémique, les nouveaux modèles permettent d'intégrer la consolidation à une échelle plus cellulaire mais qui paraît pourtant aujourd'hui indissociable ; le niveau synaptique, qui est la base nécessaire à une consolidation plus globale et plus durable.

III. La consolidation synaptique

Les théories classiques de la consolidation n'intègrent pas dans leurs schémas les mécanismes cellulaires et moléculaires qui ont lieu durant la consolidation, et qui sont pourtant à la base des changements structuraux énoncés dans ces modèles. Durant les quatre dernières décennies, de nombreux travaux ont permis de mieux appréhender ces processus influençant la structure des synapses, leur composition moléculaire et leurs fonctions physiologiques. L'un des résultats les plus importants a été la mise en évidence du fait que la force des connexions synaptiques n'est pas fixe mais modifiable par l'activité neuronale, une propriété fonctionnelle appelée *plasticité synaptique*. C'est Cajal qui a posé les premiers fondements de cette notion en proposant l'idée que l'apprentissage, au lieu d'induire la création de nouveaux neurones, serait capable de renforcer la capacité des neurones préexistants à communiquer les uns avec les autres en provoquant la croissance de nouvelles synapses. La persistance de ces modifications neuro-anatomiques serait utilisée comme support élémentaire du stockage mnésique (y Cajal, 1894).

En 1949, Hebb énonce le postulat que la mémoire serait formée lorsque deux neurones interconnectés, activés simultanément et de façon répétée, renforcent leurs connexions de sorte que l'activation de l'un par l'autre soit ensuite facilitée et plus importante. Le renforcement des connexions synaptiques entre neurones activés au moment de l'apprentissage contribuerait ainsi à la formation d'une ou plusieurs « assemblées neuronales » constituant le substrat neuronal de la trace mnésique (Hebb, 1949). Selon Hebb, « la pensée » (que l'on peut assimiler au rappel mnésique) correspondrait alors à la réactivation en séquence de ces assemblées de neurones. On nomme alors « apprentissage hebbien », tout apprentissage associatif basé sur des modifications de la force synaptique entre neurones pré- et post-synaptiques qui ont été préalablement activés simultanément. Ces travaux marquent la croissance de l'intérêt des scientifiques pour l'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires comme bases des processus mnésiques.

Plusieurs décennies après Hebb, en 1973, Timothy Vivian Pelham Bliss et Terje Lømo démontrent chez l'aplysie que la stimulation à haute fréquence de la voie perforante dans l'HPC entraîne une « **Potentialisation à Long Terme** » (PLT), **c'est-à-dire un renforcement durable des connexions synaptiques** tandis qu'une stimulation à basse fréquence entraîne le phénomène inverse, une « *Dépolérisation à Long Terme* » (DLT - Bliss and Lømo, 1973). C'est ensuite en 1993, avec une étude de Bliss et Graham Leon Collingridge que le lien entre substrat biologique et mémoire est finalement démontré (Bliss and Collingridge, 1993).

III.a – Rôle clé des récepteurs NMDA dans la plasticité synaptique

Parce que le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur présent dans le système nerveux central des mammifères (Traynelis et al., 2010), son étude a fait l'objet de nombreuses recherches, notamment afin de comprendre le phénomène de plasticité synaptique, considéré comme une base moléculaire au processus mnésique. Le glutamate se lie à une large variété de récepteurs membranaires, incluant des récepteurs ionotropiques caractérisés par la présence d'un canal perméable à différents cations (calcium, sodium et potassium). Ces récepteurs ionotropiques peuvent être divisés en trois grandes familles : les récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate (AMPA), les récepteurs kaïnates et les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA - Traynelis et al., 2010).

Découverts en 1963 (Curtis and Watkins, 1963), les récepteurs NMDA présentent plusieurs propriétés remarquables qui les distinguent des autres récepteurs ionotropiques (Traynelis et al., 2010) : au potentiel de repos de la membrane neuronale, le canal ionique est bloqué par un ion magnésium (Mg^{2+}), rendant ainsi son ouverture dépendante du voltage. Cette propriété serait à la base de la plasticité hébbienne. En effet ces ions Mg^{2+} ne peuvent être déplacés que lorsque l'élément post-synaptique est suffisamment dépolarisé pour les expulser à l'extérieur du canal *via* un phénomène de répulsion électrostatique. Ainsi, la libération de glutamate (et de son co-agoniste, la glycine - Lehmann et al., 1991) par le neurone présynaptique va induire la dépolarisation de l'élément post-synaptique, notamment *via* l'activation des récepteurs AMPA. L'activation des récepteurs AMPA conduit à une entrée massive de Na^+ couplée à une faible sortie de K^+ , menant ainsi à la dépolarisation massive et rapide du neurone post-synaptique (figure 6). Dès-lors, la dépolarisation post-synaptique conduit à l'expulsion, hors du canal, du « bouchon Mg^{2+} » permettant le passage des cations (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}) au travers du récepteur NMDA. L'entrée de Ca^{2+} dans le neurone post-synaptique va alors initier une cascade de signalisation intracellulaire conduisant à la modification durable de la transmission synaptique. Ainsi, le récepteur NMDA est un acteur moléculaire unique puisque son activation requiert à la fois la libération de neurotransmetteurs par le neurone présynaptique et la dépolarisation de l'élément post-synaptique. Ce récepteur a donc très vite été considéré comme le candidat moléculaire idéal responsable de la détection de coïncidence de l'activité pré- et post-synaptique nécessaire à l'induction des processus de plasticité synaptique sous-tendant les apprentissages associatifs, apportant ainsi un support biologique à la proposition de Hebb.

III.b – Les formes de plasticité dépendantes des récepteurs NMDA

La **plasticité synaptique** à long terme fait référence à des **modifications structurales durables de la morphologie des neurones et de l'efficacité de la transmission synaptique** en réponse à différentes expériences stimulant les neurones. Ces changements durables peuvent être de deux natures ; soit une potentialisation durable de la réponse synaptique (ou PLT) soit une dépression durable de la réponse synaptique (DLT). Un grand nombre d'études a permis de mettre en évidence l'existence de ces différentes formes de plasticité. Les travaux de Bliss et Lømo sur la voie perforante dans l'HPC montre qu'une salve de stimulations électriques à haute fréquence

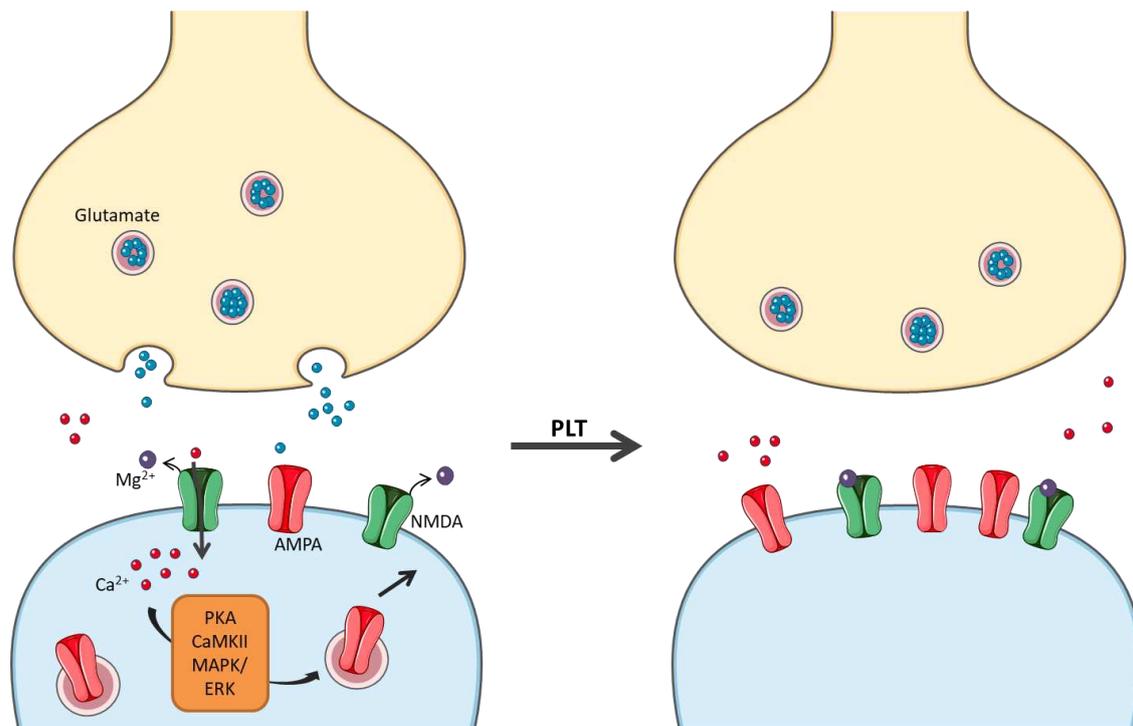


Figure 6 | Molécule clés impliquées dans la plasticité synaptique. La dépolarisation de l'élément post-synaptique en concomitance avec la libération de glutamate au niveau présynaptique permet l'activation des récepteurs NMDA par le retrait du « bouchon » Mg^{2+} . L'influx de Ca^{2+} qui en résulte entraîne l'activation des voies PKA, MAPK, ERK, ainsi que la formation de la CaMKII. Ces protéines sont notamment à l'origine de l'exocytose de récepteurs AMPA, permettant le renforcement de l'efficacité synaptique, *via* le mécanisme de Potentialisation à Long Terme (PLT). Illustré grâce à Servier Medical Art.

appliquée sur cette voie hippocampique produit une augmentation durable de la transmission synaptique entre les neurones de CA3 et CA1 (Bliss and Collingridge, 1993). Cette PLT générée dans la région CA1 requiert l'activation des récepteurs NMDA. Ainsi, cette forme de PLT dépendante des récepteurs NMDA est dite « associative » parce qu'elle requiert une activation concomitante des éléments pré- et post-synaptiques.

A la suite de ces travaux, la PLT et la DLT dépendant des récepteurs NMDA ont été mises en évidence dans plusieurs structures, l'HPC, l'amygdale et dans de nombreuses régions du cortex. L'induction d'une PLT ou d'une DLT va principalement dépendre de la cinétique suivant laquelle le Ca^{2+} pénètre dans le neurone postsynaptique à travers les récepteurs NMDA. En effet, bien qu'il existe différents protocoles d'induction, il est maintenant bien accepté qu'une légère dépolarisation menant à une activation modérée des récepteurs NMDA conduit à une légère augmentation de la concentration calcique post-synaptique, laquelle est optimale pour l'induction d'une DLT. En revanche, une dépolarisation intense produisant une forte activation des récepteurs NMDA, et par conséquent une augmentation importante des concentrations intracellulaires de Ca^{2+} dans les neurones post-synaptiques, permet l'induction d'une PLT (Malenka and Bear, 2004). Toutefois, les méthodes utilisées pour induire la PLT *in vitro* consiste en des stimulations à très haute fréquence, ce qui est peu représentatif des phénomènes physiologiques mis en place durant un apprentissage *in vivo*. C'est pourquoi l'équipe de l'allemand Bert Sakmann a démontré que la nature de la plasticité, qu'elle soit une PLT et la DLT, dépend de l'ordre dans lequel les éléments pré- et post-synaptiques sont activés (Nevian and Sakmann, 2006). En effet, les auteurs ont

observé que la stimulation de l'élément présynaptique provoqué de façon répétée quelques millisecondes avant la dépolarisation de l'élément post-synaptique (configuration «pré-post») génère une PLT. Au contraire, la dépolarisation de l'élément post-synaptique induite de façon répétée avant l'activation de l'élément présynaptique (configuration « post-pré ») génère une DLT. Cette étude démontre que le décours temporel avec lequel les éléments pré- et post-synaptiques sont activés est un paramètre crucial pour établir la direction de la plasticité synaptique. Ce phénomène, appelé « *spike timing-dependent plasticity* » (Caporale and Dan, 2008; Levy and Steward, 1983; Magee and Johnston, 1997) est dépendant de l'activation des récepteurs NMDA. Ce protocole est souvent considéré comme une méthode plus physiologique pour induire la PLT et la DLT car ces profils d'activité sont observés chez l'animal dans certaines tâches comportementales (Xu et al., 2012).

III.c – Mécanismes précoces d'expression de la PLT et de la DLT

La majorité des études sur ces phénomènes de plasticité dépendante des récepteurs NMDA ont montré qu'ils étaient majoritairement sous-tendus par des mécanismes post-synaptiques. **Les phases précoces d'expression de la PLT et de la DLT sont caractérisées par une redistribution des récepteurs AMPA au sein de la membrane synaptique via des processus respectivement d'exocytose et d'endocytose.** En effet, la stimulation des neurones pré- et post-synaptiques permet l'activation des récepteurs NMDA et l'entrée de Ca^{2+} dans l'élément post-synaptique. Selon le profil du signal calcique, des récepteurs AMPA sont soit insérés, soit retirés de la synapse conduisant respectivement à une PLT ou une DLT, résultant de l'activation de différentes cascades protéiques que nous allons détailler.

Dans le cas de la PLT, l'activation des récepteurs NMDA va induire une entrée massive de Na^+ et Ca^{2+} , ainsi qu'une libération de K^+ , entraînant la dépolarisation du neurone. Cette dépolarisation et la forte présence de Ca^{2+} induisent plusieurs cascades, dont les principales sont la voie PKA et la voie des MAPK/ERK (figure 6 - Abel and Kandel, 1998; Abel and Nguyen, 2008; Sweatt, 2001; Waltereit and Weller, 2003) et qui sont impliquées dans les mécanismes de plasticité synaptique. L'une de ces voies est liée à l'activation de la voie de signalisation Ca^{2+} /Calmodulin-Dependent protéine kinase II (CaMKII - figure 6). Il a été montré par de nombreuses études que cette voie de signalisation est essentielle pour la formation de la mémoire (Giese et al., 1998; Mayford et al., 1995; Silva et al., 1992a, 1992b). En effet, cette protéine CaMKII, une fois activée, permet l'insertion synaptique de récepteurs AMPA (Ehlers, 2000) permettant une augmentation de l'efficacité synaptique et l'induction de la PLT (Nicoll and Malenka, 1999a, 1999b), ainsi qu'une augmentation de la conductance de ces récepteurs (Benke et al., 1998; Derkach et al., 1999). En plus de son rôle dans l'induction de la PLT, la CaMKII est impliquée dans le maintien de la PLT à long terme (Lisman et al., 2012; Redondo and Morris, 2011). Le blocage du complexe récepteur NMDA/CAMKII dans l'HPC perturbe la consolidation mnésique d'informations spatiales (Halt et al., 2012; Stein et al., 2014; Zhou et al., 2007), démontrant le rôle de cette voie dans les processus cognitifs. Une autre étude révèle que l'inhibition de l'endocytose des récepteurs AMPA dans l'HPC empêche le déclin de la PLT au cours

du temps et prolonge la rétention de la mémoire (Dong et al., 2015). Il a également été montré que le maintien durable de la potentialisation synaptique nécessite la synthèse de nouvelles protéines permettant des changements structuraux et le renforcement des synapses (Kandel, 2001).

Si la PLT implique l'activation de protéines kinases, la DLT implique préférentiellement l'activation de protéines phosphatases. En effet, selon le modèle proposé par John Lisman en 1989, la DLT reposerait sur l'activation de la protéine phosphatase calcineurine (activée par le complexe Ca^{2+} /calmoduline) et de la protéine phosphatase 1 (Lisman, 1989). Ce modèle repose sur une caractéristique clé de la calcineurine : une plus grande affinité pour le complexe Ca^{2+} /calmoduline que la CaMKII. La calcineurine serait donc préférentiellement activée par l'augmentation faible du Ca^{2+} générée lors de la mise en place de la DLT. L'activation de ces phosphatases va alors modifier l'état de phosphorylation des récepteurs AMPA durant la mise en place de la DLT (Carroll et al., 2001; Mulkey et al., 1993, 1994) modulant leur conductance et leur adressage à la membrane. De même que pour la PLT, de multiples voies de signalisation intracellulaires sous-tendant la DLT ont également été mis en évidence (Li et al., 2010).

Il a été montré que ces phénomènes d'exocytose ou d'endocytose des récepteurs AMPA pouvaient affecter la structure des épines dendritiques, entraînant respectivement un élargissement ou un rétrécissement des synapses récemment potentialisées (Harvey and Svoboda, 2007; Holtmaat and Svoboda, 2009; Kasai et al., 2010; Matsuzaki et al., 2004). D'autre part, la PLT est aussi corrélée à la formation de nouvelles épines dendritiques, *de novo* ou par division d'épines préexistantes (Lamprecht and LeDoux, 2004; Toni et al., 1999). Au contraire, la DLT est associée à une réduction de la densité dendritique (Kasai et al., 2010; Nägerl et al., 2004; Wang et al., 2007; Zhou et al., 2004). Ces mécanismes, qui se mettent en place rapidement suite à l'activation de la synapse, ne permettent pas d'expliquer à eux seuls le maintien de ces changements à long terme.

III.d – Mécanismes tardifs de maintenance de la PLT et de la DLT

Ainsi, l'expression de la PLT est sous-tendue par des changements fonctionnels et structuraux importants, qui ne peuvent se maintenir dans le temps que grâce à la synthèse de nouvelles protéines. La PKA, la CaMKIV, la protéine kinase M- ζ , la kinase ERK (extracellular signal-regulated kinase), pour ne citer que les principales, initient la synthèse protéique soit localement dans les dendrites à partir d'ARNm déjà synthétisés ou soit en activant une transcription au niveau nucléaire (Alberini and Kandel, 2015). Ces voies sont notamment liées à l'activation de l'*cAMP Response Element Binding* (CREB), dont la phosphorylation joue un rôle clé dans la synthèse de protéines impliquées dans la modification morphologique du neurone (Abel et al., 1997; Kang et al., 2001; Miyashita et al., 2018; Okuno, 2011; Sheng and Greenberg, 1990). Cela va permettre des changements dans les synapses spécifiquement activées, grâce à un transport des protéines et des ARN synthétisés sur les sites spécifiques (Frey and Morris, 1997, 1998). CREB a également un rôle dans la régulation de certains **Gènes d'Activation Précoce** (GAP).

1) Rôle des Gènes d'Activations précoces dans la plasticité à long terme

Les GAP sont des facteurs qui ont plusieurs caractéristiques communes : 1) leur expression est très faible en condition basale (Morgan and Curran, 1989; Sheng and Greenberg, 1990; Steward et al., 2015), 2) Les GAP sont **synthétisés rapidement**, suite à des signaux extracellulaires, induits notamment par l'influx de Ca^{2+} (Morgan and Curran, 1989; Sheng and Greenberg, 1990). Leur augmentation est rapide et transitoire et ils font office de messagers secondaires afin de permettre la transcription de nombreux gènes (Curran and Morgan, 1987) ou la modulation de la mobilité de certaines protéines, par exemple les récepteurs (Chowdhury et al., 2006). 3) Leur synthèse se fait indépendamment de la synthèse de nouvelles protéines, 4) l'ARN messager (ARNm) présent dans le cytoplasme semble avoir une durée de vie très courte (Sheng and Greenberg, 1990). Parmi les GAP impliqués dans les processus de mémorisation, on retrouve notamment les facteurs de transcription **c-fos** et **Zif268** (ou Erg1) et la protéine **Arc** (ou Arg3.1). Ces protéines vont modifier durablement la structure et/ou la fonction du neurone, mécanismes essentiels pour la formation de la mémoire (Barry et al., 2016; Guzowski et al., 2000).

• c-fos

C-Fos est un GAP de la famille des Fos. Il est quasiment indétectable dans les cellules au niveau basal et chez les animaux contrôle (Morgan and Curran, 1989; Sheng and Greenberg, 1990; Zhang et al., 2002). La synthèse de c-fos est initiée rapidement et transitoirement par la voie de signalisation MAPK/ERK, qui à son tour entraîne la phosphorylation de CREB (pCREB - Thomas and Huganir, 2004). pCREB initierait alors la production de nombreuses protéines dans le cytoplasme *via* une interaction avec les ARNm, dont l'ARNm c-fos (Gandolfi et al., 2017; Miyashita et al., 2018; Okuno, 2011; Sheng and Greenberg, 1990 - figure 7). De nombreuses études utilisant différents modèles de stimulation ont montré que 30 minutes suivant l'activation du neurone, il y a un pic du niveau d'ARNm pour la traduction de c-fos dans le cytoplasme (Curran and Franza, 1988; Curran and Morgan, 1987; Guzowski et al., 2001; Morgan and Curran, 1989). Ces ARNm induisent dans les deux heures une augmentation des protéines c-fos, dont l'augmentation persiste jusqu'à 4-5h, (Bojovic et al., 2015; Mugnaini et al., 1989, pour revue Morgan and Curran, 1989), avant d'être dégradé par les protéasomes (Ferrara et al., 2003). Cette cinétique varierait en fonction de la formation ou non d'un hétérodimère et de l'état de phosphorylation de c-fos (Roux et al., 1990). En effet, il a été montré que la phosphorylation de la partie C-terminal de c-fos par les voies MAPK et ERK augmentent sa stabilité et ses capacités de facteur de transcription (Murphy and Blenis, 2006). Une étude pointe cependant l'absence de c-fos dans les cellules gliales, de l'épendyme et endothéliales (Mugnaini et al., 1989). Il semble qu'il soit présent quasiment exclusivement dans le noyau des neurones (Hoffman et al., 1993; Stone et al., 2011). Cela pourrait s'expliquer par le fait que le c-fos nucléaire est plus stable que le c-fos cytoplasmique (Roux et al., 1990), qui ne serait donc plus détectable dans les études, qui se basent pour la plupart sur un temps de latence entre la stimulation et l'euthanasie compris entre 70 minutes et deux heures (Kádár et al., 2016; Stone et al., 2011).

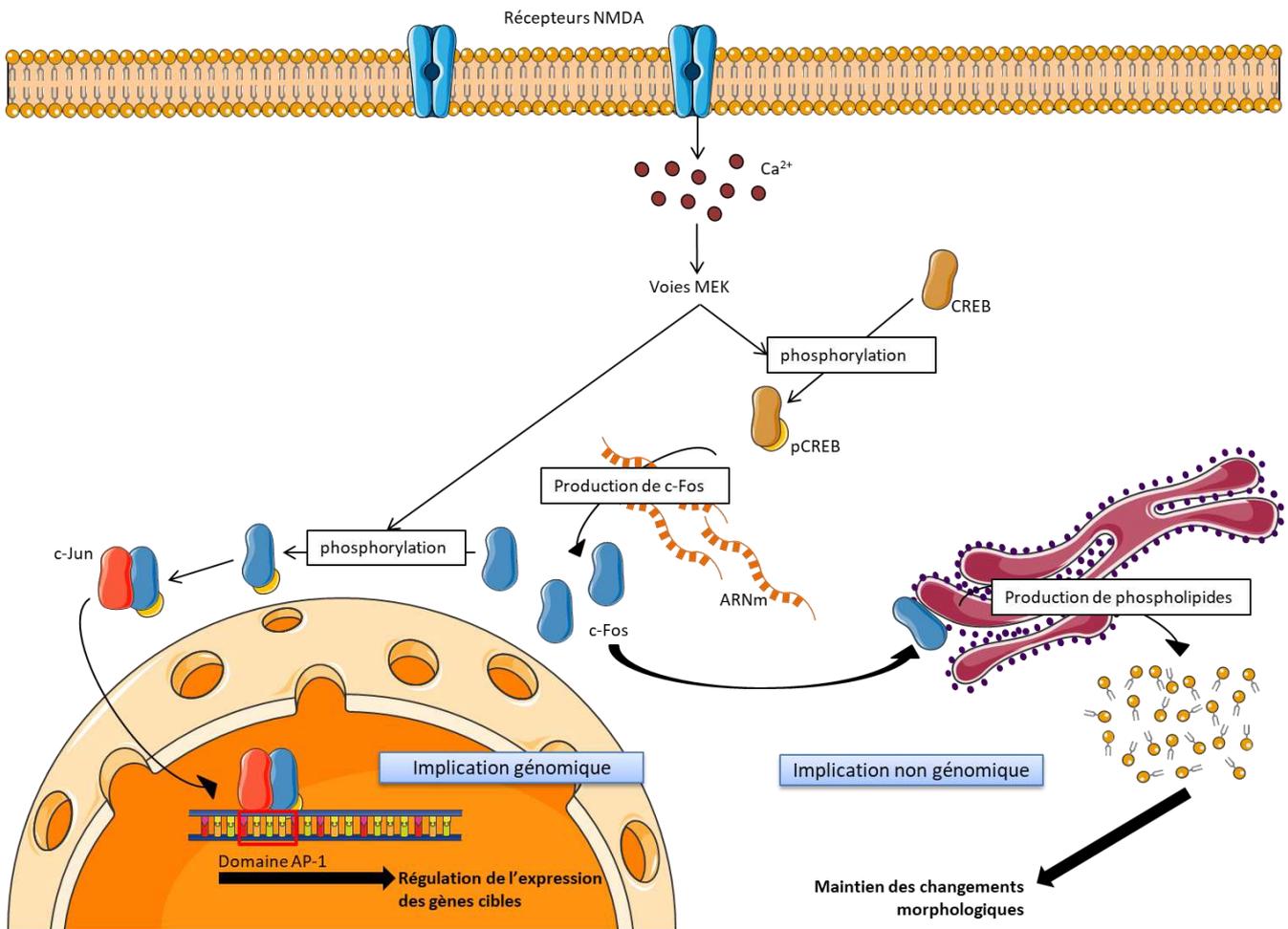


Figure 7 | La stimulation du neurone entraîne la production de c-fos, qui joue un double rôle dans l'initiation et le maintien à long terme des changements synaptiques. Suite à l'activation des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA), l'influx de Ca^{2+} entraîne une phosphorylation des kinases MAPK et ERK (formant la voie de signalisation MEK). La phosphorylation de ERK entraîne celle des protéines CREB (devenues pCREB), qui va alors interagir avec les ARN messagers (ARNm) codant pour c-fos, permettant son augmentation. Cette protéine joue alors un double rôle au sein de la cellule : (1) en tant que facteur de transcription (à gauche sur le schéma), où suite à sa phosphorylation par les mêmes voies MEK. La protéine c-fos phosphorylée se lie alors avec des protéines de la famille des Jun, notamment c-Jun. Ce hétérodimère est alors capable, une fois dans le noyau, de se lier aux sites de liaison Activating Protein-1 (AP1), qui forment la séquence promotrice de nombreux gènes, impliqués notamment dans la plasticité synaptique. (2) En tant qu'activateur cytoplasmique, par liaison avec les réticulums endoplasmiques, c-fos peut alors accélérer la synthèse de phospholipides, qui sont nécessaires à la stabilisation de la membrane du neurone lors de l'apparition ou de la modification des synapses, notamment induites lors de l'apprentissage. Illustré grâce à Servier Medical Art.

c-fos comme facteur de transcription

La régulation de la transcription par c-fos ne peut se faire que lorsqu'il forme un dimère avec une autre protéine. Les protéines de la famille des Fos ne peuvent pas former d'homodimères (Angel and Karin, 1991) mais leurs domaines de liaison leur permettent de former un hétérodimère avec notamment des protéines de la famille des Jun (Kovary and Bravo, 1991). Lorsque c-fos est phosphorylé, par la voie de signalisation ERK (Sanyal et al., 2002), il forme alors le plus souvent un dimère avec c-jun (figure 7 - Kovary and Bravo, 1992). Cette liaison se fait par association du domaine hélicoïdal- α présent sur les deux protéines (Angel and Karin, 1991). Cette région contient sept répétitions de leucine, également appelée zip de Leucine (Curran and Franza, 1988; Gentz et al., 1989), domaine nécessaire pour la liaison à l'ADN et donc pour l'expression des gènes que ce complexe régule. Avec le domaine adjacent, qui est le site de liaison à l'ADN (Basbous et al., 2008; Hoffman et al., 1993), il y a formation du complexe ciblant les sites de liaison

Activating Protein-1 (AP-1 - [Hoffman et al., 1993](#)). Ce site est un élément commun à de nombreux facteurs de transcription (inhibiteurs comme activateurs) et fait partie de la séquence promotrice de nombreux gènes. Il est requis pour l'expression génétique, que ce soit au niveau basal ou induit ([Curran and Franza, 1988](#); [Okuno, 2011](#)). De nombreuses études s'accordent pour dire que le complexe c-fos/c-jun/AP-1 ont clairement un rôle dans la plasticité impliquée dans les processus mnésiques, notamment dans la rétention à long terme ([Abraham et al., 1993](#); [Gandolfi et al., 2017](#); [Guzowski et al., 2001](#); [Jeffery et al., 1990](#); [Katche and Medina, 2017](#); [Katche et al., 2010](#); [Zhang et al., 2002](#)), cependant les mécanismes par lesquels cette protéine agit sur la plasticité synaptique restent à élucider ([Gallo et al., 2018](#)). On sait néanmoins que le complexe AP-1 régule entre autres l'expression de certains gènes impliqués dans la croissance cellulaire, tels que ceux codant pour les collagénases ([Kovary and Bravo, 1992](#)) impliquées dans la régulation structurale, le metallothioneine IIA ([Lee et al., 1987](#)) impliqué dans la synthèse des transporteurs pour l'exocytose de récepteurs, ou les protéines Kinase C (PKC -[Angel and Karin, 1991](#)), agissant sur le trafic des récepteurs AMPA.

Double rôle de c-fos dans les processus mnésiques

La création et le renforcement des connexions au sein des neurones formant les réseaux sous-tendant la mémorisation requiert la synthèse d'une membrane afin de permettre aux dendrites de se créer ou de se restructurer avant de se stabiliser. Ces modifications au niveau de la membrane demandent la néosynthèse massive de nombreux phospholipides par les réticulum endoplasmiques et aux complexes de Golgi. En plus de son activité de facteur de transcription, c-fos jouerait également un rôle d'accélérateur dans ces mécanismes non génomiques (voir revue [Caputto et al., 2014](#)). Sans être indispensable, c-fos permet en effet de faciliter cette synthèse en se liant aux RE afin de déclencher la synthèse de phospholipides (figure 7 - [Bussolino et al., 2001](#); [Portal et al., 2007](#)). Cette association est régulée par l'état de phosphorylation de c-fos. En effet, lorsque la protéine est phosphorylée, cela va favoriser son action génomique, tandis qu'en état déphosphorylé, c-fos va au contraire favoriser son action cytoplasmique ([Caputto et al., 2014](#)).

• Arc

Arc, qui semble être uniquement neuronal ([Bojovic et al., 2015](#)), serait notamment impliqué dans la dynamique du cytosquelette des épines dendritiques ([Bramham et al., 2010](#); [Steward et al., 2015](#)) et dans la régulation du trafic des récepteurs AMPA ([Chowdhury et al., 2006](#)), qui, rappelons-le, sont directement liés au processus de PTL et DLT ([Bliss and Collingridge, 1993](#)), eux-mêmes à la base des processus mnésiques. Découverte dans le milieu des années 90 ([Link et al., 1995](#); [Lyford et al., 1995](#)), il a été démontré que les ARNm Arc synthétisés dans le noyau, sont stockés au niveau des dendrites ([Lyford et al., 1995](#); [Steward et al., 2015](#)). Suite à l'activité synaptique, ces ARNm sont rapidement recrutés spécifiquement dans les dendrites des synapses activées ([Steward et al., 2015](#)) où ils induiront une augmentation de la production des protéines Arc ([Link et al., 1995](#); [Lyford et al., 1995](#)). Ils semblent jouer un rôle clé dans les processus de mémorisation ([Guzowski et al., 2000, 2001](#); [Plath et al., 2006](#)), notamment grâce à son action sur la dynamique des éléments d'actine ([Bramham et al., 2010](#); [Lyford et al., 1995](#)) et seraient donc

directement liés au maintien et à la consolidation de la PLT (Guzowski et al., 2000; pour revue Bramham et al., 2010). Enfin, Arc pourrait même avoir un rôle dans le processus d'étiquetage neuronal (Gouty-Colomer et al., 2016; Okamoto et al., 2009; Okuno et al., 2012).

- Zif268

Zif268 (ou Erg1) est un membre de la famille des *zinc finger*. C'est un facteur de transcription régulant l'expression de nombreux gènes (O'Donovan et al., 1999). Comme Arc et c-fos, Zif268 serait impliqué dans les processus de consolidation (Bozon et al., 2003; Davis et al., 2010; Jones et al., 2001), mais aussi dans le processus de reconsolidation (Lee et al., 2004). Sa cinétique d'activation ressemble à celle de c-fos, mais en diffère dans le sens où son niveau basal est bien plus élevé, offrant la possibilité d'étudier son augmentation et sa diminution dans les structures d'intérêt (Kaczmarek, 1999). Cette propriété singulière a déjà permis de mettre en évidence une expression bidirectionnelle de cette protéine dans le cadre de la consolidation mnésique (Maviel et al., 2004).

Les processus mnésiques ne semblent cependant clairement pas dépendre d'un unique processus cellulaire, mais serait davantage liés à plusieurs composantes de la plasticité synaptique. En effet, selon certains modèles, seule la combinaison de plusieurs formes de plasticité, caractérisées par différents délais d'induction et de persistance, seraient capables d'assurer le stockage à long terme de nos souvenirs (Fusi et al., 2005).

2) De la PLT à la consolidation systémique

Les mécanismes sous-tendant la PLT et la DLT sont aujourd'hui bien documentés. Grâce à la coordination de changements fonctionnels (tel que la redistribution des récepteurs AMPA) et structuraux (tel que l'élargissement des épines dendritiques), la réorganisation des réseaux neuronaux peut être maintenue sur de longues périodes, compatibles avec la formation et le stockage des souvenirs de type associatif. Ainsi, sa rapidité d'induction et sa persistance ont notamment conduit à considérer la PLT comme un mécanisme probable de stockage des souvenirs. Toutefois dans la plupart des conditions expérimentales, la PLT ne se maintient pas au-delà de quelques jours, bien qu'elle puisse plus rarement persister plusieurs semaines selon le type de protocole utilisé et la région cérébrale étudiée (Abraham et al., 1993; Barnes and McNaughton, 1985; Bliss and Gardner-Medwin, 1973; Jeffery et al., 1990; Racine et al., 1983; Staubli and Lynch, 1987). En outre, la durée d'activation des cascades protéiques et le maintien de la PLT ne permettent pas d'expliquer les changements nécessaires pour la rétention de certaines informations pendant des mois, voire des années.

Selon le modèle standard de la consolidation systémique, l'HPC serait impliqué dans le stockage temporaire des souvenirs déclaratifs (Alvarez and Squire, 1994; Squire and Alvarez, 1995) jusqu'à ce que les réseaux corticaux soient suffisamment élaborés et stables pour assurer leur stockage et leur rappel à long terme sans son assistance (McClelland et al., 1995). Ainsi, en accord avec les observations effectuées à l'échelle systémique, il a été proposé par plusieurs modèles computationnels que la PLT hippocampique serait relativement transitoire, supprimée rapidement

afin que le circuit hippocampique puisse encoder de nouvelles informations avec plus d'efficacité (Abraham, 2003), compatibles avec les observations d'un désengagement hippocampique au bénéfice du néocortex au cours de la consolidation systémique.

Par contraste, il a été suggéré que la PLT dans le néocortex serait plus stable, plus résistante à différentes interférences afin de garantir le stockage mnésique à long terme (McClelland et al., 1995; Rolls, 1996). Il y a cependant très peu de résultats sur la persistance de la PLT dépendante des récepteurs NMDA en dehors de l'HPC. Une étude démontre néanmoins que l'induction de la PLT dans le cortex sensorimoteur requiert plusieurs épisodes de stimulation délivrés sur plusieurs jours consécutifs (Racine et al., 1995). Cette PLT, une fois installée, se maintient plusieurs semaines. Une étude plus récente suggère aussi que la PLT corticale se mettrait en place plus lentement que la PLT hippocampique mais serait plus durable (Cooke and Bear, 2010). Ces résultats sont cohérents avec l'idée que le néocortex nécessite plus de temps pour induire des changements synaptiques durables (Marr, 1971; McClelland et al., 1995).

III.e - Implication de la plasticité synaptique hebbienne dans les processus mnésiques

En se basant sur la théorie de Hebb stipulant que les mécanismes permettant la rétention d'informations doivent remplir des critères de « *spécificité* », de « *coopérativité* » et d'« *associativité* » (Hebb, 1949), la plasticité synaptique (se traduisant notamment par la PLT ou la DLT) remplit ces trois critères : 1) ce phénomène **touche spécifiquement les synapses activées**, elle remplit donc le critère de « *spécificité* ». 2) Elle est « *coopérative* », car plusieurs éléments présynaptiques peuvent contribuer simultanément à induire la dépolarisation du neurone post-synaptique pour induire cette PLT. 3) Bliss et Lømo ont démontré qu'une salve de stimulations électriques à haute fréquence appliquée sur la collatérale de Schaffer de l'HPC produit une PLT dépendante de l'activation des récepteurs NMDA (Bliss and Lømo, 1973). Elle est donc « *associative* » car **elle requiert une activation concomitante des éléments pré- et post-synaptiques**. Ces caractéristiques se justifieraient en grande partie par les propriétés des récepteurs NMDA, dont l'activation est essentielle à l'induction de cette forme hebbienne de plasticité synaptique. Cependant le fait que la PLT présente des caractéristiques en relation avec les processus mnésiques ne prouve pas pour autant qu'elle intervienne réellement dans le stockage mnésique dans les conditions *in vivo*.

En 2000, l'équipe de Richard Morris (Martin et al., 2000) proposèrent une évaluation rigoureuse de cette hypothèse sur la base de quatre critères : 1) la corrélation : si l'animal exprime la mémoire d'un événement ou d'une expérience passée, des changements dans la force des connexions synaptiques devraient être détectés dans le système nerveux central. 2) L'altération antérograde : des manipulations (physiologiques, pharmacologiques, ou génétiques, etc.) modulant ces changements synaptiques avant ou durant l'apprentissage d'un événement devraient bloquer ou améliorer la formation de la mémoire de cet événement. 3) L'altération rétrograde : des manipulations qui altèrent les changements synaptiques induits par l'apprentissage antérieur d'un événement devraient perturber la mémoire de cet événement.

L'imitation : si la mémoire repose sur des changements synaptiques au sein d'un réseau neuronal spécifique, la création artificielle de changements synaptiques similaires au sein d'un tel réseau devrait conduire à la création d'une « mémoire artificielle » d'un événement passé inexistant ou non soumis à un apprentissage. Une étude récente de l'équipe de Karim Benchenane parvient à mettre en évidence ce critère, en tirant avantage de l'activité spontanée des cellules de lieu de l'hippocampe (de Lavilléon et al., 2015). L'équipe utilise en effet une technique de stimulation intracrânienne du circuit de la récompense permettant un jumelage des signaux des cellules de lieu de l'hippocampe dans le cadre d'une tâche de *place preference*. En associant artificiellement ces deux voies, l'équipe induit la création d'une trace mnésique et du comportement associé lors du test.

Depuis ces deux dernières décennies, le développement de nouveaux outils innovants a ainsi permis de démontrer que les changements dans la force des connexions synaptiques est un mécanisme majeur par lequel la mémoire est encodée et stockée dans le cerveau.

1) *Corrélations*

Afin de mettre en évidence la corrélation entre mémoire et PLT/DLT, l'équipe de Mark Bear a combiné chez le rat une tâche d'évitement passif à des enregistrements *in vivo* de potentiels de champs excitateurs (fEPSP) via un système de multi-électrodes implantées dans le champs CA1 de l'HPC (Whitlock et al., 2006). Les auteurs démontrent qu'un apprentissage en un seul essai de l'évitement passif produit une augmentation de l'amplitude des fEPSP dans CA1. Cette amélioration de la transmission synaptique est restreinte à seulement une partie des sites d'enregistrement, renforçant l'idée que la trace mnésique est portée par un sous-ensemble distribué de neurones associés en réseaux. De plus, la PLT induite par stimulation haute fréquence est altérée uniquement au niveau des électrodes ayant précédemment enregistré une potentialisation des fEPSP suite à l'évitement passif, révélant une occlusion de la PLT induite par stimulation haute fréquence par la potentialisation synaptique d'ores et déjà induite par l'apprentissage. Les auteurs concluent que l'apprentissage de l'évitement passif induit une PLT dans la région CA1.

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

Par ailleurs, la détection de marqueurs moléculaires ou structuraux associés à la PLT ou à la DLT a aussi constitué une bonne méthode pour déterminer si l'apprentissage peut induire la PLT/DLT. Ainsi, Whitlock et al. démontrent que l'apprentissage de l'évitement passif conduit à une augmentation de l'expression synaptique et de l'état de phosphorylation des récepteurs AMPA, dans des proportions similaires à celles observées suite à induction de la PLT par stimulation haute fréquence (Whitlock et al., 2006). Une autre équipe démontre que le conditionnement de peur au son conduit à l'incorporation synaptique de nouveaux récepteurs AMPA au sein des neurones post-synaptiques de l'amygdale latérale. Ce trafic de récepteurs AMPA induit par l'apprentissage n'est pas un phénomène observé sur l'ensemble du neurone mais est restreint à un sous-ensemble de synapses (Rumpel et al., 2005), en accord avec l'idée de la formation d'assemblées neuronales.

2) Altération antérograde

Les premières études modulant les changements synaptiques dans le cadre d'un apprentissage ont été réalisées par l'équipe de Richard Morris. Les auteurs démontrent que comme la PLT *in vivo*, les performances mnésiques dans un test de mémoire spatiale sont sensibles à l'AP5, un antagoniste des récepteurs NMDA (Morris et al., 1986). De façon similaire, le blocage pharmacologique des récepteurs NMDA semble altérer la stabilité des champs récepteurs des cellules de lieu hippocampiques (Kentros et al., 1998). Ces résultats ont ainsi été parmi les premiers à fournir un lien de causalité entre l'activation des récepteurs NMDA, la PLT, la stabilité des champs récepteurs et la mémoire spatiale à long terme. Ce travail a été suivi par tout un ensemble d'autres études pharmacologiques utilisant différents paradigmes comportementaux et révélant que l'inactivation des récepteurs NMDA par l'AP-5 affecte l'induction de la PLT avec un effet dose-réponse corrélé aux déficits mnésiques observés (Davis et al., 1992; Morris, 2013).

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

L'équipe de Susumu Tonegawa a montré que des souris KO pour la sous unité GluN1 des récepteurs NMDA ont un déficit prononcé de la PLT et de la DLT dans la région CA1 (McHugh et al., 1996) et présentent un déficit de mémoire spatiale testée en piscine de Morris (Huerta et al., 2000; Tsien et al., 1996). De façon intéressante, ces souris KO conditionnelles pour la sous-unité GluN1 ne présentaient pas d'altération significative du nombre d'épines dendritiques ou de leur forme (Rampon et al., 2000; Shimizu, 2000) révélant une absence de perte de synapses. Elles présentent un déficit mnésique sévère dans trois autres tâches hippocampo-dépendantes mais non spatiales : dans un test de reconnaissance du nouvel objet, un test de transmission sociale de la préférence alimentaire et un test de conditionnement de peur au contexte (Rampon et al., 2000). **Ces résultats ont apporté la preuve que les récepteurs NMDA et la PLT dans la région CA1 sont essentiels à la formation d'une mémoire spatiale.** De façon intéressante, une étude plus

récente démontre l'aspect critique du mécanisme d'allocation dans les processus de mémorisation, en mettant en évidence que pour la trace mnésique, les mécanismes de compensation ne peuvent pas se mettre en place à l'échelle synaptique (Matsuo, 2015).

En complément des études utilisant des souris KO pour les récepteurs au glutamate, un grand nombre de lignées transgéniques portent des mutations de gènes codant pour la grande diversité de protéines participant à la machinerie post-synaptique ou diverses voies de signalisation intracellulaire. Ceci inclut des protéines d'échafaudage de la densité post-synaptique dont les protéines MAGUK (*membrane associated guanylate kinases*) comme la PSD-95 (Xu, 2011), des protéines kinases et phosphatases (Lisman et al., 2012; Mansuy and Shenolikar, 2006; Peng et al., 2010), des protéines motrices (Yin et al., 2011), des régulateurs épigénétiques (Day and Sweatt, 2011), des régulateurs traductionnels (Costa-Mattioli et al., 2009), et des GAP tels que Arc ou c-fos (Loeblich and Nedivi, 2009). La délétion de ces gènes conduit dans la grande majorité des cas à un déficit de plasticité synaptique, lui-même le plus souvent associé à un déficit mnésique. Cependant ce constat n'est pas systématique (voir par exemple Migaud et al., 1998) et la relation entre plasticité synaptique et processus mnésique reste un domaine d'investigation complexe.

3) Altération rétrograde

L'altération des changements synaptiques mis en place durant la consolidation mnésique devrait interférer avec la rétention de souvenirs anciens, puisque la PLT peut persister pendant plusieurs mois (Abraham et al., 2002). L'un des axes de recherche de ces deux dernières décennies était de comprendre par quels processus cette maintenance est rendue possible. Des études ont montré que la phosphorylation de la protéine kinase Mzeta (PKM ζ), une isoforme atypique de la PKC, est nécessaire et suffisante pour la maintenance de la PLT et de la mémoire à long terme (pour revue Sacktor, 2011). L'inhibition de cette activité réverse la PLT *in vitro* et *in vivo* (Ling et al., 2002; Pastalkova, 2006) et supprime les souvenirs acquis dans de nombreux paradigmes d'apprentissage spatiaux et non spatiaux (Pastalkova, 2006; Serrano et al., 2008; Shema et al., 2007). Cependant, des études menées sur des lignées de souris KO pour la PKM ζ ont révélé que ni la transmission synaptique, ni la PLT dans le CA1, ni les performances mnésiques dans plusieurs tâches hippocampo-dépendantes ne sont altérées (Lee et al., 2013; Melnikova et al., 2013; Volk et al., 2013). La PKM ζ ne serait donc pas nécessaire à la maintenance de la PLT hippocampique, ni au stockage mnésique. Néanmoins, la surexpression de PKM ζ facilite la transmission synaptique en augmentant l'expression synaptique des récepteurs AMPA (Ling et al., 2002, 2006) et peut également améliorer les capacités de rétention mnésique (Hardt et al., 2010; Shema et al., 2011), notamment en régulant le trafic des récepteurs AMPA contenant la sous-unité GluA2 (Migues et al., 2010). Ceci témoigne de ce que sous certaines conditions, la PKM ζ régulerait la maintenance de la plasticité synaptique et de la mémoire.

La CaMKII serait également impliquée dans les processus de maintenance de la PLT. Par exemple, le blocage de l'interaction entre la CaMKII et les récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN2B réverse la PLT hippocampique *in vitro* (Sanhueza et al., 2011). En accord avec le rôle du complexe récepteurs NMDA/CaMKII dans la maintenance de la PLT, bloquer la formation de ce

complexe perturbe la consolidation mnésique d'informations spatiales (Halt et al., 2012; Stein et al., 2014; Zhou et al., 2007).

Le lien entre le trafic de récepteurs AMPA et les processus mnésiques a également été mis en évidence. En effet, il a été démontré que l'inhibition de l'endocytose des récepteurs AMPA empêche le déclin de la PLT au cours du temps et prolonge la rétention de la mémoire. À l'inverse, restaurer cette endocytose affaiblit la PLT et conduit à l'oubli des souvenirs générés dans plusieurs tâches hippocampo-dépendantes (Dong et al., 2015). Il y aurait plusieurs processus cellulaires participant à l'endocytose des récepteurs AMPA (notamment ceux contenant la sous-unité GluA2) et conduisant *via* ce mécanisme à la diminution de la PLT corrélée à un oubli de la mémoire à long terme (Hardt et al., 2013).

Plusieurs décennies après leur découverte, l'accumulation des connaissances actuelles révèle que la PLT et la DLT sont cruciales pour la création et le stockage de nouvelles traces mnésiques. Il est cependant nécessaire de garder à l'esprit qu'une forme de plasticité synaptique telle que la PLT ne constitue certainement qu'une composante de la plasticité synaptique sous-tendant la formation et le stockage de la mémoire dans les différentes régions cérébrales. En outre, la durée d'activation des cascades protéiques à l'origine de la PLT ne permet pas d'expliquer les changements qui s'opèrent à long terme, telle que la consolidation au niveau systémique, ou la rétention de certaines informations pendant des mois, voire des années. Ainsi, les changements induits par l'activation des cascades moléculaires déclenchées lors de l'acquisition, doivent être renforcés et maintenus dans le temps.

III.f - Plasticité corticale au cours de la consolidation à long terme

Il est aujourd'hui largement accepté que l'organisation et le stockage des traces mnésiques se fait à travers un réseau distribué de neurones néocorticaux. Au cours du processus de consolidation mnésique, la trace mnésique semble devenir progressivement moins dépendante de l'HPC, au profit du néocortex (Dudai, 2004; Dudai and Eisenberg, 2004; Frankland and Bontempi, 2005; Lesburgueres et al., 2011; McClelland et al., 1995; Squire et al., 2015). Cette réorganisation de la trace mnésique à l'échelle systémique serait dépendante de mécanismes synaptiques permettant sa stabilisation au niveau cortical (Deisseroth et al., 1995; Kitamura et al., 2017; Sutherland and Lehmann, 2011; Sutherland et al., 2008; Tonegawa et al., 2018). Dans ces sens, l'équipe de Paul Frankland a mené des études sur des souris KO pour la CaMKII α . Ces souris présentaient une altération spécifique de la PLT corticale, associée à une plasticité hippocampique tout à fait normale. Par ailleurs, elles manifestaient une bonne mémoire récente (1 à 3 jours) en piscine de Morris et suite à un conditionnement de peur au contexte. En revanche, leur mémoire était très altérée après des délais de rétention plus longs (de 10 à 50 jours - Frankland et al., 2001). De même, des souris transgéniques dominantes-négatives PAK (p21-activating kinase), dont l'activité catalytique de PAK, un régulateur du remodelage de l'actine, est inhibée, présentent des déficits spécifiques de mémoire spatiale à long terme (21 jours) en piscine de Morris, alors que l'acquisition et le rappel de l'information après un délai court (1 jour) sont intacts (Hayashi et al., 2004). Ainsi, tandis qu'il n'y a pas de perturbation de la PLT hippocampique ni de perturbation

mnésique à court terme, il est possible d'observer une déficience de la PLT corticale associée à un déficit de consolidation à long terme. Afin d'identifier les mécanismes participant à la réorganisation du réseau cortical supportant la mémoire ancienne, l'équipe de Takehara-Nishiuchi s'est intéressée aux récepteurs NMDA du CPFm (Takehara-Nishiuchi, 2006). Les auteurs ont ainsi montré que des injections chroniques de l'antagoniste AP-5 dans le CPFm durant les deux premières semaines après l'acquisition altèrent sévèrement la consolidation de la mémoire dans une tâche de conditionnement de clignement de la paupière chez le rat, alors que le blocage de ces récepteurs dans une période plus tardive (3 à 4 semaines après l'acquisition) n'avait aucun effet sur la consolidation. Ces résultats suggèrent donc que l'activation des récepteurs NMDA du CPFm durant les deux premières semaines post-acquisition est cruciale pour la maturation progressive de la mémoire à long terme (6 semaines après l'acquisition).

Ainsi, il semble que les processus moléculaires sous-tendant l'établissement des traces mnésiques corticales partagent certaines propriétés avec ceux qui sous-tendent la plasticité synaptique hippocampique induite par l'expérience. De plus, la plasticité synaptique corticale est nécessaire à l'établissement d'une mémoire à long terme et ce dès l'achèvement du processus d'acquisition. De nombreuses études semblent indiquer que le rôle clé de la plasticité corticale semble apparaître tardivement (Frankland et al., 2001; Hayashi et al., 2004; Wiltgen et al., 2004), bien que de récentes données aient démontré que le processus précoce d'étiquetage cortical repose sur des mécanismes de plasticité corticale dépendants de l'activation des récepteurs NMDA (Lesburgueres et al., 2011). Ces données illustrent la lenteur des processus de stabilisation de la trace au niveau néocortical et la nécessité de la contribution du système hippocampique durant la maturation du réseau cortical.

III.g – Implication de la réactivation durant la consolidation et le stockage mnésique

L'une des caractéristiques essentielles de la mémoire est sa persistance dans le temps. Il semble donc que la plasticité corticale soit nécessaire à l'établissement d'une mémoire à long terme, la plasticité synaptique ne pouvant à elle seule permettre la rétention d'une information pendant des mois, voire des années. En effet, comme mentionné précédemment, la consolidation se déroule sur une échelle de temps, de plusieurs semaines chez les rongeurs (Anagnostaras et al., 1999; Kim and Fanselow, 1992), à plusieurs mois et même années chez l'Homme (Haist et al., 2001; Squire et al., 1989), donc incompatibles avec la durée de la plupart des événements moléculaires (quelques heures ou jours). De plus, la structure et la composition moléculaires des synapses ne sont pas fixes ; les récepteurs synaptiques et autres protéines sont fréquemment recyclés lors d'un *turnover* métabolique. Par exemple, les récepteurs NMDA contenant la sous-unité GluN1 dans la membrane synaptique sont dégradés 5 jours après leur synthèse dans le cerveau de souris (Shimizu, 2000).

Ainsi, le *turnover* métabolique des protéines synaptiques interroge sur la capacité des synapses à maintenir leur fonction et leur stabilité pour garantir le stockage mnésique (Wittenberg and Tsien, 2002). En 2002, Gayle Wittenberg et Joe Tsien ont proposé un modèle théorique basé sur la

réactivation des récepteurs NMDA hippocampiques et corticaux (Wittenberg and Tsien, 2002; Wittenberg et al., 2002). Ce modèle, décrit sous le terme de « *synaptic reentry reinforcement* (SRR) », postule que **la consolidation requière plusieurs réactivations successives au niveau synaptique, permettant de maintenir et de renforcer les changements initialement induits au sein des réseaux spécifiquement activés lors de la tâche**, de façon à empêcher une potentielle déstabilisation synaptique induite par le *turnover* métabolique des récepteurs synaptiques (Shimizu, 2000; Wittenberg and Tsien, 2002). Cette théorie se base sur **le phénomène de « replay »**, découvert à la fin des années 90 (Skaggs and McNaughton, 1996), qui serait un phénomène de réactivations des voies intracellulaires de signalisation initiées par les réactivations concomitantes des récepteurs NMDA corticaux et hippocampiques. Durant cette période, l'HPC agirait comme un régénérateur de l'activité synaptique au niveau cortical. Par ce mécanisme, les neurones corticaux ayant précédemment encodés les différents paramètres d'un événement (autrement dit encodant la trace mnésique) seraient réactivés simultanément renforçant durablement leurs connexions, garantissant ainsi la stabilisation du souvenir au niveau du cortex. Dans leur modèle computationnel SRR, les auteurs ont testé la capacité du cortex à récupérer la trace mnésique en l'absence de signaux de réactivation hippocampique. Ils ont montré que l'inactivation virtuelle des récepteurs NMDA hippocampiques dans la période qui suit l'acquisition, empêche le renforcement des connexions cortico-corticales et la récupération de la trace mnésique. En revanche, au bout de plusieurs séquences de réactivation hippocampique, le blocage virtuel de l'activité des récepteurs NMDA dans l'HPC n'a aucun effet, indiquant que la trace corticale est suffisamment renforcée et donc consolidée.

Ces changements locaux seraient alors une base à des changements plus globaux. En effet, il a été montré que plusieurs vagues successives de consolidation synaptique au sein des circuits locaux recrutés pour prendre en charge les nouvelles informations étaient à l'origine de la consolidation systémique (Atherton et al., 2015; Foster, 2017; O'Keefe and Dostrovsky, 1971; O'Neill et al., 2010). La consolidation synaptique serait alors vue comme une « *consolidation initiale* » (Takeuchi et al., 2014) nécessaire pour la stabilisation initiale des souvenirs au sein des circuits hippocampiques. Toute perturbation de la consolidation synaptique va bloquer le processus mnésique (Deisseroth et al., 1995; Lisman et al., 2018; Rumpel et al., 2005). La contribution de l'HPC serait alors nécessaire le temps de la maturation de la trace mnésique au niveau cortical, qui serait alors dépendante d'une consolidation à plus grande échelle ; la consolidation systémique.

IV. Consolidation systémique

La consolidation systémique se caractérise par une réorganisation des circuits cérébraux participant à la formation de la mémoire à long terme au cours du temps (Frankland and Bontempi, 2005; Squire and Alvarez, 1995). Ce processus de consolidation systémique est nécessaire à la rétention d'une l'information à long terme. Elle va nécessiter des changements dans la connectivité de différentes aires cérébrales Afin de mieux appréhender les réorganisations

dans la connectivité cérébrale nécessaire à la consolidation synaptique, nous allons dans un premier rappeler quelques notions fondamentales sur la connectivité des réseaux neuronaux.

IV.a – Quelques notions de connectivité

Si la théorie réticulariste du XIX^e siècle prônait l'idée d'un cerveau homogène, il a été montré depuis que le cerveau est organisé fonctionnellement et structurellement selon un schéma bien précis. Non seulement le cerveau est divisé en structures cérébrales qui semblent assurer des fonctions précises, bien que sujet à une adaptation perpétuelle, notamment en cas de lésion, mais en plus, il a été montré que ces structures communiquent avec une organisation très spécifique.

1) *Les connectivités cérébrales*

On peut définir trois niveaux de connectivité :

- La connectivité structurelle ou anatomique

Le cerveau est constitué de différents réseaux neuronaux, certains très locaux, (Alexandre, 2013; He et al., 2007) qui permettent un échange local et rapide des informations, et certains avec des connexions plus longues, permettant une communication rapide avec les aires corticales plus éloignées. Il semble également qu'il existe des aires corticales ayant une densité de connexion très importante avec de multiples autres régions cérébrales, suggérant que ces régions jouent un rôle de nœud fonctionnel (Hilgetag et al., 2000). Il existe aujourd'hui de nombreuses techniques permettant de révéler les connexions inter-structures, notamment en utilisant des virus (par exemple les Adéno ou herpès virus) codant pour une molécule fluorescente et qui permettent l'expression de cette molécule dans le neurone (Kitamura et al., 2017; Loureiro et al., 2019; Rajasethupathy et al., 2015), ou bien des traceurs rétrogrades (par exemple l'unité B de la toxine du choléra), ou antérogrades (par exemple le *biotinylated dextran* ou *Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin*) permettant de révéler les projections que la structure infectée reçoit ou projette respectivement (Amaral et al., 1991; Hoover and Vertes, 2007, 2011; Kondo and Witter, 2014).

- La connectivité fonctionnelle

La connectivité fonctionnelle mesure la dépendance statistique entre les activations neuronales de différentes régions. Ainsi par exemple la fonction fondamentale des aires corticales est de permettre un traitement rapide, efficace et adapté des informations entrantes somato-sensorielles afin de permettre une réponse (comportement) adaptative aux changements de l'environnement. Dans ce sens, les structures interagissent dans le but de rendre ce processus toujours plus efficace, en accord avec les principes hebbiens. Lors de l'apprentissage, le réseau fonctionnel s'orienterait alors vers la formation d'un réseau dit « *sans échelle* », c'est-à-dire un réseau dont la distribution se fait en fonction du degré de connectivité entre les neurones et non de la proximité (Barabasi and Albert, 1999). Ce réseau ainsi formé serait alors capable de réaliser certaines fonctions plus rapidement en centralisant certaines ressources (Alexandre, 2013), permettant un traitement plus efficace des informations (pour revue, voir Friston, 2011).

- La connectivité effective

La connectivité effective mesure les interactions causales relatives à une tâche et à des flux d'informations. L'étude de cette connectivité permet de mieux comprendre l'organisation des échanges d'informations entre les structures cérébrales au cours de tâches cognitives. Ces études ont été menées principalement chez l'Homme par des approches d'électroencéphalographie ou d'IRM fonctionnel (afin de localiser l'activation des régions) et parfois couplées à de la stimulation magnétique transcrânienne permettant de perturber l'activité de réseau cible lors de l'exécution d'une tâche puis d'en observer les conséquences (Alexandre, 2013).

2) Neuroanatomie des grands systèmes du traitement de l'information

Basé sur les analyses de connectivité, de grands systèmes ont été décrits :

- Le système des boucles réentrantes

Des études anatomiques et computationnelles des voies cérébrales ont permis de mettre en évidence trois axes principaux, ou « autoroutes » de communication entre les aires cérébrales (figure 8 - Edelman, 2004). 1) Le système thalamocortical, qui est constitué de groupes de neurones étroitement connectés, reliés à la fois de façon locale et distante par d'abondantes connexions réciproques. Ce maillage dense de connexions de longues distances et réentrantes entre le système limbique et les différentes aires corticales permet une communication à double sens rapide et efficace. 2) La structure polysynaptique, qui est constituée de boucles des circuits inhibiteurs qui relient le néocortex aux structures du système limbique. En général, ces boucles ne sont pas réentrantes. 3) De nombreux « systèmes de valeur », qui sont des projections ascendantes très développées de fibres du *locus coeruleus* vers toutes les aires du cerveau.

- La théorie du « Multiple Parallel Memory Systems »

De façon similaire, Norman White et Robert McDonald proposent l'existence de trois systèmes principaux définis par le type d'associations qu'ils effectuent (White and McDonald, 2002) : 1) le système hippocampique, gérant les associations stimulus-stimulus, et permettant d'associer des cartes spatiales liées au contexte à des événements particuliers ayant lieu dans ce contexte. 2) Le système striatal, qui associe un stimulus (un indice, etc.) à une réponse motrice (se diriger vers la plateforme, etc.) par association stimulus-réponse. La contiguïté temporelle entre le stimulus et le renforcement est cruciale lors de l'établissement de l'association. 3) Le système amygdalien associant un stimulus à un renforcement. L'amygdale met en relation un état émotionnel avec des événements se produisant au même moment. Ici, le renforcement est primordial, sans quoi il se produira un phénomène d'extinction. Selon la théorie « Multiple Parallel Memory Systems » de White et McDonald, ces trois principaux systèmes sont activés en même temps au cours de l'apprentissage, permettant l'encodage des trois modes d'association (White and McDonald, 2002). La sélection du système principal impliqué dans la réponse se ferait *a posteriori*, en évaluant quel type d'association est le plus pertinent. Cette hypothèse est appuyée par de nombreuses études révélant une forte connectivité anatomique liant ces trois systèmes principaux (Packard and McGaugh, 1996; Poldrack and Packard, 2003; White and McDonald, 1993; White and

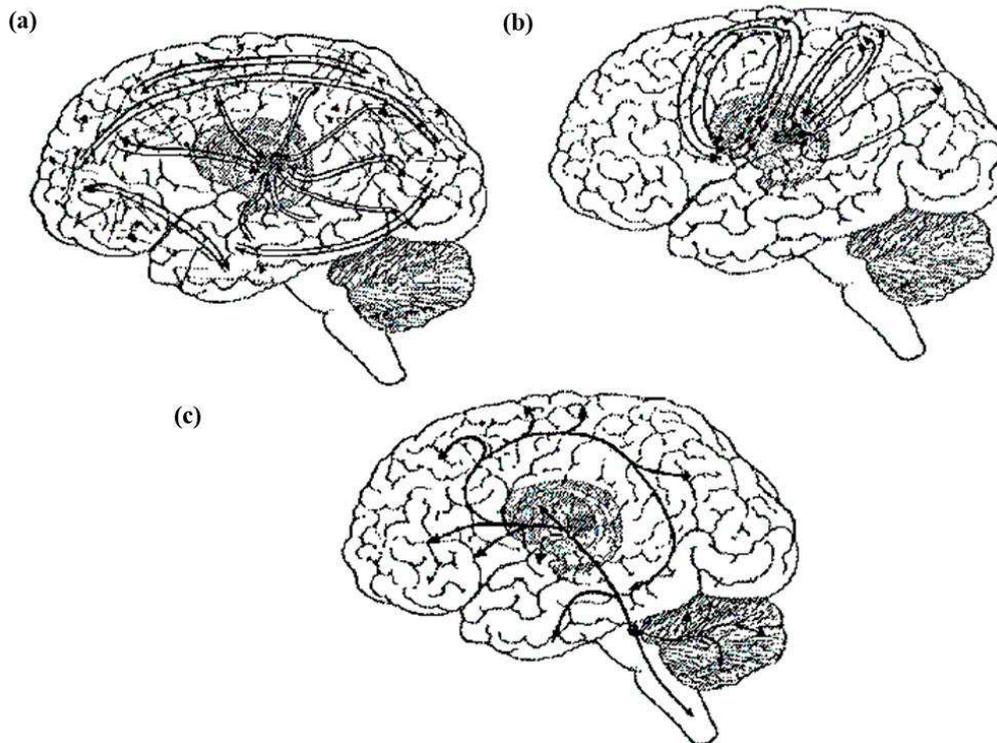


Figure 8 | Configuration fondamentale des trois sortes de systèmes neuroanatomiques du cerveau.
 (a) Illustration du maillage de connexions denses du système thalamocortical. (b) Illustration des boucles polysynaptiques, qui relient le cortex aux structures du système limbique. (c) Exemple d'un « système de valeur » qui consiste en des projections de fibres du *locus coeruleus* vers toutes les aires du cerveau.
 Adapté d'Edelman, 2004.

McDonald, 2002). Selon les auteurs, bien que leurs fonctions soient distinctes, ces systèmes interagiraient au cours des apprentissages associatifs, soit par coopération, soit en compétition.

3) Nature des relations entre les systèmes de mémoire

Les études à la fois cliniques et expérimentales décrites dans cette introduction (*cf.* section B, p.9-17), montrant une perte sélective des capacités mnésiques spécifiques suite à des lésions cérébrales locales, mettent en évidence l'existence de plusieurs systèmes de mémoire distincts, sous-tendus par des structures cérébrales différentes (figure 1). Afin de produire une réponse adaptée à une situation donnée, la relation qu'il y a entre ces différents systèmes peut être de plusieurs natures. Il existerait ainsi trois types différents de relations entre les systèmes (Jaffard and Meunier, 1993; Poldrack and Packard, 2003; White and McDonald, 2002) : **l'indépendance, la synergie ou, la compétition.**

Il a été possible de mieux comprendre la nature de ces relations en étudiant les effets induits par la perturbation du fonctionnement d'un système (par des approches pharmacologiques, pharmacogénétique optogénétique ou lésionnelle) sur les capacités d'acquisition sous-tendues par un autre système (pour revue Kim and Baxter, 2001). Lorsque deux systèmes sont indépendants, une inactivation ou une lésion de l'un perturbera l'exécution des fonctions qu'il soutient, mais n'aura aucun effet sur les fonctions de l'autre système (Olton, 1991). Au contraire, lorsque ces systèmes interagissent en synergie au cours d'une tâche d'apprentissage, alors la lésion d'un des systèmes va affecter le fonctionnement de l'autre (Devan et al., 1999; Morris et al., 1982;

Whishaw et al., 1987). Ce mécanisme a été mis en évidence dans la tâche de la piscine de Morris chez le rat. En effet, une lésion du striatum ou de l'HPC perturbe l'acquisition et induit la mise en place de stratégies de rappel différentes en fonction de la structure lésée: les rats lésés au niveau de l'HPC utiliseraient préférentiellement une stratégie « indiquée », alors que ceux lésés au niveau du striatum favorisent la mise en place d'une stratégie spatiale (McDonald and White, 1994). Une autre étude s'intéressant au phénomène de généralisation d'un souvenir de peur met également ce mécanisme en évidence (Bian et al., 2019). En effet, l'inhibition d'une voie reliant l'HPC ventral au cortex cingulaire antérieur perturbe ce phénomène et permet un rappel plus précis du souvenir, alors que selon cette même étude, le rappel précis d'un souvenir semble naturellement sous-tendu par l'HPC dorsal. Le dernier type de relation fait référence à la notion d'antagonisme fonctionnel entre deux structures. D'après cette théorie, lorsqu'un apprentissage sollicite deux structures compétitives, l'inhibition de l'une favorise le fonctionnement de l'autre. Il a par exemple été démontré que des lésions de l'HPC peuvent faciliter l'acquisition de certains apprentissages qui semblent dépendre du striatum et de l'amygdale (McDonald and White, 1994; White and McDonald, 1993). Ces différents mécanismes relationnels dépendraient directement du contexte et de la tâche cognitive considérée (Kim and Baxter, 2001).

4) Conclusions

Ainsi, les différentes aires corticales sont connectées et interagissent de façon bien spécifique. Les vastes « autoroutes » de connexions axonales permettent de connecter le système limbique au reste du néocortex. Il est possible que ce soit par ces longues voies que les structures du lobe temporal médian, et notamment l'HPC, soient en communication avec les aires néocorticales au cours du processus de consolidation. Au cours de ce processus, il semble que ce soit une relation d'interdépendance qui se met en place entre le lobe temporal médian et le néocortex. Les deux zones vont en effet agir en synergie pour permettre la consolidation de la trace mnésique et son stockage au niveau cortical. La façon dont cette trace est consolidée et la nature de l'implication des structures concernées sont sujettes à de nombreux débats. Nous allons, dans les prochaines parties, faire un bilan de l'implication de l'HPC et du néocortex dans le processus de consolidation mnésique.

IV.b - Les différents rôles de l'hippocampe dans la consolidation mnésiques

1) L'Hippocampe dans le stockage des index et l'étiquetage cortical

Lors de l'apprentissage, l'information à stocker est multimodale et nécessite le traitement de plusieurs aspects (visuel, olfactif, spatial, émotionnel, social, temporel, sémantique...). Cependant, si l'on se base sur la connectivité des systèmes (Edelman, 2004; White and McDonald, 2002), les aires néocorticales activées auraient une connectivité entre elles trop éparsée pour mettre en place seule l'association des modalités et le stockage de cette association (Rolls and Kesner, 2006; pour revue, voir Morris, 2006). En effet pour mettre en place une telle association, il faut une structure ayant de nombreuses connexions réciproques avec les aires néocorticales capable de réaliser le

traitement de l'information. C'est pourquoi l'HPC, par le système des boucles réentrantes, a rapidement semblé être le candidat idéal (Eichenbaum, 2000). L'HPC serait le point de convergence anatomique qui confère à l'information reçue un niveau d'intégration très élevé (Edelman, 2004; Lavenex and Amaral, 2000). En s'appuyant sur ces propriétés anatomo-fonctionnelles, Timothy Teyler et Pascal DiScenna ont élaboré la théorie de l'index hippocampique (Teyler and DiScenna, 1986). Selon cette théorie, **l'encodage des différentes modalités d'une information entraîne une activation spécifique de certains neurones dans les aires corticales impliquées dans le traitement de ces modalités. Ces schémas d'activation seraient alors indexés par l'HPC, qui stockerait ces « adresses corticales » des informations encodées** (Teyler and Rudy, 2007).

L'indexation de ces assemblées neuronales se ferait par l'étiquetage cortical. En effet, il a par exemple été montré que le recrutement des neurones du **Cortex Orbitofrontal (COF), crucial pour la stabilisation à long terme d'un souvenir d'une Tâche de Transmission Sociale de la Préférence Alimentaire (TSPA)** chez le rat, se fait dès l'encodage (Lesburgueres et al., 2011). En effet, l'inactivation pharmacologique de l'activité des neurones du COF au moment de l'acquisition bloque la plasticité structurale et perturbe le rappel de la MLT. L'étiquetage du COF au moment de l'acquisition apparaît alors comme un processus nécessaire dans l'initiation du dialogue hippocampo-cortical, et dans la stabilisation à long terme d'une mémoire olfactive associative. Au contraire, cette inactivation n'a aucun effet sur la MCT. Des résultats similaires ont été mis en évidence pour le CPFm pour l'apprentissage par la peur au contexte (Kitamura et al., 2017). Ces résultats mettent en évidence que l'assemblée neuronale sous-tendant le souvenir dans le cortex n'est pas encore suffisamment mature en période précoce pour assurer seule la récupération de la trace mnésique, mais que les mécanismes sous-tendant la consolidation systémique sont initiés dès l'encodage.

2) Renforcement de la trace mnésique

Il est maintenant bien admis que le processus de consolidation systémique nécessite une « communication » prolongée, mais transitoire, entre l'HPC et le néocortex (Alvarez and Squire, 1994; Lesburgueres et al., 2011; Marr, 1971; Squire and Alvarez, 1995; Wang et al., 2006; Wiltgen et al., 2004) et que ce dialogue hippocampo-cortical est crucial pour le remodelage et la rétention à long terme de la trace mnésique (Wittenberg and Tsien, 2002). En effet, comme nous l'avons vu lors de la présentation de la théorie standard de la consolidation (cf. partie D. III.g, p.47), c'est par un phénomène de « *replay* » (Skaggs and McNaughton, 1996; Axmacher et al., 2006; Drieu and Zugaro, 2019; Kentros, 2006; Ólafsdóttir et al., 2018) que ces vagues de réactivations de l'HPC vers le néocortex pourraient permettre la réactivation dans les différentes aires corticales des assemblées neuronales, entraînant un renforcement de la trace au niveau cortical, se traduit notamment par une augmentation de la densité dendritique (Lesburgueres et al., 2011). La maturation de ces connexions cortico-corticales serait liée à la répétition de ces réactivations. Ces phénomènes de « récapitulation » ont lieu principalement durant les phases de sommeil (Skaggs and McNaughton, 1996).

3) *L'Hippocampe comme coordinateur : La théorie unifiée*

De récentes études ont été réalisées sur des souris transgéniques afin de manipuler les neurones spécifiquement impliqués dans la tâche cognitive ont permis l'émergence de nouveaux modèles, définissant de nouvelles fonctions à l'HPC. Parmi ces rôles, Jason Runyan et Pramod Dash dans la « Théorie Unifiée » défendent un rôle de coordinateur de l'hippocampe (Dash et al., 2004; Runyan et al., 2019). Cette théorie intègre à la fois les concepts de consolidation synaptique et systémique. Cette théorie recentre la consolidation synaptique, induite rapidement suite à l'apprentissage, comme base de la consolidation systémique. Dans cette théorie, l'HPC aurait pour fonction de coordonner l'activité distribuée dans les différentes aires corticales impliquées dans l'encodage, *via* l'utilisation de projections axonales longues et dispersées. La consolidation systémique, associée au désengagement de l'HPC, serait alors liée au temps nécessaire à la consolidation systémique pour se mettre en place dans ces longues projections. En outre, **le processus de consolidation systémique serait en réalité lié au temps d'expression de certains gènes et du transport des protéines nécessaires à la consolidation synaptique dans ces longues projections axonales** lors du dialogue hippocampo-cortical.

Ce modèle s'appuie sur les résultats obtenus en faveur de la théorie des schémas (détaillée dans la partie D.II.a.3, p.27), démontrant un transfert plus rapide des informations vers le néocortex lorsque celle-ci est familière (Tse et al., 2007) et une induction rapide de la synthèse de protéines, à la fois dans l'HPC et le néocortex (Tse et al., 2011), corroborant les hypothèses de la théorie unifiée. Selon les auteurs de cette théorie, la consolidation rapide des informations nouvelles mais relatives à des informations précédemment encodées et consolidées serait due au fait que la consolidation cellulaire dans les longues projections axonales vers le néocortex auraient déjà eu lieu au cours du premier apprentissage. Une autre étude utilisant une approche optogénétique appuie cette théorie. L'équipe de Tonegawa a en effet montré que les cellules de l'engramme sont rapidement et simultanément sélectionnées au niveau de l'HPC et du CPFm (Kitamura et al., 2017). Le réseau cortical, sous le contrôle de l'HPC, semble s'étendre au cours de la consolidation (DeNardo et al., 2019). On ne sait pas encore si ce phénomène est lié à un changement de l'état silencieux à l'état actif des neurones (Kitamura et al., 2017; Roy et al., 2017) ou à un recrutement de nouveaux neurones au cours de la consolidation.

4) *L'Hippocampe ; centre de la contextualisation*

Dans la perspective de la théorie des traces multiples et de l'hypothèse de transformation, une nouvelle théorie a été proposée il y a quelque mois par l'équipe de Brian Wiltgen ; la **théorie de la liaison contextuelle** (Yonelinas et al., 2019). Dans ce modèle, **le néocortex ne stockerait pas la mémoire épisodique, mais les informations indépendamment de leur contexte d'acquisition. Ce serait l'HPC qui détiendrait les données sur le contexte dans lequel l'information a été encodée, et son rôle serait de lier ensemble les informations contextuelles avec les informations sémantiques qu'il recevrait des autres régions.** Selon cette théorie, le néocortex encode les informations privées de leurs détails contextuels, alors que l'HPC serait impliqué dans le rappel de détails contextuels d'une situation (Wiltgen et al., 2010). Cette hypothèse est appuyée par les

études montrant que le néocortex est impliqué dans le phénomène de généralisation, c'est-à-dire le rappel d'une information dans un contexte plus global que celui dans lequel elle a été encodée (Bowman and Zeithamova, 2018; Pan and Sakagami, 2012; Xu and Südhof, 2013). Plus récemment, il a été montré que c'est la voie de communication CCA/HPC ventral qui est notamment liée à ce phénomène de généralisation (Bian et al., 2019; Cullen et al., 2015), tandis que l'HPC dorsal est nécessaire pour l'expression précise du souvenir de peur au contexte, que ce soit à court ou à long terme (Cullen et al., 2015; Rajasethupathy et al., 2015). Ces résultats montrent l'importance de l'HPC et de la communication entre l'HPC et le néocortex dans la « décontextualisation » d'un souvenir, quel que soit l'âge de ce souvenir.

Il a également été montré, en accord avec cette théorie, que la corticalisation d'une information dépend de son niveau de familiarité, et donc de l'abstraction du contexte, que ce soit sur le modèle animal (McClelland et al., 1995; Tse et al., 2007, 2011; Winocur et al., 2005a), ou par les études cliniques, comme le montre H.M qui était capable de rappeler des informations devenues familières (Corkin, 2002).

Selon ce modèle, l'HPC et le néocortex ne soutiendraient donc pas le même type de mémoire dans un des laps de temps différents, mais soutiendraient des types différents de mémoire indépendamment de leur âge (Yonelinas et al., 2019). Ce modèle s'appuie sur de nombreuses études cliniques montrant par des techniques d'imagerie cérébrale une implication de l'HPC, tant dans le rappel de la MCT que de la MLT, dans des paradigmes impliquant différents types de mémoire (Addis et al., 2004; Bernard et al., 2004; Stark and Squire, 2000), et il semble confirmé par l'équipe de Deisseroth qui montre également une implication de l'HPC dans un rappel à long terme d'une mémoire de peur au contexte (Goshen et al., 2011). L'HPC serait alors la structure clé dans la contextualisation d'un souvenir, quel que soit l'âge de celui-ci.

5) Conclusions

Le rôle de l'HPC dans les processus de consolidation mnésique a très été discuté et débattu ces dernières décennies. Si un nombre croissant d'études récentes semble aujourd'hui démontrer que le rôle de l'HPC n'est pas uniquement de stocker l'information à court terme pour la transférer dans le néocortex. Si la théorie de la liaison contextuelle place l'HPC au centre de la contextualisation des informations, la théorie unifiée semble apporter une autre solution en plaçant l'HPC comme le coordinateur des changements systémiques. Cette coordination dépendrait de processus de consolidations synaptiques de projections axonales dont la longueur expliquerait le temps nécessaire à la consolidation pour se mettre en place. Cela permettrait d'expliquer pourquoi, dans un nombre très important d'études (listées tout au long de cette thèse), le rappel de la MLT ne semble plus dépendre de l'HPC. Dans le scénario de la théorie unifiée, le cortex serait alors l'élément central dans la rétention des souvenirs, que ce soit pour la MCT comme pour la MLT.

IV.c – le néocortex : un rôle central dans le stockage de la mémoire

Les fonctions cognitives et hautement intégratives sont traitées par différentes aires corticales et néocorticales. Le lobe frontal est l'une des aires clés dans l'intégration des informations entrantes. L'une des parties du lobe frontal qui nous intéresse particulièrement est le **Cortex Préfrontal (CPF)**. Ce cortex s'est développé au cours de l'évolution phylogénétique et ontogénétique, pour supporter des fonctions de plus en plus intégratives, et notamment la « mémoire exécutive » (Fuster, 2001). Chez les mammifères, les fonctions qu'il assure semblent constantes d'une espèce à l'autre, rendant le modèle animal pertinent pour étudier ses mécanismes et les fonctions qu'il soutient (Chudasama, 2011; Preston and Eichenbaum, 2013). Il est aujourd'hui certain que cette structure joue un rôle clé dans la plupart des processus cognitifs, en particulier ceux de la mémoire, et notamment de la mémoire associative. Le CPF peut être divisé en trois parties (orbital, latéral, et médian) mais également en régions fonctionnelles. Nous nous intéresserons par la suite à ces régions et plus particulièrement au **CPF médian (CPFm)**, au **Cortex Orbito-frontal (COF)** et au **Cortex cingulaire (CC)** – figure 9).

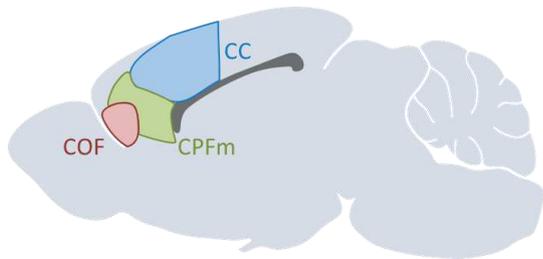


Figure 9 | Illustration montrant la position des différentes structures du Cortex Préfrontal (CPF), composé notamment du Cortex Orbito-frontal (COF), du CPF médian (CPFm) et du Cortex Cingulaire (CC).

Si, sous l'influence du modèle standard, le néocortex a longtemps été vu comme un « *slow learner* », un nombre grandissant d'études montrent que les aires néocorticales pourraient en réalité **jouer un rôle crucial dans la consolidation mnésique très rapidement suite à l'apprentissage, voire dès l'encodage des informations** (Blum et al., 2006; Kitamura et al., 2017; Rizzo et al., 2017; Tonegawa et al., 2018). Selon les études récentes, le contenu de l'information serait stocké dans la partie néocorticale de la trace mnésique dès le début du processus de consolidation (Lesburgueres et al., 2011; Runyan et al., 2019; Yonelinas et al., 2019), mais ne participerait au rappel de la mémoire qu'après une phase de maturation, dont la durée pourrait varier d'une région néocorticale à l'autre (Loureiro et al., 2019; Maviel et al., 2004; Rizzo et al., 2017).

1) Le Cortex Orbitofrontal

Le COF est l'une des structures néocorticales les plus antérieures du cortex (figure 9). Il est divisé en plusieurs noyaux ; le noyau ventral (VO), le noyau médian (MO), le noyau latéral (LO) et le noyau dorsolatéral (DLO- figure 10). Cette structure joue un rôle importante dans le traitement et l'attribution d'une valeur (négative ou positive) accordée à un stimulus (Rolls, 2000). En effet des études d'imagerie cérébrale ont démontré que des odeurs plaisantes (notamment florales) entraînent l'activation du MO, tandis que des odeurs déplaisantes (par exemple l'acide caproïque) entraînent l'activation du LO (Rolls, 2009). De façon plus générale, l'activation du COF semble liée

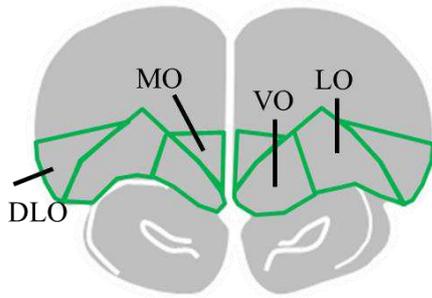


Figure 10 | Illustration montrant les différentes sous-structures du cortex orbito-frontal, composé du noyau ventral (VO), du noyau médian (MO), du noyau latéral (LO) et du noyau dorsolatéral (DLO) à +4.2 mm par rapport au point de bregma.

à la valeur plaisante ou déplaisante d'un stimulus. Par exemple, il a été montré dans une tâche virtuelle de gain d'argent aléatoire, que l'activation du MO était liée à un gain d'argent tandis que l'activation du LO était lié à la perte de cette récompense (O'Doherty et al., 2001). De façon intéressante, le COF et la partie antérieure du CC (CCa) seraient ensemble liés à la régulation des émotions (García-Cabezas and Barbas, 2016).

L'un des rôles majeurs sous-tendus par le COF est la prise de décision (pour revue, voir Wallis, 2007) et notamment son rôle dans la favorisation ou l'inhibition d'une réponse comportementale (Schoenbaum et al., 2009). L'un des cas le plus emblématiques amenant à cette conclusion est le cas du patient EVR (Eslinger and Damasio, 1985). Ce père de famille a dû subir une ablation bilatérale du COF suite à une tumeur dans cette région. Cette lésion n'a eu quasiment aucun impact sur ses capacités cognitives ; son attention, son intelligence et sa mémoire n'avaient pas été altérées. En revanche, suite à l'opération, le patient EVR a perdu son travail, a divorcé, et a montré une grande instabilité tant dans sa vie professionnelle que personnelle. Plus précisément, il a fait preuve d'une grande difficulté dans la prise de décisions, même pour des choix très simples. Par exemple, il était très difficile pour lui de choisir un restaurant pour le dîner. Le COF serait donc impliqué dans la prise de décision et l'intégration des multiples modalités des informations entrantes, visant à déterminer la valeur « récompensante » de la sortie comportementale (Wallis, 2007). **Le COF agirait avec d'autres régions du PFC pour organiser et planifier les comportements avec une évaluation bénéfices/risques qui en découlerait** (figure 11). Plus récemment, il a été montré que ce serait l'interaction HPC/COF qui serait impliquée dans l'élaboration de « cartes mentales » afin de mémoriser et stocker les relations complexes qui existent entre les différents éléments d'un environnement, permettant l'élaboration de souvenirs liés à un contexte (Farovik et al., 2015; Wikenheiser and Schoenbaum, 2016).

• Implication dans la mémoire

Par des approches d'imagerie cérébrale, il a été montré que le COF s'active lors de l'encodage d'une information, ainsi que la nécessité de cette activité dans la formation de la mémoire chez l'Homme (Brod and Shing, 2018; Frey and Petrides, 2002). Tandis que les apprentissages simples ne semblent pas dépendre du COF, ceux nécessitant un ajustement du comportement semblent recruter cette structure (pour revue, voir Wikenheiser and Schoenbaum, 2016). Ainsi, les neurones du COF activés lors d'une tâche où l'animal doit prendre une décision pourraient faire partie de la trace mnésique. Ce *pattern* serait différent pour chaque action/réponse comportementale encodée et stockée (Wikenheiser and Schoenbaum, 2016; Wilson et al., 2014) et le rôle du COF serait alors de réactiver ces « états », notamment lorsque leur application n'est pas directement observable ou liée au contexte d'origine de l'apprentissage (Wikenheiser and Schoenbaum, 2016).

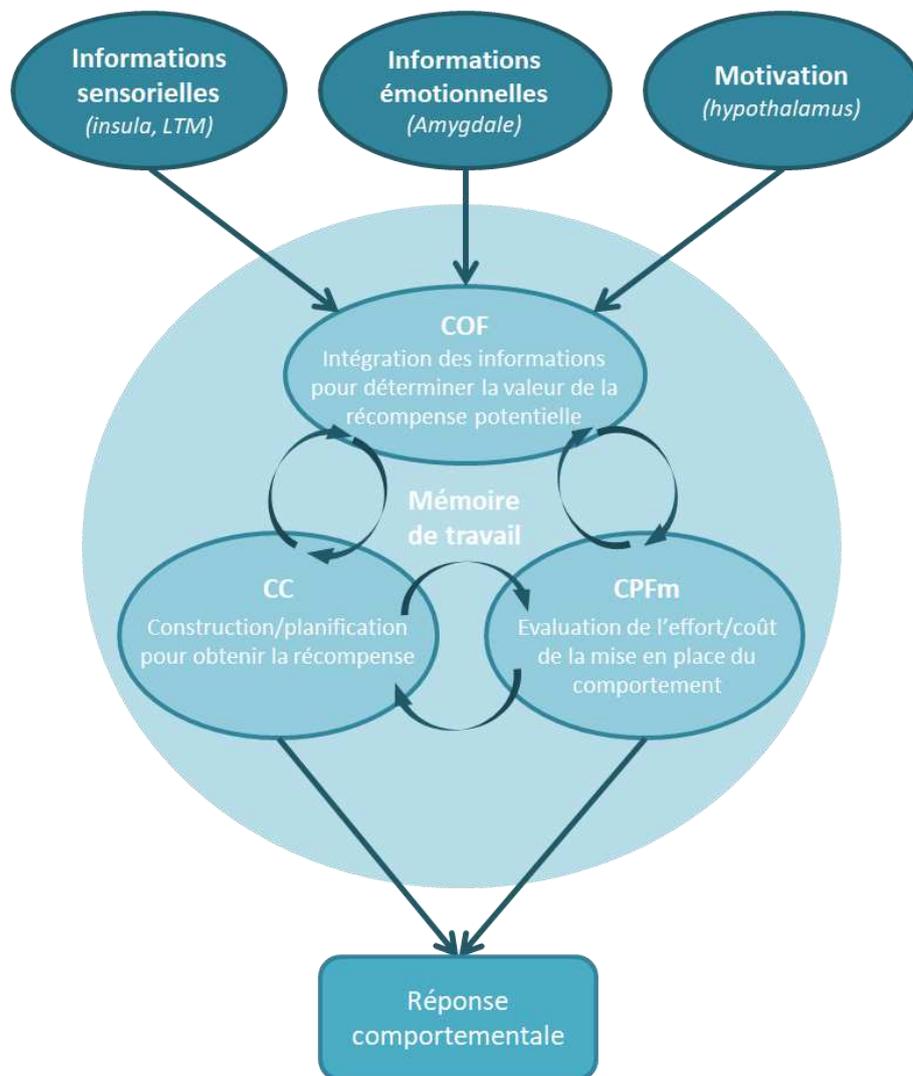


Figure 11 | Modèle de l'implication du Cortex Préfrontal (CPF) dans la prise de décision, implication du Cortex Orbito-frontal (COF), du CPF médian (CPFm), du Cortex Cingulaire (CC) et du Lobe Temporal Médian (LTM). Adapté de Wallis, 2007.

Son implication dans la mémoire associative a également été démontrée, que ce soit lors d'un apprentissage spatial de discrimination d'odeur (Farovik et al., 2015; Kim and Ragozzino, 2005) ou de TSPA (Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006), bien que dans le cadre de ce dernier paradigme, l'implication du COF n'a été montrée que dans la MLT, 21 ou 30 jours après l'apprentissage. Une perturbation de cette structure à des délais intermédiaires ne perturbe pas le rappel du souvenir (Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006; Smith et al., 2010).

L'ensemble de ces études montre **le rôle très complexe du COF dans le processus de prise de décision et de sélection du comportement adapté lors du rappel de l'information, en fonction des informations encodées précédemment par la structure, ainsi qu'un rôle dans la mémoire associée aux modalités olfactives**. Cette implication dans les processus mnésiques ne semble nécessaire que pour le rappel de la MLT. La planification d'un comportement adaptatif se ferait en interaction avec les autres structures du cortex frontal et du système limbique traitant différents aspects des informations entrantes (figure 14 - pour revue, voir Eichenbaum, 2017; Euston et al., 2012).

- Afférences et efférences

En accord avec son rôle dans le traitement des modalités sensorielles entrantes, des études ont montré que le COF est fortement connecté aux structures traitant ces modalités, notamment olfactives (notamment avec le Cortex piriforme), auditives ou visuelles (Carmichael and Price, 1995a; Cavada, 2000; Hoover and Vertes, 2011), mais il est paradoxalement peu relié au cortex moteur (Carmichael and Price, 1995a). En ce qui concerne les connexions aux aires néocorticales, il semble que le MO projette des connexions dans le CPFm et le CCa, tandis que le VO projette des connexions dans la partie postérieure du CC (CCp - Hoover and Vertes, 2011).

Cette structure est aussi fortement connectée avec le lobe temporal médian (Lavenex et al., 2002). Enfin le COF, et plus particulièrement le MO (Hoover and Vertes, 2011), semble relié au Noyau Accumbens (NAc - Haber et al., 1995), structure clé dans le circuit de la récompense, ainsi qu'à l'amygdale (Carmichael and Price, 1995b), structure fortement impliquée dans le traitement des émotions de peur. Le COF envoie également beaucoup de projections dans l'HPC (Barbas and Blatt, 1995; Kondo and Witter, 2014; Suzuki and Amaral, 1994). Ces projections ne semblent cependant pas réciproques (Hoover and Vertes, 2011).

2) Le Cortex Préfrontal médian

Le CPFm se situe entre le COF et le CC (figure 9). Il est composé du **Cortex Prélimbique (PrL)** et du **Cortex Infralimbique (IL)** – figure 12). Ce cortex est impliqué dans de nombreuses fonctions cognitives, comme la spontanéité, la prise de décision, mais également la mémoire déclarative. Afin de concilier tous ces rôles, des chercheurs ont avancé l'idée que **la fonction principale du CPFm serait d'apprendre les associations entre les informations entrantes (contexte, lieux, événements) et les réponses adaptatives correspondantes** (pour revue, voir Euston et al., 2012) **et de stocker les schémas de ces associations** (Alexander and Brown, 2011).

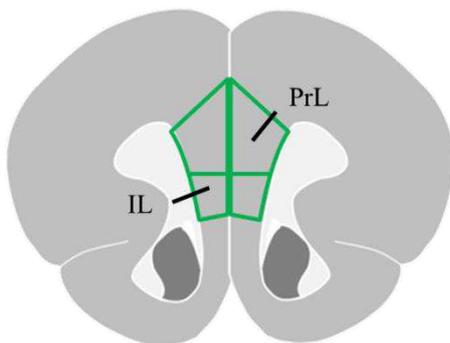


Figure 12 | Illustration montrant les différentes sous-structures du cortex préfrontal médian, composé du Cortex Prélimbique (PrL) et du Cortex infralimbique (IL) à +2.6 mm par rapport au point de bregma.

- Implication dans la mémoire

De nombreuses études ont démontré l'implication du CPFm dans de nombreux paradigmes d'apprentissage ; le conditionnement de peur au contexte (Dejean et al., 2016; Kitamura et al., 2017; Rajasethupathy et al., 2015; Rizzo et al., 2017; Takehara et al., 2003; Xu and Südhof, 2013; Ye et al., 2016), l'association de paires d'odeurs (Tse et al., 2011), l'apprentissage spatial en labyrinthe (Comeau et al., 2010; Maharjan et al., 2018) et plus récemment dans la TSPA (Loureiro et al., 2019). Son implication dans ces paradigmes a été démontré tant dans le rappel de la MCT

(Comeau et al., 2010; Dejean et al., 2016; Kitamura et al., 2017; Loureiro et al., 2019; Maharjan et al., 2018; Tse et al., 2011; Ye et al., 2016) que de la MLT (DeNardo et al., 2019; Giannotti et al., 2019; pour revue, voir Eichenbaum, 2017). La plasticité induite par l'apprentissage dans le CPFm semble essentielle pour le rappel de l'information (Loureiro et al., 2019). Confirmant ces données, il a été montré une induction rapide de la synthèse de protéines dans cette structure suite à l'encodage (Rizzo et al., 2017; Tse et al., 2011), et la suppression de cette synthèse perturbe le processus de consolidation, que ce soit de la MCT ou de la MLT (Tse et al., 2011), alors qu'une suppression de la synthèse protéique dans cette région quelques heures après l'apprentissage n'a plus d'impact sur le rappel (Rizzo et al., 2017). **Ces résultats confirment l'implication, dès l'encodage, du CPFm dans le processus de consolidation mnésique.** En outre, il a été montré que suite à l'encodage d'une information, il y a formation d'un ensemble neuronal dans le CPFm (Ye et al., 2016). Cet ensemble maintient une activité suite à l'encodage (Takehara et al., 2003), essentielle pour la formation de la mémoire (Dejean et al., 2016). Cette activité semble synchronisée avec celle d'autres neurones de l'HPC (Rajasethupathy et al., 2015), qui pourraient alors faire partie de cet ensemble. Cette activité neuronale pourrait être à l'origine de l'augmentation de la densité synaptique observée dans cette structure, qui est corrélée aux performances mnésiques (Comeau et al., 2010).

Il a également été montré que **le CPFm joue un rôle dans les processus de généralisation des informations** (Bowman and Zeithamova, 2018; Pan and Sakagami, 2012; Xu and Südhof, 2013; Xu et al., 2012). En effet, le blocage de l'activité du CPFm induit une généralisation de la mémoire de peur au contexte (Xu et al., 2012). Ce processus dépendrait notamment de la mise en place d'un dialogue hippocampo-cortical (Bowman and Zeithamova, 2018; Xu and Südhof, 2013), bien qu'il existe également un dialogue entre le CPFm et le thalamus dans le processus de généralisation (Xu and Südhof, 2013).

- Afférences et efférences

Sa position au niveau ventral du lobe frontal en fait le centre idéal des projections entre le lobe temporal médian et les autres structures néocorticales. En effet, il a été montré que le CPFm est fortement connecté de façon réciproque avec le lobe temporal médian et plus particulièrement le cortex entorhinal, perirhinal et l'HPC (Maharjan et al., 2018; Rajasethupathy et al., 2015; Xu and Südhof, 2013; Swanson, 1981; Jay and Witter, 1991; Deacon et al., 1983; Hoover and Vertes, 2007; Kitamura et al., 2017). Ces connexions réciproques avec l'HPC sont essentielles pour le rappel d'une information spatiale (Maharjan et al., 2018). En outre, les connexions directes CPFm/HPC seraient liées à l'échange d'informations concernant le contexte global d'un événement, tandis que les connexions indirectes (notamment *via* le thalamus ou par les « autoroutes » corticales) permettraient à ces différentes structures d'interagir pour le traitement de ces informations (pour revue, voir Eichenbaum, 2017).

Le CPFm est également fortement connecté avec le noyau baso-latéral de l'Amygdale (Kitamura et al., 2017; Xu and Südhof, 2013; Ye et al., 2016), ainsi que le NAc (Loureiro et al., 2019; Ye et al., 2016). Il possède également des connexions réciproques avec le thalamus (Xu and Südhof, 2013;

Ye et al., 2016) qui est l'un des relais principaux des entrées sensibles et sensorielles et des sorties motrices, et qui joue également un rôle clé dans les processus de conscience et de veille/sommeil. Le CPFm reçoit des connexions du Cortex piriforme (Loureiro et al., 2019), qui est impliqué dans le traitement des informations olfactives, notamment lors d'une TSPA.

Il a également été mis en évidence l'existence de boucles locales réentrantes dans le CPFm. Le PrL et l'IL sont en effet fortement connectés entre eux (Xu and Südhof, 2013). Ces sous-structures sont également connectées de façon réciproque avec d'autres structures du lobe frontal, comme le CCa (Hoover and Vertes, 2007; Xu and Südhof, 2013) et le COF (Hoover and Vertes, 2007, 2011).

3) Le Cortex Cingulaire

Le Cortex Cingulaire (CC) est l'une des structures les plus étendues du cortex (figure 9). Cette large distribution a amené les chercheurs à diviser la structure, généralement en deux (Vogt et al., 1992); le **CC antérieur (CCa)** et le **CC postérieur (CCp)**. De nombreuses études ont mis en avant une distinction dans les fonctions sous-tendues par les différentes zones du CC (pour revue, voir Vogt et al., 1992). Les premières équipes à avoir divisé le CC en deux sous-structures considèrent le cortex rétrosplénial comme le CCp tandis que le reste constituerait le CCa (figure 13 - Meunier and Destrade, 1988; Sif et al., 1989; Vogt et al., 1992). Bien que cette distinction ait été confirmée d'un point de vue fonctionnel (Bontempi et al., 1999; Maviel et al., 2004; Meunier and Destrade, 1988), la distinction CCa/CCp varie d'une étude à l'autre et donne des résultats parfois ambivalents (pour revue, voir Vogt and Paxinos, 2014). Ces chercheurs ont alors mis en parallèle leurs cartographies des structures à la fois chez l'Homme et chez le rongeur, afin de permettre, en se basant sur des résultats obtenus par approches corrélatives et invasives, de découper le CC en trois parties, plus pertinentes sur le plan anatomique aussi bien que fonctionnel. Il y aurait d'une part le CCa, le CCp, et d'autre part **une région intermédiaire, le CC médian (CCm)**. Ces régions sont validées expérimentalement à la fois chez l'Homme et le rongeur (figure 13 - Vogt and Paxinos, 2014).

Du point de vue fonctionnel, le CCa semble impliqué dans une multitude de fonctions : les émotions (Angelini et al., 1981; Long et al., 1978), le traitement de la douleur (Bliss et al., 2016; Gabriel et al., 1991), le comportement maternel mais également dans l'attention (García-Cabezas

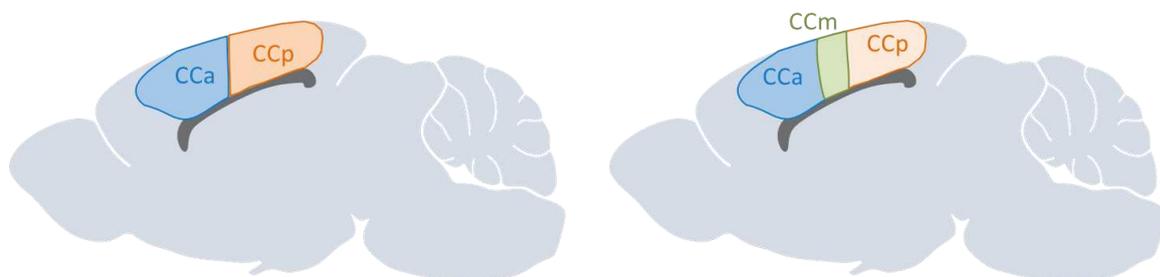


Figure 13 | Illustrations des modèles de la distinction anatomo-fonctionnelle des zones du Cortex Cingulaire (CC). En 1992, Vogt et al. Proposent une division du CC en deux parties ; le CC antérieur (CCa) et le CC postérieur (CCp). Suite à de nombreuses études remettant en cause ce modèle, il a été élaboré en 2014 par Vogt et Paxinos un nouvel atlas du CC, composé d'une troisième partie entre le CCa et le CCp ; le CC médian (CCm). Cette découpe est validée d'un point de vue anatomique et fonctionnel à la fois chez l'Homme et le rongeur. Adapté de Vogt and Paxinos, 2014.

and Barbas, 2016; Kim et al., 2016; Westendorff et al., 2016) ou certains contrôles moteurs (pour revue, voir Vogt et al., 1992). Cette structure aurait également un rôle dans la prise de décision (Zhong et al., 2017). Afin de concilier toutes ces implications, il a été proposé que, de façon générale, **le CCa joue le rôle d'exécuteur et de contrôleur des actions de sortie afin d'éventuellement adapter ces actions à l'environnement changeant** (Euston et al., 2012; Vogt et al., 1992).

Le CCm semble impliqué dans le traitement de la douleur mais également des humeurs, car sa dérégulation paraît liée à des troubles obsessionnels et compulsifs, à des troubles de l'attention et de l'hyperactivité, ainsi qu'à la dépression (pour revue, voir Vogt, 2016). Son lien avec d'autres processus cognitifs, et notamment les processus mnésiques, n'a à notre connaissance pas été clairement établi.

Les études portant sur le CCp se font plus rares, et elles ont démontré que cette sous-structure n'était pas impliquée dans les mêmes fonctions que le CCa (Meunier and Destrade, 1988; Sif et al., 1989; Vogt et al., 1992). **Le CCp serait davantage pour fonction l'évaluation de l'environnement** (Wan et al., 2015) **ainsi que la mémoire** (Gonzalez et al., 2003; Maviel et al., 2004; Meunier and Destrade, 1988). Le CCp pourrait être en effet jouer un rôle dans le **stockage des associations actions-récompenses** (Tabuchi et al., 2005) et une lésion dans cette zone entraîne une amnésie à la fois rétrograde et antérograde chez l'Homme (Valenstein et al., 1987), démontrant son rôle dans les processus mnésiques associatifs.

• Implication dans la mémoire

La distinction CCa/CCp dans les processus mnésiques a été mise en évidence il y a déjà 30 ans (Meunier and Destrade, 1988). Si dans ces études seul le CCp semble être impliqué dans les processus mnésiques, il a depuis été montré un rôle des deux sous-structures, qui varierait en fonction du temps : les études montrent en effet une activation du CCp lors du rappel de la MCT (Bontempi et al., 1999; Kádár et al., 2016), alors qu'une inactivation de cette structure perturbe le rappel de la MCT d'un souvenir spatial (Maviel et al., 2004). Ces résultats montrent que le rappel de la MLT induirait au contraire une activation du CCa et une perturbation de cette structure perturbe également le rappel. L'implication du CCa dans la MLT est confirmée dans d'autres paradigmes comportementaux comme la reconnaissance d'objet (Pezze et al., 2017), l'association de paires d'odeurs (Wang et al., 2012), ou le conditionnement de peur (Frankland et al., 2004; Goshen et al., 2011). Par ce dernier paradigme, il a également été montré un rôle du CCa, par une communication avec l'HPC, dans le processus de généralisation du souvenir (cf. Section D.IV.b, p.55; Bian et al., 2019; Cullen et al., 2015; Einarsson et al., 2015; Xu and Südhof, 2013). Ces résultats sont appuyés par une autre étude montrant une corrélation entre l'activité de l'HPC et du CCa suite à un apprentissage (Wang et al., 2012), ainsi qu'une augmentation de la densité dendritique dans le CCa (Restivo et al., 2009). D'autres résultats ont pointé le rôle du CCa dans la reconsolidation et notamment dans la « mise à jour » des informations déjà encodées et familières (Bian et al., 2019; Tse et al., 2011; Wang et al., 2012).

Ces travaux mettent en évidence une dissociation fonctionnelle antéro-postérieure du CC dans la consolidation mnésique et notamment le rappel de l'information : tandis que le CCp est activé et indispensable dans le rappel de la MCT, le CCa serait lui activé et indispensable pour la MLT. En se basant sur les différents modèles des processus mnésiques expliquant que le néocortex ne stockerait pas la mémoire épisodique, mais les informations indépendamment de leur contexte d'acquisition, (Yonelinas et al., 2019), le CCa, en communication directe avec l'HPC (Bian et al., 2019), pourrait alors être une **structure clé dans le processus de « décontextualisation » des informations afin de permettre leur stockage à long terme au niveau cortical.**

- Afférences et efférences

S'il y a une distinction entre CCa/CCp au niveau fonctionnel, des études ont montré que cette distinction se retrouve également au niveau anatomique (Vogt and Paxinos, 2014; Vogt et al., 1992) mais également dans la connectivité. Les études ont en effet montré que le CCp était davantage relié au système limbique et plus particulièrement à la formation hippocampique, tandis que le CCa serait plutôt lié aux régions du lobe frontal (Domesick, 1969; Finch et al., 1984), bien que ces connexions ne soient pas exclusives (Bian et al., 2019; Sif et al., 1989). Le CCm semblerait, lui, connecté aux deux autres parties du CC ainsi qu'à leurs réseaux respectifs (Jones and Witter, 2007; Vogt and Paxinos, 2014), traduisant un possible rôle de croisement et d'intégration des informations traités par les deux réseaux.

Bien que cette littérature suggère le rôle prépondérant du CCp dans la communication avec l'HPC, il a été montré que le CCa semble aussi relié à la formation hippocampique, notamment *via* le cortex perirhinal (Deacon et al., 1983), ou bien *via* le CA2 et le CA3 (Rajasethupathy et al., 2015).

Le CCa semble également relié aux aires néocorticales, et notamment au CPFm (Hoover and Vertes, 2007; Xu and Südhof, 2013), ainsi qu'au CCp (Sif et al., 1989). Il reçoit des projections du COF et notamment du MO (Hoover and Vertes, 2007), tandis que le VO semble projeter des connexions dans le CCp (Hoover and Vertes, 2011). Des études chez le primate ont montré que ces connexions pourraient être réciproques (García-Cabezas and Barbas, 2016).

IV.d - Perspectives

L'ensemble de ces données suggère que les structures du lobe frontal sont en étroite communication et collaboration entre elles, ainsi qu'avec les aires sensorielles, afin de permettre le traitement et l'association des modalités sensorielles et des comportements adaptatifs à mettre en place dans un environnement changeant. Basée sur ces résultats, une équipe américaine a proposé récemment un modèle d'organisation fonctionnelle de ces différentes structures du CPF, permettant l'association du contexte et de la valeur (récompense ou punition) des informations sensorielles, à des réponses motrices élaborées et émotionnelles adaptatives (figure 14 - Euston et al., 2012). Toutefois la délimitation des régions dans le cortex préfrontal est variable d'une étude à une autre, ce qui peut alimenter les débats sur la participation de telle ou telle structure dans la consolidation. Par exemple, certaines études distinguent le CCa du CCp et du Cortex rétrosplénial (Maviel et al., 2004), d'autres études englobent le CCp et le Cortex rétrosplénial (Vogt and Paxinos,

2014). Les études sur le CCa, qui est une structure anatomiquement vaste, ne ciblent pas toujours la même zone, pouvant expliquer la variabilité dans les résultats. Ces différences peuvent rendre les interprétations scientifiques complexes et la comparaison des données d'une étude à une autre difficile. C'est pourquoi il serait alors intéressant de réaliser une cartographie de l'activité fonctionnelle du CC afin de baser notre analyse sur des régions fonctionnelles liée à une tâche comportementale plutôt que de suivre la délimitation anatomiques de l'atlas.

Bien que le rôle du cortex frontal dans le stockage de la mémoire ancienne a été clairement démontré, des données convergentes montrent que certains réseaux corticaux pourraient être recrutés précocement, dès l'encodage, et participerait après maturation, au stockage de la trace mnésique. Ceci a notamment été démontré dans le COF ou le CPFm, dans lequel des changements précoces dans la structure et la fonction neuronale ont été mis en évidence (Kitamura et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011). Ces données suggèrent que la maturation de la trace corticale nécessiterait des renforcements dans la connectivité fonctionnelle entre les différentes régions corticales impliquées dans la trace mnésique, qui restent à identifier. De même, si certaines structures néocorticales telles que le COF, sont rapidement recrutées pour stocker le souvenir (Lesburgueres et al., 2011) mais ne sont nécessaires que dans le rappel de la MLT (Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006), l'implication d'autres structures néocorticales reste en effet sujette à plusieurs questionnements. En effet, si certaines études démontrent l'absence d'activation ou d'implication du CPFm dans le rappel à court terme dans une tâche de discrimination spatiale (Maviel et al., 2004), d'autres études montrent que cette structure est nécessaire à la fois à la MLT et la MCT, (Loureiro et al., 2019; Rizzo et al., 2017). De même le CCa a été impliqué à la fois dans la MLT (Bontempi et al., 1999; Cullen et al., 2015; Frankland et al., 2004; Maviel et al., 2004; Pezze et al., 2017) mais aussi dans la MCT (Rajasehupathy et al., 2015). Ces différences de résultats pourraient être dues à la variabilité des paradigmes comportementaux utilisés pour révéler l'implication des néocortex dans l'expression de la MCT et de la MLT. Dès lors, il serait intéressant d'étudier les interactions qui existent entre ces différentes structures néocorticales lors du processus de maturation de la trace mnésique à l'aide d'un unique paradigme expérimental.

Ce travail de thèse s'inscrit dans cette volonté de mieux appréhender les mécanismes mis en place dans les structures du CPF lors du processus de consolidation mnésique. Plus précisément, **il s'agit de révéler d'une part la cinétique de l'implication des différentes structures du CPF au cours de la consolidation d'un souvenir**, par des approches à la fois corrélatives et invasives, puis de déterminer **comment ces structures communiquent pour mettre en place ce processus de consolidation**. En outre, il apparaît intéressant **d'étudier l'organisation des connexions au sein des régions du lobe frontal et comment ces connexions se renforcent** au cours du processus de consolidation d'un souvenir, afin de permettre la création d'une trace mnésique fonctionnellement mature et stable. Afin de mieux comprendre ces mécanismes sous tendant la consolidation mnésique néocorticale au cours du temps, nous avons étudié les modifications systémiques et la cinétique d'implication des structures du CPF lors de la consolidation d'un souvenir de Transmission Sociale de Préférence Alimentaire (TSPA) chez le rat.

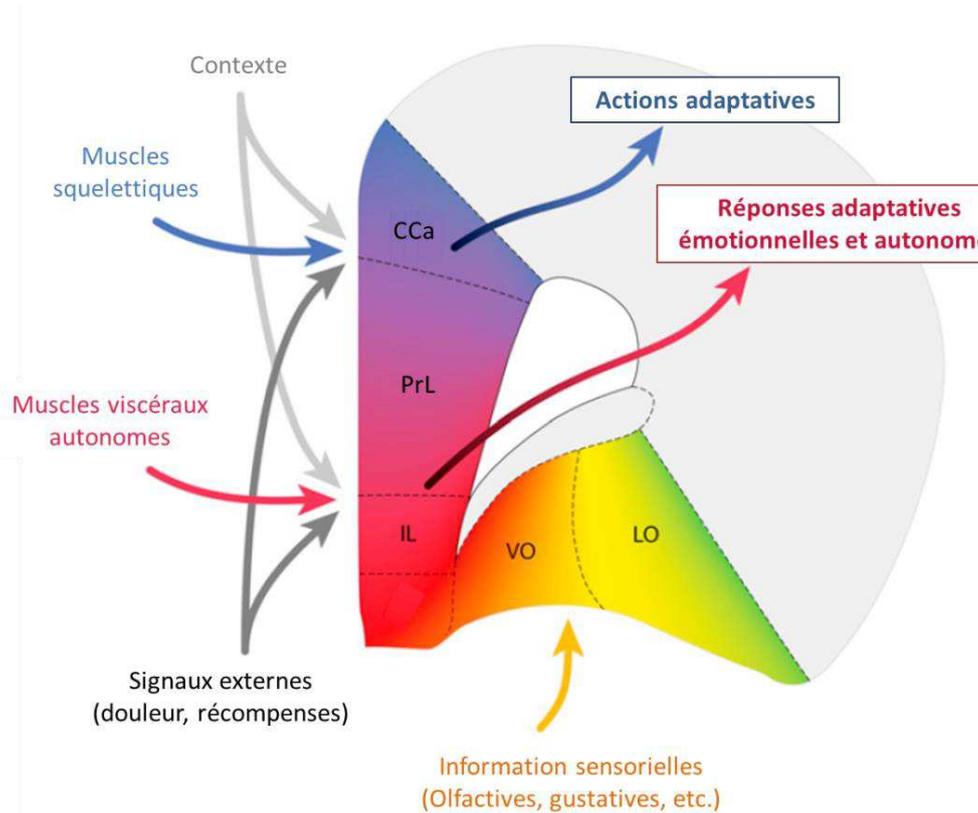


Figure 14 | Modèle hypothétique des entrées et sorties fonctionnelles des régions du cortex préfrontal médian, qui serait un réseau permettant l'association entre les modalités spatiales, émotionnelles et la valeur « récompensante » d'un contexte ou d'une information avec une réponse adaptative (action planifiée ou réponse émotionnelle) ainsi qu'un traitement des conséquences de l'action planifiée. Ce modèle est supporté par les études montrant une importante interconnexion entre ces structures. Abréviations : CCa : Cortex Cingulaire antérieur, PrL : Cortex prélimbique, IL : Cortex Infralimbique, VO : Noyau Ventral du cortex Orbitofrontal (COF), LO : Noyau Latéral du COF. Adapté de Euston et al., 2012.

IV.e – Le cas de la Transmission Sociale de Préférence Alimentaire

Le paradigme de **transmission sociale de préférence alimentaire (TSPA)** chez le rat adulte est un paradigme d'apprentissage associatif, qui consiste à faire apprendre à un rat, *via* une interaction avec un congénère, qu'une nourriture aromatisée est sans danger pour lui. Ce paradigme offre plusieurs avantages dans le cadre de l'étude de la consolidation mnésique. D'une part, il induit une **mémoire robuste et durable**, et l'apprentissage est **réalisé en une unique session d'acquisition**, permettant un contrôle précis de la cinétique d'induction des mécanismes post-apprentissages impliqués dans la consolidation systémique. D'autre part, il a été démontré que ce paradigme est composé de modalités associatives qui induisent l'implication à la fois de l'HPC et des structures néocorticales (Bessières et al., 2017; Bunsey and Eichenbaum, 1995; Lesburgueres et al., 2011; Loureiro et al., 2019; Smith et al., 2007, 2010), comme nous le verrons plus en détails par la suite. L'utilisation de ce protocole dans le cadre de l'étude des processus de consolidation a récemment été validée par notre équipe (Bessières et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011).

1) Principes éthologiques de la tâche d'apprentissage

Le test de **Transmission Sociale de Préférence Alimentaire (TSPA)** repose sur le caractère à la fois social et néophobe des rats. En effet, un rat ayant toutes ses capacités cognitives et faisant face à un choix entre une nourriture inconnue et donc potentiellement dangereuse, et une nourriture préalablement rencontrée et n'ayant pas entraîné de conséquences néfastes, privilégiera cette dernière. En milieu naturel, l'identification d'une nouvelle nourriture peut être une expérience individuelle, *via* l'odorat ou le goût. Cette identification permettrait de diminuer la néophobie naturelle des rongeurs face à la nouveauté présente dans l'environnement naturel (Posadas-Andrews and Roper, 1983). Cependant une simple exposition à l'odeur ou au goût de la nouvelle nourriture n'entraîne qu'une mémorisation temporaire de la familiarité de cette nouvelle nourriture, et son souvenir est rapidement oublié (Bessières et al., 2017).

Au contraire, les travaux de l'équipe de Galef concernant la transmission des informations sur la comestibilité d'une nouvelle nourriture par des interactions entre les membres d'une même colonie, entraîne une mémoire bien plus durable des informations concernant celle-ci (Galef and Beck, 1985). Les congénères, et plus généralement les interactions sociales avec eux, s'avèrent être une source cruciale d'informations pour les autres rats sur l'endroit où se trouve la nourriture, le type de nourriture qui peut être consommé et les substances toxiques à éviter (Galef and Beck, 1985).

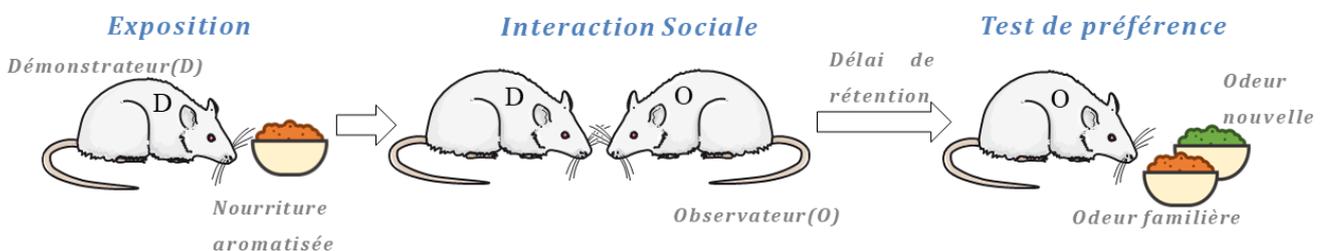


Figure 15 | Principe du test de transmission sociale de la préférence alimentaire. Adapté de Lesburguères et al., 2011.

• Principe de la tâche

Exposition : un rat « démonstrateur » est exposé à une nourriture aromatisée (par exemple au cumin) à laquelle il a préalablement été habitué à consommer (figure 15).

Interaction sociale : le démonstrateur venant de consommer la nourriture aromatisée, interagit avec un rat dit « observateur ». Ce dernier forme une association entre le disulfure de carbone, élément composant naturellement l'haleine du rat, et l'odeur de la nourriture, également présente dans l'haleine du démonstrateur suite à l'ingestion de la nourriture aromatisée.

Test de préférence : après un certain délai de rétention, l'observateur est exposé, lors du test de préférence, à deux nourritures aromatisées : l'une des odeurs est nouvelle (par exemple le thym) et l'autre à l'odeur correspond à la nourriture que le démonstrateur a consommée (par exemple le cumin). **Le rat observateur va alors devoir réactiver la mémoire associative formée lors de l'interaction en consommant préférentiellement la nourriture dont il a senti l'odeur dans**

l'haleine du démonstrateur, car celle-ci étant considérée comme comestible et sans danger. La performance mnésique des rats observateurs sera alors exprimée en pourcentage de nourriture familière consommée sur la quantité totale de nourriture mangée.

- Propriétés principales de la TSPA

La formation durable de souvenirs olfactifs associatifs se fait sous plusieurs conditions, qui ont été caractérisées principalement par l'équipe de Galef. Ces chercheurs ont démontré que l'interaction sociale avec un autre congénère, d'une durée de 15 à 30 minutes, est un élément essentiel dans l'apparition d'une préférence alimentaire durable, une simple exposition n'entraînant pas la formation d'un souvenir à long terme (Galef, 2002, 2003; Galef and Beck, 1985; Galef and Stein, 1985; Galef et al., 1983). L'établissement de la préférence alimentaire de l'observateur ne pourrait se faire que lors de la présence simultanée d'un congénère et de l'odeur aromatisée (Galef, 2002, 2003; Galef et al., 1983), et serait influencé par la formation d'une association entre des composés chimiques volatils à base de soufre (le carbonyle de soufre et le disulfure de carbone) et l'odeur de la nourriture, tous deux présents dans l'haleine du démonstrateur (Galef et al., 1988). Leurs travaux ont également montré que, pour améliorer la persistance de la préférence alimentaire, il est plus efficace d'augmenter le nombre d'interactions avec le même congénère plutôt que de faire interagir l'observateur avec plusieurs démonstrateurs au cours d'une seule interaction (Galef and Whiskin, 1998). De plus, il semble que le souvenir créé soit plus durable lorsque l'observateur a interagi avec un démonstrateur inconnu, plutôt que familial (Galef and Whiskin, 2008) et lorsque le démonstrateur a atteint l'âge adulte (Galef and Whiskin, 1998). Enfin, il est important de noter que le contexte spatial de l'apprentissage de la TSPA apparaît négligeable face à l'importance du contexte social (Strupp and Levitsky, 1984).

2) Pertinence de la TSPA pour l'étude de la formation de la mémoire à long terme

Comme nous l'avons vu, cet apprentissage est basé sur le fait **que les rongeurs développent une préférence naturelle pour la nourriture qu'ils ont récemment sentie dans l'haleine d'autres congénères.** La TSPA offre ainsi plusieurs avantages pour l'étude des mécanismes sous-tendant la formation de la mémoire à long terme. Sur le plan cognitif, il induit une mémoire associative, dite déclarative ou relationnelle (Alvarez et al., 2001; Bunsey and Eichenbaum, 1995; Cohen and Eichenbaum, 1991; Squire, 1992), qui est caractérisée par une **association entre plusieurs stimuli distincts sur le plan modal, et dont le rappel peut se faire dans un contexte différent de celui de l'acquisition** (Eichenbaum, 2000). Cet apprentissage implique d'une part la formation durable d'une association entre 1) le disulfure de carbone et l'odeur de la nourriture présents dans l'haleine du démonstrateur et 2) l'état en bonne santé de celui-ci, association qui permet à l'animal de déterminer et de mémoriser que la nourriture est comestible et sans danger. D'autre part, la nature de cette mémorisation permet à l'animal de se rappeler cette information lors d'un choix à réaliser entre deux nourritures, dans un contexte social et temporel différent du contexte d'apprentissage, mettant en évidence une utilisation flexible de l'information acquise, le rappel étant possible grâce à la présence d'un des éléments mémorisés ; l'odeur de la nourriture qui était présente dans l'haleine du démonstrateur.

Enfin, cette tâche ne nécessite qu'une seule session de 20 minutes, permettant une distinction des différentes phases de mémorisation (la phase d'encodage, la phase de consolidation et la phase de rappel) et donc un contrôle précis des mécanismes que l'on souhaite influencer dans nos expérimentations (Bessières et al., 2017). Enfin, la mémoire peut être testée immédiatement ou à différents délais après l'interaction, ce qui fait de cet apprentissage un paradigme idéal pour l'étude de la consolidation de la mémoire à long terme.

3) Structures impliquées dans la consolidation de la trace mnésique

Cette tâche de TSPA est dépendante de nombreux facteurs pouvant influencer la dynamique des échanges hippocampo-corticaux et de la persistance de la mémoire olfactive associative générée lors de l'interaction. Ainsi que nous l'avons décrit, ce test est composé d'une modalité associative qui implique fonctionnellement les régions hippocampiques et corticales (Bessières et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011; Loureiro et al., 2019; Smith et al., 2007, 2010). Cependant, toutes les phases d'habituation, d'interaction et de rappel ont lieu dans la cage de l'observateur, dans sa zone de stabulation. Ce protocole est donc de **nature non spatiale** et permet de s'affranchir de cette dimension, présente dans beaucoup de paradigmes d'apprentissage. Contrairement à des paradigmes tels que la piscine de Morris ou les labyrinthes, il est possible de restreindre l'implication fonctionnelle de l'HPC dans le processus de consolidation, plutôt qu'à la navigation spatiale ou la reconnaissance d'un contexte. Il a en effet été montré que le rappel de cette mémoire dépend de l'activation de l'HPC lorsque le souvenir est récent (Bunsey and Eichenbaum, 1995; Clark et al., 2002; Lesburgueres et al., 2011), mais pas lorsqu'il est ancien (Clark et al., 2002; Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006).

Au niveau cortical, il a été montré que le COF est impliqué uniquement dans le rappel de la MLT (Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006; Smith et al., 2007, 2010). L'étude de notre équipe a montré que l'interaction entre l'HPC et le COF induisait rapidement des changements structuraux au sein de ce dernier, et que ces changements sont associés au maintien du stockage du souvenir suite au désengagement hippocampique (Lesburgueres et al., 2011). Cette étude révèle ainsi que, bien que le COF ne soit pas nécessaire pour le rappel de la MCT, celui-ci est rapidement recruté par l'HPC, et que la perturbation de cette communication durant la période précoce est associée à une perturbation du rappel de la MLT et à des changements structuraux associés. D'autres études confirment qu'il est important que ces deux structures soient fonctionnelles pour la mise en place de la MLT (Clark et al., 2002; Ross and Eichenbaum, 2006).

Bien que l'implication des autres structures du CPF dans le rappel de la TSPA à court comme à long terme n'avait jusqu'à présent pas été démontrée (Ross and Eichenbaum, 2006), une étude très récente met en évidence le rôle du CPFm dans la plasticité synaptique liée à la rétention de l'information d'une TSPA chez la souris (Loureiro et al., 2019). Dans cette étude combinant des approches comportementales, d'injections virales et d'électrophysiologie, les auteurs ont mis en évidence l'implication de la transmission du cortex piriforme/CPFm/NAc dans le rappel de la MCT d'une TSPA. Plus précisément, cette équipe a montré une modification de la transmission synaptique dans la projection Cortex piriforme/CPFm suite à l'encodage d'une TSPA, et

l'inactivation de cette voie lors de l'encodage ou la perturbation de la plasticité avant le rappel empêche l'expression de la MCT. Parallèlement, il y a une augmentation de l'activation dans la projection CPFm/NAc suite au test de préférence un jour après l'interaction, et cette projection est également essentielle pour ce rappel. Cette étude révèle que, suite à l'interaction avec un congénère et la détection d'une odeur spécifique dans l'haleine de celui-ci, il y a activation du cortex piriforme, qui entraîne l'activation et la potentialisation de la projection vers le CPFm, qui se connecte ensuite au NAc, et semble liée à une augmentation de l'excitabilité de cette projection. Ces résultats démontrent l'importance de cette connexion, et notamment l'importance du CPFm, dans le rappel à court terme d'une tâche de TSPA, et sont en accord avec l'idée que le CPFm aurait pour rôle d'intégrer des multiples modalités à des réponses adaptatives complexes (Euston et al., 2012).

Cette étude est, à notre connaissance, la première à mettre en évidence le rôle du CPFm dans la TSPA. Elle montre également que cette structure est non seulement activée, mais également essentielle pour permettre l'expression de la MCT. Cependant, elle ne permet pas de comprendre l'interaction complexe qu'il peut y avoir entre le CPFm et les autres structures du CPF essentielles au rappel, ni quelles sont les implications de ces interactions dans le rappel de la mémoire. De plus, nous n'avons aucune donnée permettant de comprendre comment cette implication du CPFm évolue au cours de la consolidation mnésique, et si son engagement est toujours essentiel pour permettre le rappel de la MLT. Il apparaît donc intéressant d'essayer de mieux comprendre l'organisation des connexions entre les structures du CPF impliquées dans le rappel de la TSPA. De même, il semble important d'établir une cinétique de l'implication de ces structures néocorticales dans la rétention mnésique au cours du processus de consolidation pour permettre la stabilisation du souvenir. Enfin, nous n'avons pas d'information concernant la réorganisation de cette connectivité entre ces structures néocorticales au cours du processus de stabilisation de la trace mnésique. Ces questions constituent le sujet de mon travail de thèse.

E. Objectifs généraux

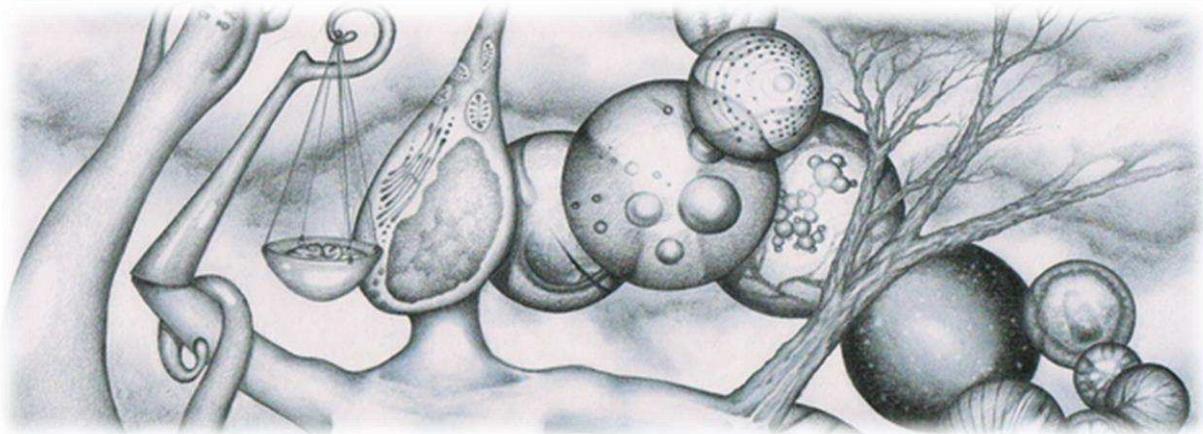
La réorganisation systémique au niveau cortical représente l'un des mécanismes majeurs pour la rétention à long terme de la mémoire, et notamment de la mémoire associative. Selon le modèle standard, cette réorganisation corticale se met en place suite à un dialogue hippocampo-cortical permettant la maturation de la trace mnésique au niveau cortical, qui pourrait alors être rappelée indépendamment de l'HPC. Comme nous l'avons vu précédemment cette réorganisation corticale ne semble pas suivre le même schéma temporel dans toutes les structures du néocortex. Ainsi l'objectif des deux premières parties de mon travail de thèse a été de déterminer l'évolution de la connectivité anatomo-fonctionnelle des régions du cortex frontal dans la consolidation d'une mémoire associative olfactive chez le rat. Pour réaliser cette étude nous avons :

- dans un premier temps validé une méthode d'analyse pour détecter et quantifier l'activité neuronale en utilisant une approche *post-mortem* de détection de c-fos par immunohistochimie.
- Dans un second temps, nous avons réalisé une cartographie de l'activité neuronale dans les régions frontales et analysé par des mesures de corrélations, l'évolution de la connectivité fonctionnelle au cours du processus de consolidation. Si notre analyse corrélative fait apparaître des nœuds critiques pour le processus de consolidation, nous manipulerons ces structures grâce à une approche de pharmacogénétique.

La rétention à long terme, tout comme la plupart de nos aptitudes cognitives, se dégradent au cours du vieillissement. Ces perturbations « normales » des capacités à se souvenir de certaines informations sont considérées comme des « troubles de la mémoire associées à l'âge ». Si les différents types de mémoire ne subissent pas les mêmes degrés de perturbation au cours du vieillissement normal, il a été montré que la mémorisation des informations spatiales est particulièrement perturbée chez les sujets âgés sains, comparés aux sujets jeunes et peut varier d'un individu à un autre. C'est pourquoi, basé sur l'analyse d'une série d'observations issue d'une large cohorte de souris âgées (22 mois) soumis à un test de discrimination spatiale réalisée dans un labyrinthe radiaire à 8 bras, notre troisième partie de thèse avait pour but de générer un index de catégorisation permettant de graduer la sévérité des déficits de mémoire spatiale chez la souris âgées.

Ce nouvel outil pourrait être utilisé conjointement à d'autres index comportementaux ou neurofonctionnels comme ceux développés dans les parties A et B pour identifier des fragilités spécifiques de certaines connections cérébrales ou des adaptations, liés au vieillissement, dans les stratégies comportementales utilisés par la souris pour résoudre une tâche de mémoire spatiale.

Partie A : Optimisation des protocoles de révélation de l'activité cérébrale



A. Introduction

Les **gènes d'activation précoce** (GAP) sont utilisés depuis plusieurs décennies comme des marqueurs indirects pour mesurer l'activité neuronale. Bien que la plupart des gènes aient été étudiés dans des milliers de laboratoires à travers le monde, leurs rôles dans les processus biologiques n'ont toujours pas été clairement définis. L'étude de la cinétique d'expression des GAP les plus communément utilisés pour cartographier l'activité neuronale, comme *c-fos* et *Zif268*, a permis de révéler le rôle des structures cérébrales ou de populations neuronales dans des phénomènes aussi variés que l'exécution de tâche ou la mémoire, mais aussi dans des processus pathologiques comme l'addiction (Bisler et al., 2002; Mello and Ribeiro, 1998; Zangenehpour and Chaudhuri, 2002).

Au sein du système nerveux central, ces protéines peuvent jouer un rôle de facteurs de transcription qui influencent la physiologie neuronale en régulant l'expression de gènes cibles, couramment appelés **gènes de réponse tardive** (Curran and Franza, 1988; Curran and Morgan, 1987; Herdegen and Leah, 1998; Pinaud, 2004; Tischmeyer and Grimm, 1999). D'autres comme *Arc* vont directement influencer la fonction cellulaire en agissant directement sur des cascades moléculaires régulant la fonction ou la structure du neurone (pour revue Lanahan and Worley, 1998). S'il existe une grande diversité de GAP, l'expression de *Zif268*, d'*Arc* et surtout de *c-fos* a été plus particulièrement étudiée dans un contexte d'apprentissage et de mémoire. Des changements dans leurs expressions ont en effet été observés dans un nombre limité de neurones, dans les régions associées à la mémoire et à l'apprentissage tels que l'HPC ou certaines régions corticales. La détection de *c-fos* a également été utilisée pour réaliser une cartographie de l'activité neuronale sur cerveaux entiers soit après immunohistochimie (Wheeler et al., 2013), soit grâce à l'utilisation d'une souris transgénique dans laquelle le promoteur de *c-fos* est utilisé pour marquer les cellules recrutées et activées lors des différentes phases de la consolidation (Roy et al., 2019). Toutes ces études illustrent l'intérêt de l'étude de ces protéines en général, et de *c-fos* en particulier, comme marqueurs permettant l'identification des cellules sous-tendant la formation et la maintenance de la mémoire dans une population neuronale spécifique (Guzowski et al., 1999; Minatohara et al., 2016; Ramirez-Amaya, 2005).

Ces quatre dernières décennies s'est développé un important marché des anticorps permettant de détecter la plupart des protéines par des méthodes aussi variées que l'immunohistochimie, la cytométrie en flux, ou les méthodes de *western blot*. Les anticorps sont ainsi devenus un outil important et incontournable de la recherche. La fiabilité des résultats scientifiques obtenus à partir de ces anticorps est donc primordiale, car ils sont à l'origine de plusieurs milliers de

publications chaque année dans le monde, qui influencent des conclusions et décisions importantes dans le domaine de la recherche, sur le plan clinique comme fondamental.

Cependant, l'utilisation massive de ces anticorps a entraîné en parallèle de nombreux questionnements, notamment suite à la mise en évidence de la variabilité et de la faible reproductibilité de nombreux résultats, menant la communauté scientifique à réfléchir sur la nécessité de standardiser une méthode afin de valider l'efficacité de ces anticorps, préalablement à leur utilisation dans le cadre d'une question scientifique (Bordeaux et al., 2010; Goldstein et al., 2007). En outre, un nombre croissant d'études dénonce le manque de qualité des anticorps que l'on peut trouver sur le marché, et pointe du doigt leurs problèmes de spécificité, et toutes les conséquences que cela peut avoir d'un point de vue scientifique, clinique mais aussi éthique (Bordeaux et al., 2010; Goldstein et al., 2007; Griffiths and Lucocq, 2014). Notre équipe, comme de nombreuses autres à travers le monde, a été confrontée à ces problèmes de reproductibilité des résultats en fonction des lots d'une même référence d'anticorps mais aussi de l'arrêt de la production d'un catalogue entier de référence comme cela a pu être le cas pour la société *Santa Cruz biotechnology* (Lowe, 2016), qui fournissait un anticorps c-fos largement utilisé dans la communauté des neuroscientifiques travaillant sur la consolidation (Katche et al., 2010, 2010; Lesburgueres et al., 2011; Loureiro et al., 2019; Zhang et al., 2002). C'est dans ce contexte que nous avons décidé de développer une méthode permettant de valider rapidement les anticorps c-fos, que ce soit au niveau de sa spécificité, ou de sa sensibilité. Nous avons également validé deux méthodes d'imagerie bas ou haut débit afin de réaliser une quantification de l'activité neuronale dans une région spécifiquement activée lors d'une tâche mnésique de transmission sociale de préférence alimentaire.

B. Contributions expérimentales

I. Mise au point du protocole d'analyse

Afin d'étudier l'activité induite par le rappel de l'information transmise lors de la TSPA, il convient d'élaborer et de valider un protocole qui nous permette de compter de façon pertinente le nombre de neurones activés dans les structures recrutées pour le rappel, en utilisant le marqueur d'activité neuronal c-fos. L'objectif, est dans un premier temps, de valider notre méthode d'analyse et de comptage, et dans un second temps, de valider les anticorps que nous utiliserons pour le reste des protocoles d'immunofluorescence utilisés dans cette thèse.

I.a - Matériels et méthodes

1) Sujets et condition d'élevage

L'ensemble des expériences présentées dans les parties A et B de cette thèse ont été réalisées sur des rats mâles adultes âgés de 2 à 5 mois, de la lignée Sprague-Dawley, provenant du centre d'élevage Janvier (Le Genest-St-Isle). À leur arrivée au laboratoire, les animaux ont été placés en

cages collectives (2 ou 3 rats par cage) et ont disposé de nourriture et d'eau *ad libitum* dans une animalerie climatisée (22-23°C) équipée d'un cycle artificiel lumière-obscurité de 12 heures (7h00-19h00). Les animaux ont bénéficié d'une semaine d'acclimatation à l'animalerie après laquelle, les rats sont isolés et manipulés pendant environ 3 min sur une semaine.

L'ensemble des protocoles expérimentaux a débuté après ces deux semaines d'habituance, et a eu lieu pendant la phase éclairée du cycle jour-nuit. Toutes les expériences ont été réalisées en accord avec les Directives européennes sur les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire (2010/63/UE) et un ensemble de procédures validé par le comité d'éthique local (N° de saisine 17823).

2) Injections intra péritonéales

Pour valider nos anticorps, nous utilisons un challenge pharmacologique par injection intrapéritonéale de sulpiride pour induire une augmentation d'activité neuronale. Nous comparerons cette condition à une condition « non activée », avec une injection intrapéritonéale (i.p.) de de solvant du sulpiride.

Le sulpiride, ou *(S)-5-aminosulfonyl-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidiny)methyl]-2-methoxybenzamide* est un neuroleptique puissant agissant sur la voie dopaminergique. C'est un antagoniste sélectif des récepteurs dopaminergiques D₂. Une étude a montré que cette molécule, par son action sur les neurones du *Globus Pallidus*, riche en récepteurs dopaminergiques de type D₂, (Marshall et al., 2001) entraîne l'activation des neurones striataux observable par une augmentation de la production de c-fos. Les rats ont reçu une injection i.p. de solution sulpiride (Sigma Aldrich, USA, 100 mg/kg, le sulpiride étant repris dans une solution contenant 0,45 g et 10 mL d'acide acétique pour 100 mL H₂O). Les solutions sont préparées le jour de l'injection.

3) Groupes et plan expérimental

Les animaux sont répartis en deux groupes ; un groupe expérimental (n=3) recevant une injection d'une solution sulpiride, et un groupe contrôle recevant une injection de solvant (n=4). Après injection, les animaux sont replacés dans leur cage et maintenus dans la pièce de stabulation habituelle pendant 90 min. Le groupe contrôle a permis d'isoler l'activation neuronale non spécifique, liée au stress lors de la contention et de l'injection, ou due à toute autre variable inhérente à notre protocole et qui aurait pu induire une expression de c-fos. L'expérience s'est déroulée selon le plan expérimental décrit en figure A.1.

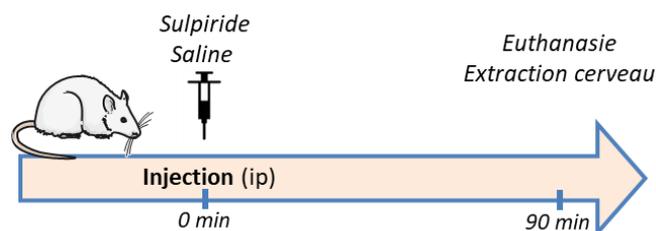


Figure A.1 | Plan expérimental de l'expérience 1.

4) Euthanasie et préparation des coupes

Les animaux ont été profondément anesthésiés par injection intrapéritonéale de 2ml de pentobarbital sous forme d'Exagon® couplé à de la Lidocaïne (solution Saline 0.9%, Pentobarbital 5% (Richter Pharma, Autriche) et Lidocaïne 15% (AstraZeneca, USA)). Ils ont ensuite reçu une perfusion intracardiaque de sérum physiologique (NaCl 0.9g pour 100mL, 350 ml délivrés à 40 ml/min) puis de fixateur (350 ml, paraformaldéhyde (PFA) à 4% préparé dans un tampon phosphate (0.1M; pH = 7.4). Les animaux ont alors été décapités et les cerveaux ont été prélevés et post-fixés dans le PFA 4% durant 24h à 4°C. Nous avons ensuite réalisé des coupes coronales des cerveaux (50 µm d'épaisseur) à l'aide d'un vibratome (Leica microsystems, Allemagne), qui ont été conservées dans une solution de tampon phosphate 0.1M additionné de 0.02g pour 100mL de sodium azide (Sigma Aldrich, USA) à 4°C jusqu'à leur utilisation.

5) Protocole d'immunofluorescence indirecte sur coupe flottante

Le principe de l'immunofluorescence indirecte est présenté en figure A.2 ; le double marquage en immunofluorescence nous permet d'identifier les cellules recrutées par la tâche grâce au marquage c-fos (marqueur d'activité neuronale) et vérifier la nature neuronale de ces cellules grâce au marquage NeuN (marqueur neuronal).

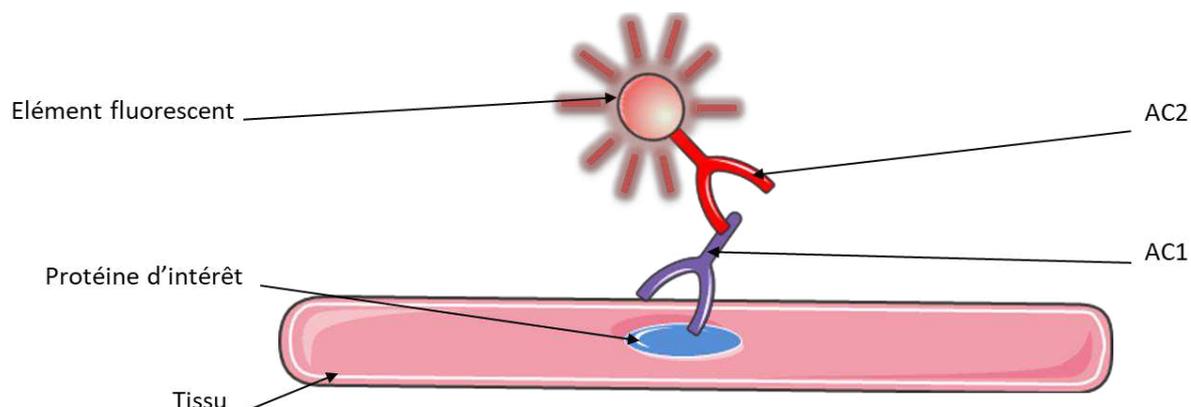


Figure A.2 | Principe de détection d'une protéine par Immunofluorescence indirecte. La protéine d'intérêt est détectée par un anticorps primaire (AC1) dirigé contre l'antigène ciblé, et développé sur un modèle particulier (lapin, souris ou poule). L'anticorps secondaire (AC2) est dirigé contre les protéines de cette espèce (lapin, souris ou poule) et va donc spécifiquement reconnaître et se lier aux AC1. Ces AC2 sont couplés à un fluorochrome excitable par un faisceau lumineux d'une longueur d'onde donnée, et qui vont émettre des photons lorsqu'ils sont excités, permettant de détecter indirectement notre protéine d'intérêt dans notre tissu.

Les coupes flottantes de cerveaux sont réparties dans des plaques de 12 à 24 puits et sont rincées 10 min dans du tampon phosphate 0.1M. Les coupes sont ensuite pré-incubées pendant 2 heures dans une solution de blocage, composée de tampon phosphate 0.1M contenant 0.1% d'albumine sérique bovine (ASB, Sigma Aldrich, USA), 2% de sérum de chèvre (Biowest, France) et 0.2% de Triton X100 (Sigma Aldrich, USA). Cette solution de blocage va permettre de saturer les sites non spécifiques de fixation des anticorps. Les coupes sont ensuite incubées pendant la nuit, à température ambiante sous agitation modérée, dans la solution de blocage contenant les anticorps primaires :

1. Un anticorps primaire de lapin anti-**c-fos** issu de plusieurs fournisseurs différents :
 - a. Cell Signalling (Cells - #2250S, USA, de 50 à 200 ng/μl – Après communication avec les fournisseurs, il s'avère que les anticorps passent un test de qualité et la concentration dans les lots est ajustée afin que les résultats de ce test soient similaires d'un lot à l'autre),
 - b. Santa Cruz (SantaC – sc-52, USA, 100 ng/μl),
 - c. Synaptic System (Ssys - # 226003, Allemagne, 1000 ng/μl),

Pour le test d'effet-dose, chaque anticorps a été dilué à 1 :500, 1 :1000, 1 :2500, 1 :5000, 1 :7500 et 1 :10000. Une dose optimale a ensuite été choisie pour chaque anticorps, en fonction des résultats et de l'analyse qualitative du ratio signal/bruit.

2. Un autre anticorps primaire de souris anti-**NeuN** (Merck, MAB377, Allemagne, 100 ng/μl) à 1 :500.

Les coupes sont lavées le lendemain 3 x 15 min dans du tampon phosphate 0.1M avant d'être incubées pendant 2h à température ambiante, protégées de la lumière et sous agitation constante, dans une solution de blocage contenant les anticorps secondaires: un anticorps secondaire de chèvre anti-lapin couplé au fluorochrome Cy3 (longueurs d'ondes absorption/émission: 550 à 570 nm; 1 :500, Jackson ImmunoResearch, 111-165-144, USA) et un anticorps secondaire de chèvre anti-souris couplé à l'Alexa 488 (longueurs d'ondes absorption/émission: 495 à 519 nm; 1:500, Molecular Probes, A11001, USA). Après incubation, les coupes sont de nouveau lavées 3 x 15 min dans du tampon phosphate 0.1M avant d'être montées sur lame de verre avec 60μl du milieu de montage pour fluorescence à base de Mowiol (Mowiol (Calbiochem, USA) 10%, 0.2M Tris 50%, eau distillée 25%, glycérol 15%, Sodium Azide 0.02%) et recouvertes d'une lamelle de verre.

6) Acquisition dans les structures d'intérêt

Les images sont acquises sur un microscope à épifluorescence (Imager M2. ZEISS, Allemagne), équipé d'une caméra (C10600. Hamamatsu, Japon), à un grossissement x10 avec un temps d'acquisition de 1000 ms et un gain de 1 pour toutes les images. L'acquisition a été réalisée par le logiciel MorphoStrider (ExploraNova, France). Les longueurs d'ondes utilisées sont 488 nm pour le marquage des cellules NeuN⁺, et 568 nm pour le marquage des cellules c-fos⁺.

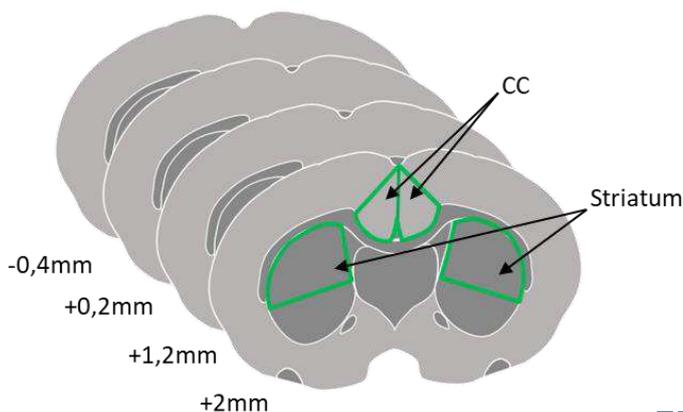


Figure A.3 | Sections coronales schématiques du cerveau de rat (adaptées de l'atlas de Paxinos and Watson, 1998), montrant les régions d'intérêt sélectionnées (en vert) ; le Cortex cingulaire (CC) et le Striatum, pour le comptage des protéines c-fos et NeuN, sur quatre coupes. Le nombre placé sur le côté de chaque coupe indique la distance (en millimètre) par rapport au point de Bregma.

Des mosaïques sont réalisées dans nos zones d'intérêt, qui sont représentées sur la figure A.3. Ces zones, délimitant le striatum et le **Cortex Cingulaire (CC)**, sont déterminées selon l'atlas stéréotaxique (Paxinos and Watson, 1998), sur quatre coupes (+2 mm, +1.2 mm, +0.2 mm et -0.4 mm par rapport au bregma) sur lesquelles les deux structures sont présentes bilatéralement.

7) Analyses et traitement d'image

Pour le comptage des cellules, nous avons utilisé le logiciel ImageJ (version Fiji, USA). Par une méthode semi-automatique, nous faisons un comptage des pics d'intensité du signal dans nos structures d'intérêt, qui seront comptabilisés comme des cellules exprimant la protéine recherchée. En outre, le seuil de détection des pics d'intensité a été choisi afin de ne comptabiliser que les cellules les plus marquées (seuil de détection de 1200 pour NeuN et 6000 pour c-fos). En effet, il est difficile de déterminer quelle est la raison de la variation de l'intensité de ces signaux, qui peut être due soit au fait que certaines cellules sont localisées sur un plan de coupe différent, soit parce que l'expression de la protéine d'intérêt dans ces cellules est plus faible. Par cette méthode, l'objectif est donc de compter les cellules sur un plan précis de la coupe, en faisant abstraction des cellules ayant un signal plus faible.

Toutes les analyses de cette thèse ont été effectuées à l'aide du logiciel GraphPad Prism v6.01 (Software McKiev, USA). Sauf lorsque précisé, « n » désigne de façon générale le nombre de rats testés. Les analyses des marquages seront pour l'ensemble de cette thèse, sauf cas spécifiés, exprimés en nombre de cellules protéine-positives par mm² (± écart standard à la moyenne (ESM) pour chaque moyenne exprimée). Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% (p < 0.05) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

Pour la validation de la méthode, afin d'évaluer à la fois le comptage du nombre de cellules positives, que ce soit c-fos ou NeuN, mais également pour évaluer la pertinence dans le choix de la délimitation de la région analysée, nous avons décidé de comparer le **pourcentage de neurones actifs**, calculé selon la formule :

$$\text{Activité (\%)} = \frac{\text{cellules c - fos} +}{\text{cellules NeuN} +} * 100$$

Ce taux a été calculé par deux expérimentateurs différents, qui ont effectué les comptages en aveugle. Le pourcentage d'activité est calculé sur nos zones d'intérêt pour chaque tranche, en faisant la moyenne des deux régions droite et gauche. L'analyse des résultats de comptage a été effectuée au moyen d'un test de corrélation de Pearson afin de comparer les pourcentages d'activation obtenus par les deux expérimentateurs.

Pour la validation des anticorps, afin d'augmenter la pertinence de nos comparaisons et des résultats statistiques, **nous avons pris des coupes de cerveaux provenant des mêmes animaux sur lesquelles nous avons appliqué les différents anticorps anti-c-fos**. L'analyse des résultats de comptage a été effectuée pour chaque anticorps avec un t-test non apparié après avoir vérifié la

normalité de distribution des valeurs avec un test de Shapiro-Wilk. Nous avons également analysé le pourcentage d'augmentation de $c\text{-fos}^+/\text{mm}^2$ en fonction des anticorps afin de déterminer leur sensibilité à l'augmentation de $c\text{-fos}$ selon la formule ci-dessous. Ces résultats ont ensuite été analysés via une ANOVA à un facteur, anticorps (Cells vs SantaC vs SySy).

$$\text{Augmentation (\%)} = \frac{\text{cellules } c\text{-fos}^+/\text{mm}^2 \text{ en condition expérimentale}}{\text{cellules } c\text{-fos}^+/\text{mm}^2 \text{ en condition contrôle}} * 100$$

I.b – Résultats

1) Validation de la méthode de comptage semi-automatique

La figure A.4.a illustre le double marquage $c\text{-fos}/\text{NeuN}$ dans le CC. Lors de l'analyse, nous pouvons voir que la détection et le comptage des pics d'intensité à partir de l'image brute ne reflète pas de façon pertinente le nombre de cellules $c\text{-fos}^+$ (figure A.4.b). Cela est dû au fait qu'au sein d'une cellule, le signal, et donc l'intensité lumineuse, ne sont pas homogènes (figure A.4.c), et il peut donc y avoir plusieurs points de forte intensité pour une même cellule. Afin de pallier à ce problème, nous avons appliqué sur notre image deux filtres ; un filtre médian (radius 3) qui permet d'homogénéiser le signal, puis un filtre gaussien (radius 3) qui permet de l'adoucir (figures A.4.b et c). L'application de ces filtres permet un comptage plus représentatif, par une meilleure individualisation des cellules $c\text{-fos}^+$ (figure A.4.b).

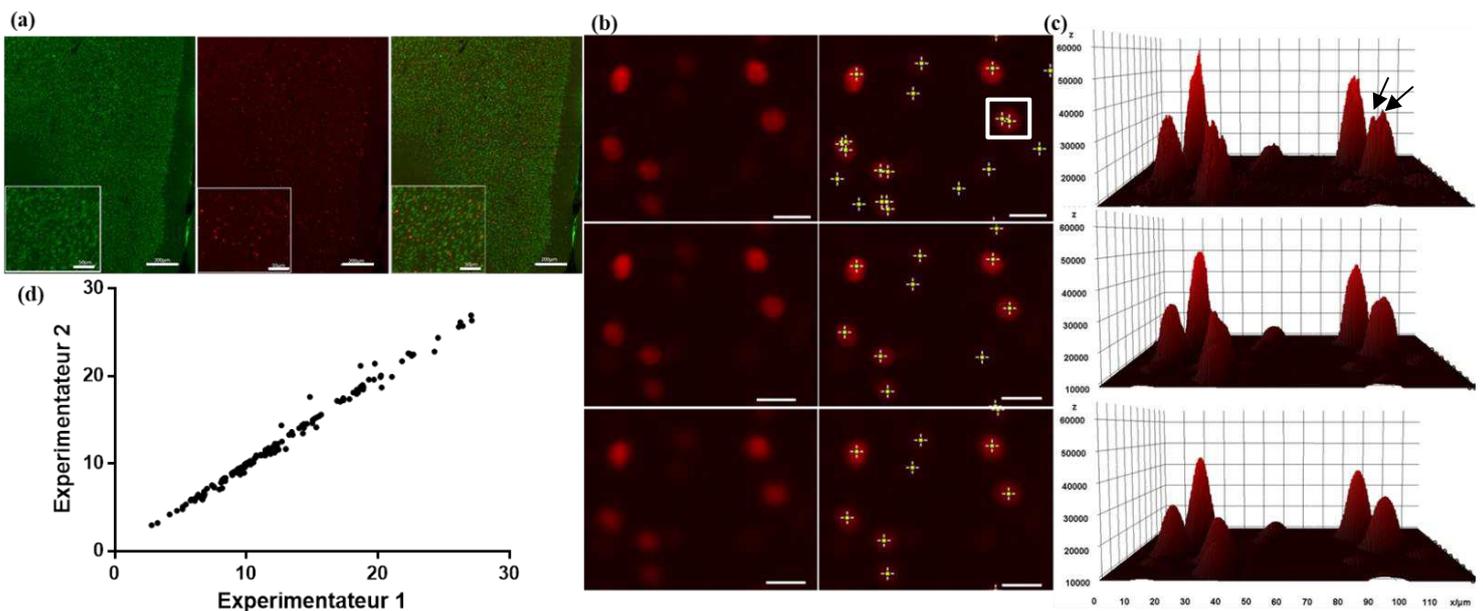


Figure A.4 | Validation de la procédure d'analyse de l'activité $c\text{-fos}$ dans les structures cérébrales sous imageJ Fiji (a) Illustration du marquage NeuN (à gauche), $c\text{-fos}$ (au centre) et le double marquage (à droite) dans le Cortex cingulaire (CC). Échelles à $200\mu\text{m}$, zoom à $50\mu\text{m}$. (b) Illustration d'un marquage de cellules $c\text{-fos}^+$. Sur l'image brute (en haut) on voit que le comptage des cellules $c\text{-fos}^+$ (représentées par les croix, à droite) est faussé et que certaines cellules sont comptées plusieurs fois, en raison de la présence de plusieurs pics d'intensité pour la même cellule (visible en (c), en haut). Pour pallier à ce problème, nous avons appliqué un filtre médian (image au centre) puis gaussien (image en bas). Echelles à $20\mu\text{m}$. (c) Graphiques représentant l'intensité lumineuse des images de (b) en 3 dimensions, les filtres appliqués permettent d'adoucir et d'homogénéiser le signal et permettent un comptage plus juste des cellules (visible en (c), en bas). (d) Corrélation du comptage de pourcentage de cellules activées (cellules $c\text{-fos}^+ * 100/\text{cellules NeuN}^+$) dans le CC par l'expérimentateur 1 et l'expérimentateur 2. **Analyse statistique** : test corrélatif de Pearson ; $r^2=0.9912$; $n=144$ régions.

Après le développement de cette méthode de quantification de nos signaux c-fos, nous avons voulu vérifier la pertinence de notre méthode de traitement d'analyse d'image et des zones de travail d'intérêt. Pour cela nous avons comparé le comptage réalisé en aveugle par deux expérimentateurs différents sur un ensemble de 144 régions (qui représentent la moyenne des zones droite et gauche par tranche, soit 288 zones au total), regroupant toutes les conditions expérimentales. L'expérimentateur 1 obtient une moyenne de pourcentage d'activation de 12.69% (± 0.46) et 12.53% (± 0.46) pour l'expérimentateur 2. La comparaison de nos résultats permet de mettre en évidence une forte corrélation entre le pourcentage d'activité par tranche pour les deux expérimentateurs (Test corrélatif de Pearson, $r^2=0.9912$; $n=144$; $P<0.0001$ – figure A.4.d), démontrant ainsi que **la délimitation des zones d'intérêt est stable d'un expérimentateur à un autre, mais également que le pourcentage d'activité calculé, reflétant le seuil de comptage des cellules exprimant les protéines d'intérêt, semble stable et pertinent.**

2) Test d'effet-dose

La figure A.5 reprend les illustrations obtenues pour l'effet dose-réponse des trois anticorps anti c-fos ; SantaC (figure A.5.a), SySy (figure A.5.b) et Cells (figure A.5.c), pour les dilutions de 1 :500, 1 :1000, 1 :2500, 1 :5000, 1 :7500 et 1 :10000 (de gauche à droite).

En ce qui concerne l'anticorps SantaC, on remarque qu'à partir d'une dilution de 1 :2500, il n'est quasiment plus possible de détecter des cellules c-fos⁺, tandis que le ratio signal/bruit semble optimal à une dilution 1 :1000. L'anticorps SySy, quelle que soit la dilution, montre un

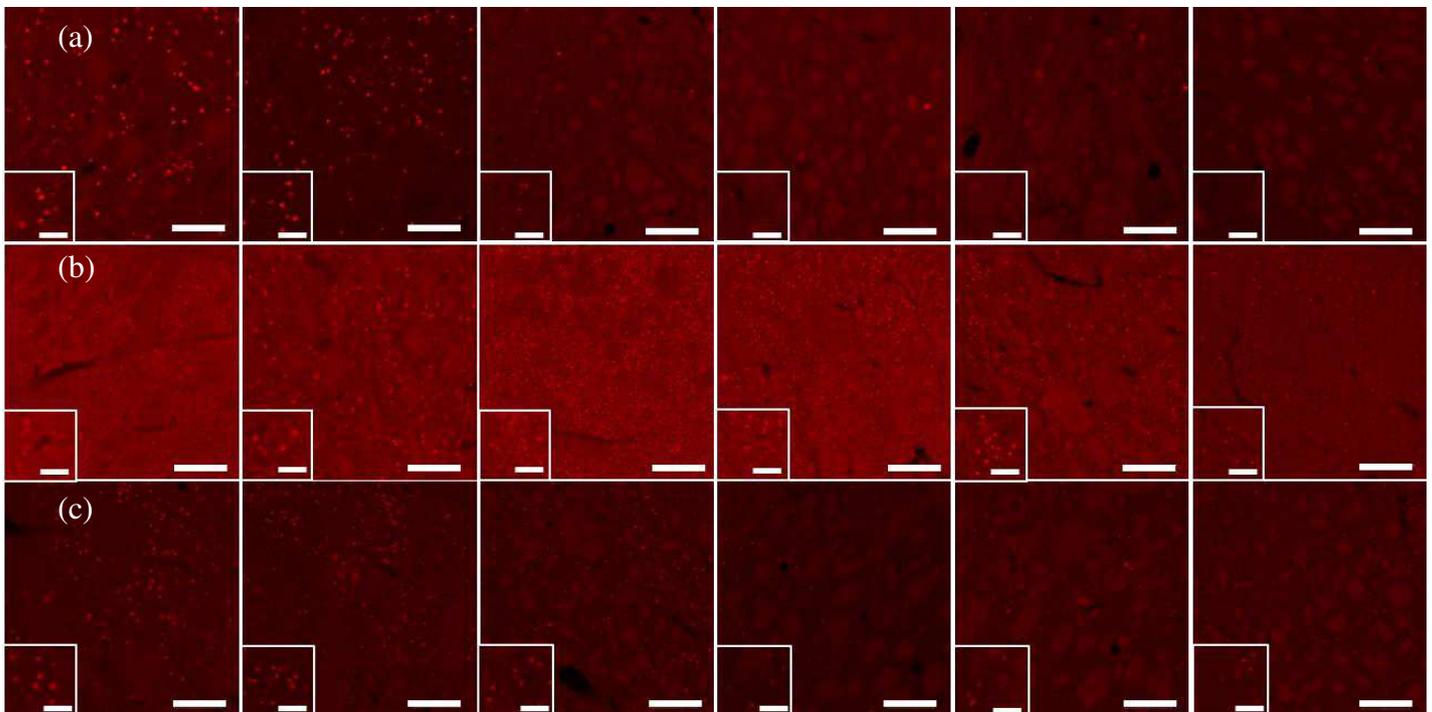


Figure A.5 | Sélection d'une dose-réponse appropriée pour chaque anticorps anti c-fos. Suite à une injection de sulpiride en *i.p.*, nous avons réalisé un effet dose-réponse dans le striatum par immunofluorescence, en utilisant trois anticorps anti c-fos différents. Illustrations du marquage des cellules c-fos⁺ de gauche à droite : 1:500; 1:1000; 1:2500; 1:5000; 1:7500 et 1:10000, pour les anticorps anti c-fos: **(a)** Santa Cruz, **(b)** Synaptic System et **(c)** Cell Signaling. Echelles 200 μ m, zoom à 50 μ m.

signal basal très important : il est possible de distinguer un nombre très important de cellules marquées, certaines fortement et d'autres plus faiblement. Même si à une dilution très importante, le ratio signal/bruit semble meilleur, le nombre de cellules marquées reste élevé et les deux populations fortement et faiblement marquées sont encore présentes. L'anticorps Cells offre un ratio signal/bruit approprié quelle que soit la dilution, la variabilité de l'intensité du signal semble cependant meilleure à une dilution de 1 :500. Nous avons donc, pour la suite de cette partie, décidé d'utiliser l'anticorps anti c-fos SantaC à une dilution de 1 :1000, l'anticorps SySy à une dilution de 1 :10000 et l'anticorps Cells à une dilution de 1 :500.

3) Validation des anticorps c-fos

Afin de tester la capacité de ces anticorps à identifier une activation neuronale, nous avons opté pour une approche pharmacologique (par injection de Sulpiride), qui est plus reproductible, et surtout facile à réaliser dans tous les laboratoires pratiquant l'expérimentation animale. L'approche pharmacologique a également l'avantage d'éviter l'approche comportementale plus

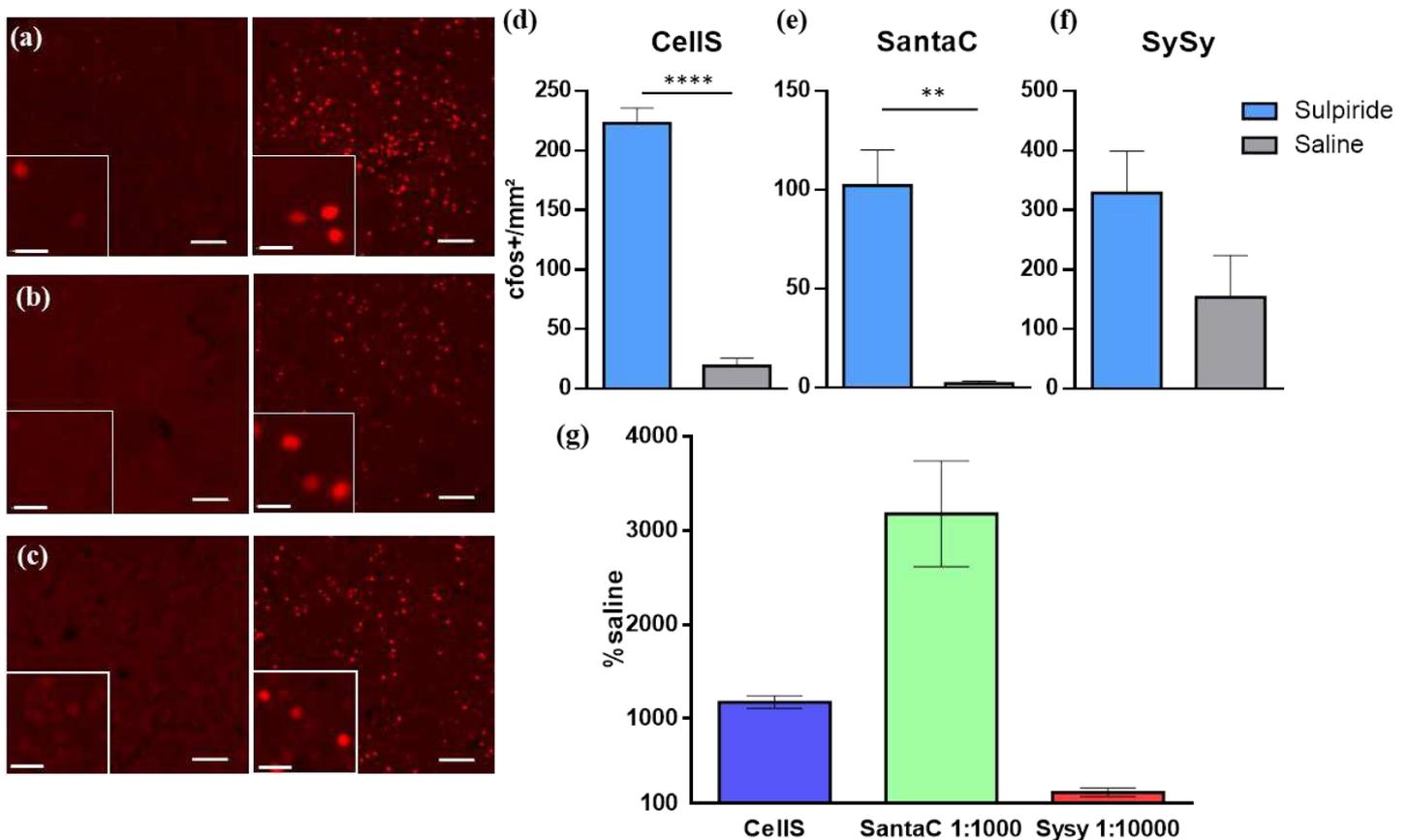


Figure A.6 | Procédé de validation de l'utilisation d'anticorps anti c-fos en condition activé/non activé, suite à une injection de sulpiride (ou saline) en *i.p.*, nous avons réalisé un comptage des cellules c-fos⁺ dans le striatum par immunofluorescence, en utilisant trois anticorps anti c-fos différents: à gauche, illustrations du marquage des cellules c-fos⁺ en condition saline (à gauche) ou de sulpiride (à droite), avec (a) l'anticorps anti c-fos Cell Signaling (Cells, dilution 1:500), (b) l'anticorps anti c-fos Santa Cruz (SantaC, dilution 1:1000), (c) l'anticorps anti c-fos Synaptic System (SySy, dilution 1:10000) échelles à 100µm, zoom 20µm. Comptage des cellules c-fos⁺/mm² (±ESM) dans le striatum en condition sulpiride et saline révélée par l'anticorps (d) Cells, (e) SantaC et (f) SySy. (g) Pourcentage de l'augmentation de l'activation (±ESM) en condition sulpiride comparée à la condition saline, révélé selon chaque anticorps. **Analyse statistique** : *****P*<0,0001, ***P*<0,01. n=3 à 4.

sujette aux variabilités expérimentales et plus difficile à mettre en place. La figure A.6 donne une illustration du marquage dans le striatum pour les conditions saline et sulpiride avec l'anticorps anti c-fos CellS (figure A.6.a), SantaC (figure A.6.b) et SySy (figure A.6.c). Il est possible de voir qu'avec l'anticorps SySy, il y a un nombre important de cellules marquées, y compris au niveau basal. En comparant les groupes pour chaque anticorps, un t-test non apparié révèle une différence entre les conditions saline et sulpiride pour l'anticorps CellS (saline : 19.0 ± 6.77 , sulpiride : 223.0 ± 12.67 ; $t_{(5)}=15.35$, $p<0.0001$) ainsi que pour l'anticorps SantaC (saline : 2.0 ± 1.28 , sulpiride : 102.2 ± 18.03 ; $t_{(5)}=6.606$, $p=0.012$) mais pas pour l'anticorps SySy (saline : 153.7 ± 70.16 , sulpiride : 329.0 ± 69.79 ; $t_{(3)}=1.68$, $p=0.191$). L'analyse du pourcentage d'augmentation de c-fos⁺/mm² en fonction de la condition contrôle saline (figure A.6.e) pour l'anticorps CellS met en évidence une augmentation de 11.74 (± 0.67) fois par rapport à la condition saline, de 31.78 (± 5.61) fois pour l'anticorps SantaC mais seulement de 2.14 (± 0.45) pour l'anticorps SySy.

I.c – Conclusions

Une fois notre méthode de comptage semi-automatique mise au point et validée, nous avons pu tester les différents anticorps anti c-fos. Les mesures de c-fos/mm² révélées par l'anticorps SySy surestime clairement le nombre de cellules réellement c-fos⁺, et ne semble pas refléter le nombre de cellules réellement c-fos⁺. En effet, il est possible de voir qu'un nombre important de cellules sont marquées, amenant à penser que la fixation de l'anticorps ne se fait pas spécifiquement aux protéines c-fos. Cela est appuyé par l'incapacité de cet anticorps, dans le cadre de ce protocole, à mettre en évidence une différence entre deux conditions d'activité très distinctes. Toutefois une dilution encore plus importante de cet anticorps pourrait donner des résultats plus similaires à ceux obtenus avec les deux autres anticorps.

L'anticorps SantaC semble offrir un bon ratio signal/bruit à une concentration 1 :1000, permettant également de mettre en évidence une différence entre les conditions sulpiride et saline. Cependant, il est à noter qu'en condition basale, le nombre de neurones c-fos⁺ détecté est relativement faible contrairement à ce qu'on pourrait attendre. De plus, lorsque nous analysons le pourcentage d'augmentation du nombre de c-fos⁺/mm², nous pouvons observer qu'il y a trente fois plus de cellules activées en condition sulpiride qu'en condition saline, ce qui semble illustrer le manque de sensibilité de l'anticorps lorsque la protéine c-fos est exprimée lors d'une condition basale. Afin de déterminer si cette différence de sensibilité peut être problématique lors d'une analyse plus subtile de l'activité, nous avons testé l'anticorps CellS et SantaC dans le cadre de la consolidation mnésique.

II. Validation de l'anticorps sur une problématique scientifique : révélation de la corticalisation d'une information

L'objectif est ensuite de déterminer lequel des deux anticorps anti c-fos CellS (1 :500) et SantaC (1 :1000) est pertinent dans le cadre de l'étude des régions corticales nécessaires au rappel à long terme de la trace mnésique lors de la consolidation. Pour cela, nous avons comparé les résultats obtenus avec ces deux anticorps au sein d'une structure que l'on sait déjà impliquée dans le rappel

à long terme de l'information apprise lors du test de transmission sociale de préférence alimentaire (TSPA) ; le **Cortex Orbito-Frontal** (COF - [Lesburgueres et al., 2011](#)).

II.a – Matériels et méthodes

1) Procédure d'apprentissage : la tâche de Transmission Sociale de Préférence Alimentaire

Comme toutes les expérimentations impliquant un apprentissage, la tâche de TSPA a été réalisée dans la salle de stabulation des rats observateurs, dans leur cage individuelle d'élevage habituelle, afin de réduire au maximum les aspects de nouveauté et contextuel de la tâche. Ce test exigeant des animaux une consommation alimentaire, ceux-ci ont donc été soumis à une restriction alimentaire afin d'augmenter leur motivation à consommer de la nourriture. Une ration adéquate (environ 15g) a alors été distribuée quotidiennement afin de maintenir un niveau de privation constant chez tous les animaux. Ce protocole consiste à faire apprendre à un rat, *via* une interaction avec un congénère, qu'une nourriture aromatisée est sans danger pour lui. Deux groupes sont donc constitués ; le groupe des démonstrateurs, habitués à consommer de la nourriture aromatisée, et le groupe des observateurs, qui devront réaliser l'apprentissage associatif. La procédure comportementale peut se diviser en trois étapes principales :

• La phase d'habituation

L'objectif de cette phase est d'habituer l'animal à se nourrir dans des ramequins en porcelaine blanche (H : 6 cm, Ø : 10 cm) contenant la nourriture d'élevage en poudre, afin de réduire son aversion et son stress lors de la présence de ces ramequins. Les rats démonstrateurs sont partiellement privés de nourriture 5 jours avant l'interaction. Lors du deuxième jour de privation, les rats démonstrateurs sont habitués, lors d'une session de 30 min, à consommer de la nourriture en poudre aromatisée au cumin (0.5 %, soit 0.5 g de cumin mélangé à 99.5 g de nourriture nature) qui est contenue dans un ramequin. Cette session est réitérée tous les jours jusqu'à la veille de l'interaction. **Pour les groupes contrôles, le ramequin présenté au démonstrateur contient une poudre nature, non aromatisée.** Parallèlement, les rats observateurs sont aussi privés de nourriture et habitués à se nourrir dans deux ramequins remplis de nourriture en poudre non aromatisée pendant les 3 jours qui précèdent l'interaction, lors de sessions de 20 min.

• L'interaction sociale

Le rat démonstrateur est exposé à la nourriture aromatisée au cumin (0.7 %, soit 0.7 g de cumin mélangé à 99.3 g de nourriture nature) ou non aromatisée pour les groupes contrôles, pendant une session de 30 min. Le rat est ensuite immédiatement placé dans la cage d'élevage du rat observateur. Les deux rats sont d'abord maintenus séparés l'un de l'autre par une grille durant 20 min, renforçant les interactions de composé haleinique. La grille est ensuite retirée, permettant aux deux animaux d'interagir plus librement pendant encore 10 min. Le rat observateur doit encoder dans l'haleine du démonstrateur l'odeur du cumin et former une association entre cette odeur, associée à des composés chimiques de l'haleine du démonstrateur, et sa bonne santé.

Après 30 min d'interaction, le rat démonstrateur est retiré de la cage du rat observateur et replacé dans sa zone de stabulation.

• La phase de test

L'objectif du test est de mesurer la préférence alimentaire des rats observateurs face à deux types de nourritures contenues dans des ramequins, l'une dite « familière » (car l'odeur a déjà rencontré lors de l'interaction avec le démonstrateur), aromatisée au cumin (0.5 %), l'autre nouvelle, aromatisée au thym (0.75 %). Ce test est effectué soit 24h après l'interaction, soit 30 jours après (dans ce cas, les animaux sont remis en phase de privation alimentaire 3 jours avant le test de préférence). La position dans la cage (gauche ou droite) du ramequin de nourriture familière est contrebalancée entre les animaux de chaque groupe. Après 20 min, les ramequins sont retirés et pesés. En condition contrôle, il a été démontré que les rats observateurs ont une préférence alimentaire innée pour le thym (Bessières et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011). En revanche, une interaction avec un rat démonstrateur ayant mangé de la nourriture aromatisée au cumin permet d'inverser ou de perturber cette préférence alimentaire innée. L'indice de performance mnésique, qui reflète l'expression du souvenir de l'association, est exprimé en pourcentage de nourriture familière consommée (cumin), calculé selon la formule :

$$\text{nourriture familière consommée (\%)} = \frac{\text{nourriture familière consommée}}{\text{nourriture totale consommée}} \times 100$$

2) *Groupes et plan expérimental*

Les animaux sont répartis en deux groupes : un groupe expérimental (EXP) et un groupe témoin, pour tester la « Préférence Alimentaire Innée » (PAI). Pour les deux conditions, l'interaction avec les rats démonstrateurs a duré 30 min. Les rats du groupe EXP ont interagit avec des démonstrateurs qui ont mangé de la nourriture aromatisée au cumin (n=7) tandis que les rats du groupe PAI ont interagit avec des démonstrateurs qui ont mangé de la nourriture non aromatisée (n=6). Les rats ont ensuite été soumis au test préférence alimentaire, 30 jours après l'interaction sociale. Pendant ce délai, les animaux sont restés en zone de stabulation. Le groupe témoin PAI a permis de mesurer, sur le plan comportemental, la préférence alimentaire innée au

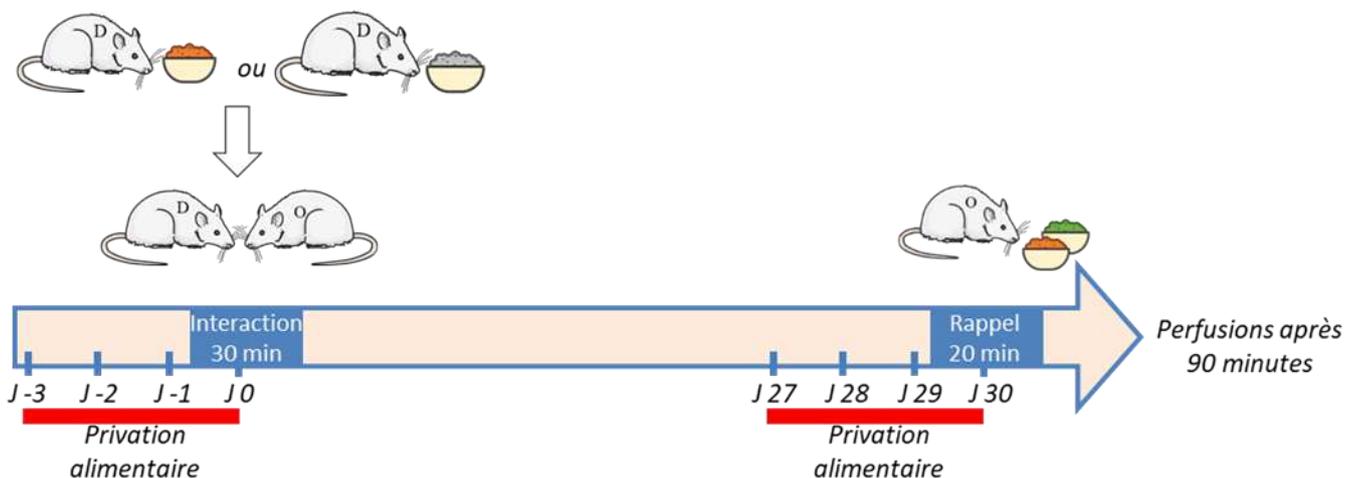


Figure A.7 | Plan expérimental de l'expérience 2.

moment du test de rétention, et sur le plan biochimique, l'activité cérébrale basale due à la consommation de nourriture aromatisée dans des ramequins, ou tout autre variable inhérente au test de rétention qui puisse induire une activité neuronale. L'expérience s'est déroulée selon le plan expérimental décrit en figure A.7.

90 min après la fin du test de préférence alimentaire, les animaux sont euthanasiés par perfusion intracardiaque de PFA afin de pouvoir analyser l'activité neuronale induite dans les différentes structures du lobe frontal suite au rappel d'une mémoire ancienne de TSPA. Le reste du protocole (perfusions, coupe des cerveaux et stockage des tranches) est identique à celui décrit dans la section I.a.3 et .4 (p. 75-76).

3) Protocole d'immunofluorescence

Les coupes flottantes de cerveaux sont réparties dans des plaques de 12 puits et sont rincées 10 min dans du tampon phosphate 0.1M. Les coupes sont ensuite pré-incubées pendant 2 heures dans une solution de blocage, composée de tampon phosphate 0.1M contenant 0.1% d'albumine sérique bovine (Sigma Aldrich, USA), 2% de sérum de chèvre (Biowest, France) et 0.2% de Triton X100 (Sigma Aldrich, USA). Les coupes sont ensuite incubées pendant la nuit, à température ambiante sous agitation modérée, dans la solution de blocage contenant les anticorps primaires de lapin anti-c-fos Cell Signalling (CellS, USA, 1 :500) et un autre anticorps primaire de souris anti-NeuN (Merck, Allemagne, 1 :500).

Les coupes sont lavées le lendemain 3 x 15 min dans du tampon phosphate 0.1M avant d'être incubées pendant 2h à température ambiante, protégées de la lumière et sous agitation constante, dans une solution de blocage contenant les anticorps secondaires : un anticorps secondaire de chèvre anti-lapin couplé au fluorochrome Cy3 (longueurs d'ondes absorption/émission: 550 à 570 nm; 1 :500, Jackson ImmunoResearch, USA) et un anticorps secondaire de chèvre anti-souris couplé à l'Alexa 488 (longueurs d'ondes absorption/émission: 495 à 519 nm; 1:500, Molecular Probes, USA). Après incubation, les coupes sont de nouveau lavées 3 x 15 min dans du tampon phosphate 0.1M avant d'être montées sur lame de verre avec 60µl du milieu de montage pour fluorescence à base de Mowiol (Mowiol (Calbiochem, USA) 10%, 0.2M Tris 50%, eau distillée 25%, glycérol 15%, Sodium Azide 0.02%) et recouvertes d'une lamelle de verre.

4) Acquisition dans les structures d'intérêt

Des mosaïques sont réalisées dans le COF, représenté figures A.8. Les zones sont déterminées selon l'atlas stéréotaxique (Paxinos and Watson, 1998) et sept coupes (+5.2 mm, +5 mm, +4.8 mm, +4.6 mm, +4.4 mm, +4.2 mm et +4 mm par rapport au bregma) sur lesquelles le COF est présent bilatéralement ont été analysées. Les images sont acquises selon les mêmes paramètres que ceux décrits en section I.a.7 (p.78).

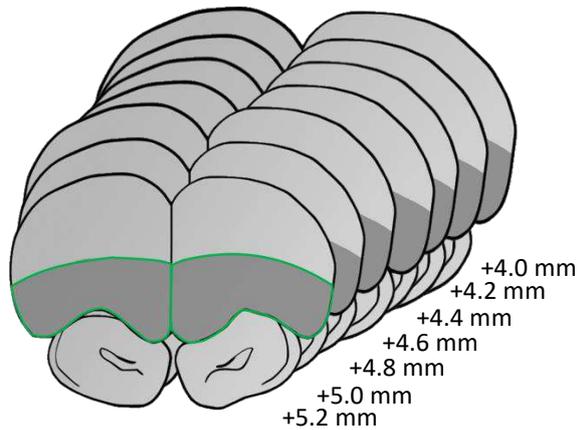


Figure A.8 | Sections coronales schématisques du cerveau de rat (adaptées de l'atlas de Paxinos and Watson, 1998), montrant le Cortex orbito-Frontal (en vert) pour le comptage des protéines c-fos, sur sept coupes. Le nombre placé sur le côté de chaque coupe indique la distance (en millimètre) par rapport au point de Bregma.

5) Analyses

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentage de nourriture au cumin consommée et en quantité totale de nourriture consommée (\pm écart standard à la moyenne (ESM) pour chaque moyenne exprimée). Les groupes ont été comparés à l'aide d'un test de Mann-Whitney. L'analyse des résultats du comptage de c-fos/mm² (\pm ESM) dans le COF a été effectuée par une ANOVA à deux facteurs, la condition (EXP vs PAI) et l'anticorps anti c-fos utilisé (Cells vs SantaC). Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale. Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% ($p < 0.05$) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

II.b – Résultats

Lors de l'analyse des résultats comportementaux (figure A.9.a), le test de Mann-Whitney révèle une différence dans le pourcentage de nourriture aromatisée au cumin consommée en fonction du groupe (M-W, $U=1.00$, $u_1=7$, $u_2=6$, $P=0.0023$) ; les animaux ayant eu une interaction avec un démonstrateur ayant préalablement consommé une nourriture aromatisée au cumin ont en effet montré une préférence pour la nourriture en poudre aromatisée au cumin (47.46% \pm 12.95) comparé au groupe d'animaux contrôle (7.01% \pm 3.65). Les effets observés ne sont pas liés à la quantité de nourriture consommée entre les deux groupes (M-W, $U=18.00$, $u_1=7$, $u_2=6$, $P=0.7005$ – figure A.9.b).

Nous avons ensuite comparé l'expression de c-fos dans le COF par l'utilisation des deux anticorps c-fos Cells et SantaC, suite au rappel de l'information 30 jours après l'interaction sociale. La figure A.9 présente une illustration du marquage c-fos par l'anticorps SantaC (figure A.9.c) et Cells (figure A.9.d). Une ANOVA à deux facteurs (condition et anticorps) révèle un effet de la condition ($F_{(1,9)} = 14.27$; $P=0.0044$) et de l'anticorps utilisé ($F_{(1,9)} = 57.59$; $P<0.0001$) ainsi qu'une interaction condition x anticorps ($F_{(1,9)} = 9.445$; $P=0.0133$), suggérant que des deux anticorps analysés, seul l'anticorps Cells permet de mettre en évidence une différence significative du nombre de c-fos+/mm² entre les groupes EXP et PAI (figure A.9.e).

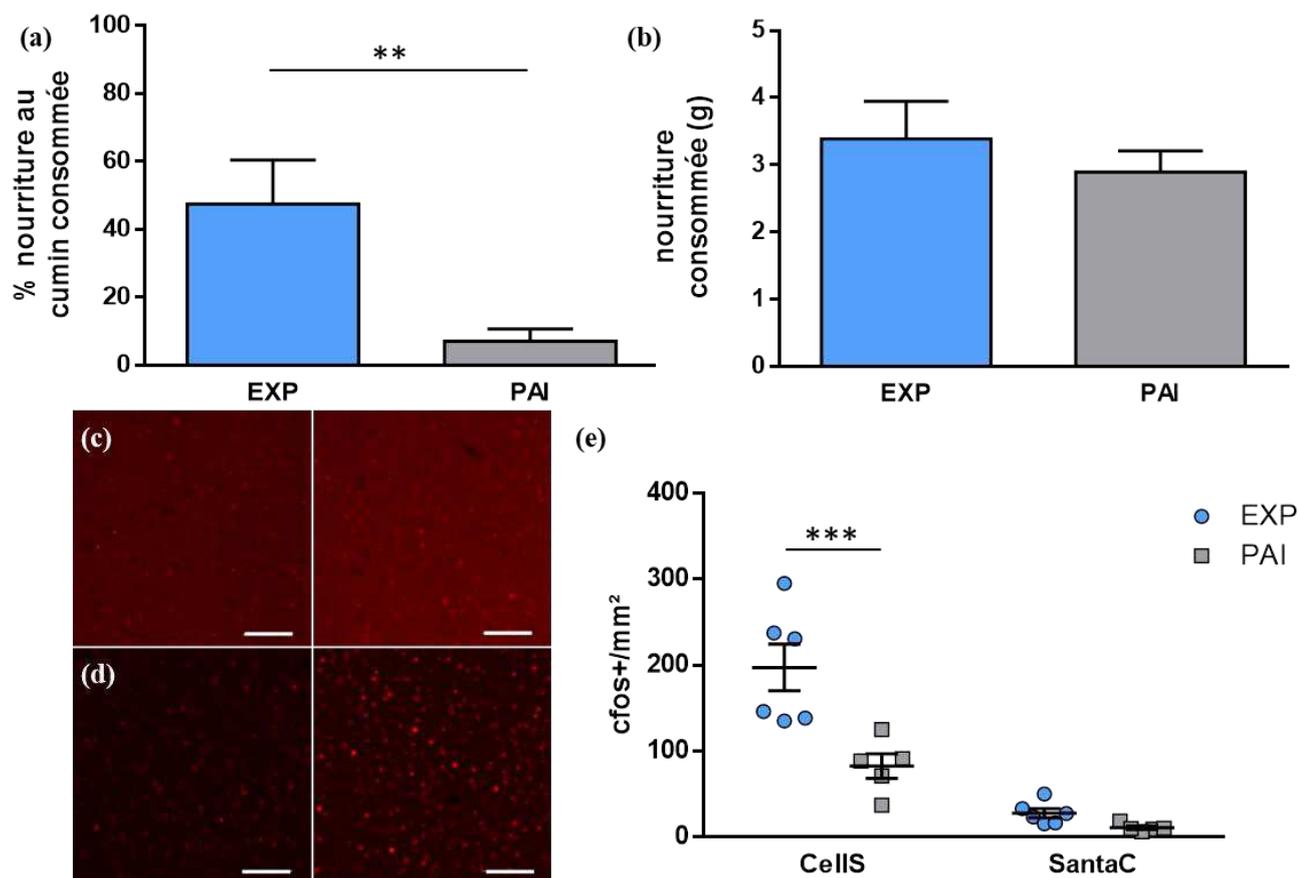


Figure A.9 | La mise en évidence de la corticalisation dépend de l'anticorps utilisé. Evaluation de la préférence alimentaire des animaux des groupes EXP et PAI, 30 jours après l'interaction sociale. Résultats comportementaux des groupes EXP et contrôle PAI: (a) les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM), (b) quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). L'activité cérébrale est ensuite mesurée dans le Cortex Orbito-Frontal (COF), en comptant le nombre de cellules c-fos⁺/mm². (c) Illustration du signal obtenu avec l'anticorps anti c-fos Santa Cruz (SantaC - dilution 1:1000) en condition PAI (à gauche) et EXP (à droite), (d) Illustration du signal obtenu avec l'anticorps anti c-fos Cell Signaling (CellS - dilution 1:500) en condition PAI (à gauche) et EXP (à droite), échelles à 100 μ m. (e) Comptage des cellules c-fos⁺/mm² (\pm ESM) dans le COF en condition EXP et PAI, la différence est significative uniquement lors de l'utilisation de l'anticorps Cell Signaling (1:500) **Analyse statistique** : ** p<0,01, ***p<0,001, n=6 à 7).

II.c - Conclusions

Les problèmes de spécificité et de sensibilité des anticorps ont d'ores et déjà été pointés à de multiples reprises (Bordeaux et al., 2010; Goldstein et al., 2007). A travers notre étude, nous avons mis en évidence qu'en fonction de l'anticorps utilisé, le COF est ou n'est pas activé dans le rappel de la mémoire à long terme. Nous illustrons ainsi que la sensibilité de l'anticorps peut jouer un rôle crucial et conduire à des conclusions erronées. Si ce problème peut effectivement se comprendre entre deux références différentes, il peut malheureusement également se produire entre deux lots différents d'une même référence, si aucun contrôle après la production n'est réalisé. A défaut de pouvoir agir en amont sur la production et l'analyse qualitative des anticorps, nous nous devons de contrôler nos anticorps, notamment lorsqu'une cartographie de l'activité cérébrale est envisagée. La méthode pharmacologique que nous proposons et qui est réalisable dans de nombreux laboratoires sans équipement particulier, nous a permis d'identifier et valider l'anticorps c-fos que nous allons utiliser dans notre analyse en excluant ceux ayant de probable problème de spécificité et/ou de sensibilité. Cette approche devrait être réalisée lors de

l'utilisation de nouveaux anticorps c-fos, voire même pour certains fournisseurs moins scrupuleux, à chaque lot d'anticorps.

III. Validation par d'autres méthodes d'acquisition

Afin de déterminer si la méthode d'acquisition n'interfère pas avec la qualité de nos résultats, nous avons comparé deux méthodes d'acquisition des images : la méthode bas-débit (prise d'image classique, grâce à un microscope à épifluorescence Zeiss) et une méthode haut débit par l'utilisation du Nanozoomer (Hamamatsu, Japon). Pour cela nous avons acquis et analysé les mêmes coupes de COF obtenues précédemment lors du rappel de la mémoire à long terme dans la tâche de TSPA sur les deux systèmes d'acquisition.

III.a – Matériels et méthodes

1) Acquisition des images

Les images sont acquises sur un microscope à épifluorescence Nanozoomer avec bras automatisé (2.0HT, Hamamatsu, Japon), équipé d'une caméra (1 TDI 3-CCD, Hamamatsu, Japon), à un grossissement x20 avec un temps d'acquisition de 1000 ms. L'acquisition a été réalisée par le logiciel NDPScan (Hamamatsu, Japon). La longueur d'onde utilisée est de 568 nm pour le marquage des cellules c-fos⁺. Le principe de ce microscope est de scanner de façon automatique les lames entières selon une zone d'intérêt prédéfinie, englobant généralement plusieurs coupes. Les scans sont réalisés ligne par ligne par l'objectif. A l'aide du logiciel NDPView (Hamamatsu, Japon), nous avons pu isoler nos régions d'intérêt dans le COF, selon les critères décrits en II.a.3.

2) Analyse et traitement d'image

De la même façon que précédemment, les images sont analysées à l'aide du logiciel ImageJ (version Fiji, USA) en utilisant une méthode semi-automatique, avec une macro. En revanche, le seuil de détection des pics d'intensité ont été adaptés à l'intensité des signaux (5 pour c-fos). La comparaison des comptages de c-fos/mm² (\pm ESM) dans le COF a été effectuée par une ANOVA à deux facteurs, la condition (EXP vs PAI) et la méthode d'acquisition (Zeiss vs Nanozoomer). Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale. Nous avons également déterminé l'existence ou non d'une corrélation entre ces résultats de comptage issus des deux méthodes par un test de corrélation de Pearson. Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% ($p < 0.05$) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

III.b – Résultats

La figure A.10 présente une illustration du marquage c-fos acquise avec le microscope à épifluorescence Zeiss (figure A.10.a) ou avec le microscope à épifluorescence automatisé Nanozoomer (figure A.10.b). Une ANOVA à deux facteurs (condition et méthode d'acquisition) révèle un effet de la condition ($F_{(1,20)} = 20.65$; $P=0.0002$), mais pas d'effet de la méthode

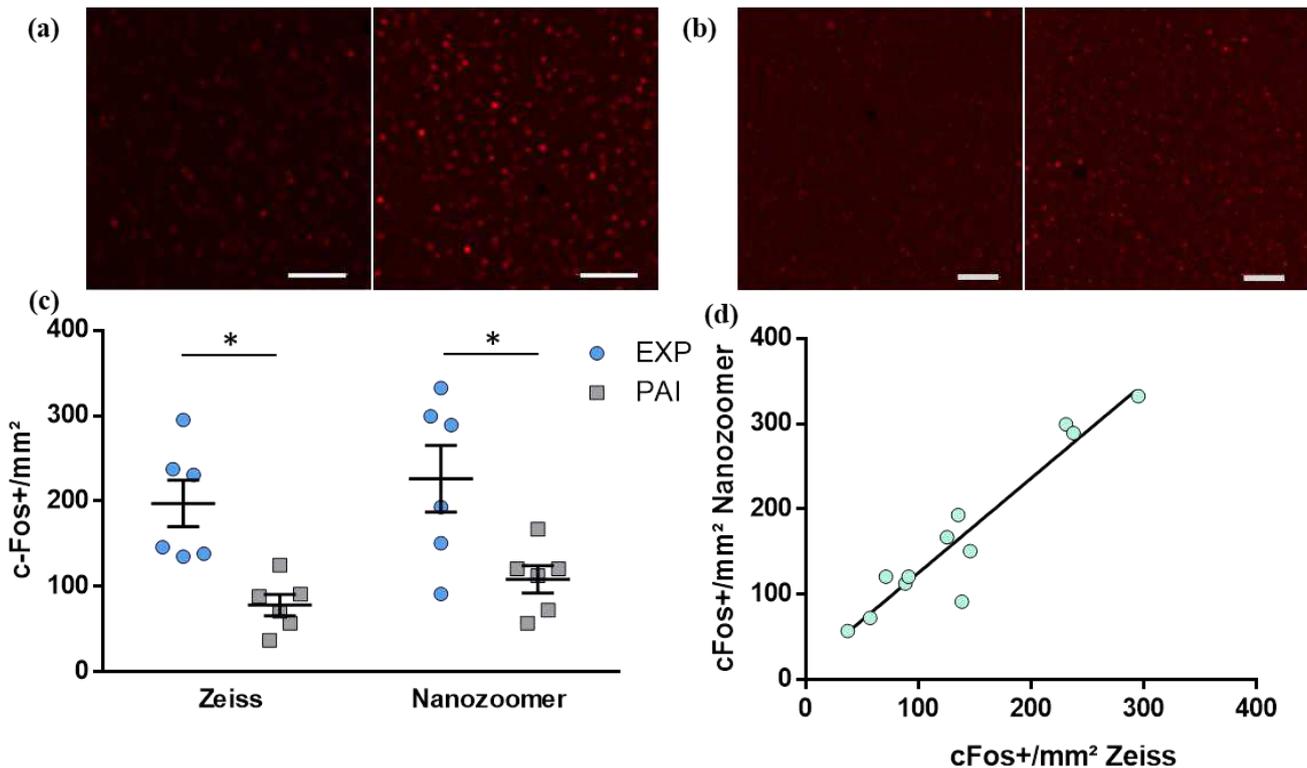


Figure A.10 | Validation de l'anticorps par une autre méthode d'acquisition. Comparaison de la méthode d'acquisition dans la mesure de l'activité cérébrale, visualisée par la détection par immunofluorescence de c-fos. **(a)** Illustration du marquage c-fos⁺/mm² dans le COF acquis avec un microscope à épifluorescence Zeiss, pour le groupe contrôle Préférence Alimentaire Innée (PAI) à gauche, et pour le groupe expérimental (EXP) à droite. **(b)** Illustration du marquage c-fos⁺/mm² dans le COF acquis avec un microscope à épifluorescence Nanozoomer, pour le groupe contrôle PAI à gauche, et pour le groupe EXP à droite. Echelles à 100µm. **(c)** Comptage des cellules c-fos⁺/mm² (±ESM) dans le COF en condition EXP et PAI, en fonction du microscope utilisé, **(d)** Corrélation du comptage de cellules c-fos⁺/mm² dans le COF en utilisant le microscope Zeiss ou le Nanozoomer. Test corrélatif de Pearson ; $r^2=0.9009$; **Analyse statistique** : * $p<0,05$, $n=6$).

d'acquisition ($F_{(1,20)}=1.306$; $P=0.2666$). Il n'existe pas non plus d'interaction condition x méthode d'acquisition ($F_{(1,20)}=0.0011$; $P=0.975$). Ainsi, quel que soit la méthode utilisée, il y a une augmentation significative du nombre de cellule c-fos⁺/mm² dans la condition EXP comparée à la condition PAI (figure A.10.c). De plus, lorsque nous comparons les résultats obtenus entre les différentes méthodes d'acquisition, nous observons une forte corrélation positive (Test corrélatif de Pearson, $r^2=0.8995$; $n=12$; $P<0.0001$ – figure A.10.d).

III.c – Conclusions

Afin d'écartier la possibilité que nos résultats puissent être dépendants de la méthode d'acquisition, nous avons comparé une méthode manuelle d'acquisition à une méthode automatique, où la part de l'opérateur dans la prise d'image est très limitée, car les paramètres d'acquisition sont établis pour l'ensemble des images et la mise au point des images est automatique. Ainsi, les résultats sont similaires entre les deux méthodes, illustrant la robustesse de notre analyse de c-fos. Toutefois, nous avons pu constater une limite à l'utilisation du Nanozoomer. La détermination du point focus par l'appareil est parfois imparfaite, car il est réalisé sur deux ou trois points de la coupe. Une image dont le focus n'est pas bien réalisé peut conduire à un comptage erroné. Bien que ce problème soit facilement détectable lors de l'analyse

et puisse être contourné en scannant de nouveau la lame, ceci peut rapidement faire perdre le bénéfice de la rapidité. Ainsi pour la suite de notre projet et par un souci qualitatif, nous avons opté pour l'utilisation d'une acquisition manuelle avec un microscope classique à épifluorescence.

C. Discussion

Déterminer la nature et l'étendue des réseaux neuronaux impliqués dans les grandes fonctions physiologiques, ou les modifications du recrutement de ces réseaux dans des pathologies neurologiques, constitue un enjeu majeur de la recherche en neurosciences. L'identification des réseaux neuronaux recrutés lors d'une tâche comportementale a été pour partie liée à l'utilisation d'un marqueur d'activité neuronale, le facteur de transcription c-fos. Comme tous les autres anticorps, il existe un nombre grandissant d'anticorps c-fos et un nombre croissant de compagnies qui le propose, avec des méthodes très variées et parfois opaques d'évaluation de la qualité et de la stabilité de leurs productions. Il est donc nécessaire pour les chercheurs de valider cet outils clé qu'est l'anticorps, et l'anticorps anti c-fos ne déroge pas à la règle. En effet, le risque majeur pour les utilisateurs est de passer à côté de découvertes cruciales, ou même d'aboutir à des conclusions erronées. Nos résultats illustrent la nécessité de l'attention particulière à apporter au processus de validation des anticorps. Par la comparaison de plusieurs anticorps c-fos et dans le cadre de l'identification de l'implication du COF dans le rappel à long terme dans une tâche de TSPA, nous avons mis en évidence qu'en fonction de l'anticorps utilisé, le COF était ou n'était pas impliqué dans le rappel de l'information. Si les études corrélatives mais aussi invasives réalisées dans de nombreux laboratoires impliquent sans doute possible le COF dans le rappel à long terme, nos données illustrent qu'un anticorps ayant une sensibilité moindre peut conduire à une conclusion erronée. Pour l'étude de c-fos, nous proposons une méthode de validation des anticorps, qui est réalisée par une approche pharmacologique par injection de sulpiride, qui est transposable dans de nombreux laboratoires car elle ne nécessite aucun matériel spécifique. **Nous avons développé une méthode semi-automatique de détection de c-fos, permettant un comptage reproductif et robuste des cellules positives puisque nos résultats ne varient pas en fonction des expérimentateurs ou des méthodes d'acquisition des images.**

Après comparaison avec trois autres références d'anticorps, l'anticorps développé par la société Cell Signalling semble être le plus spécifique et le plus sensible. Nos résultats montrent qu'il marque principalement les noyaux, en accord avec la littérature (Hoffman et al., 1993; Stone et al., 2011). Il est détecté en condition basale dans certains neurones et le nombre de neurones activés en condition « sulpiride » est largement augmenté. Enfin, dans le cadre de la consolidation, cet anticorps permet de détecter le recrutement des cortex après consolidation du souvenir, phénomène qui a été largement documenté (Frankland and Bontempi, 2005; Frankland et al., 2004; Josselyn et al., 2015; Kitamura et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011). Ainsi la validation des méthodes de détection ainsi que leur robustesse, associées à l'utilisation d'un anticorps validé, va nous permettre d'explorer l'évolution temporelle des ensembles neuronaux corticaux recrutés au cours de la consolidation mnésique.

Partie B : Cartographie de l'activité corticale associée au rappel d'un souvenir olfactif associatif récent et ancien



« Le plus beau sentiment qu'on puisse éprouver, c'est le sens du mystère. C'est la source de tout art véritable, de toute vraie science. »

Albert Einstein

A. Introduction

Nos souvenirs ne sont pas directement acquis dans leur forme définitive au moment de leur encodage. Initialement labiles, ils subissent un processus dit de consolidation mnésique permettant leur stabilisation et leur persistance dans le temps (Dudai, 2012). Le réseau représentant cette mémoire stabilisée dans le cerveau a été appelé la trace mnésique, ou l'engramme de la mémoire. Les cellules qui vont faire partie de l'engramme sont des neurones qui sont activés pendant l'encodage d'une expérience (Reijmers et al., 2007; Roy et al., 2017; Teyler and Rudy, 2007). Ils vont subir des changements cellulaires, moléculaires et structuraux, regroupés sous le terme de consolidation synaptique, afin de leur permettre par la suite d'être réactivés pour produire le rappel de cette expérience, ou inhibés pour empêcher son expression (Josselyn et al., 2017; Semon, 1904; Tonegawa et al., 2015). Au fil des jours, des mois, ou même des années qui suivent cet apprentissage, il a été proposé qu'un autre type de consolidation ait lieu, qui renforce et réorganise à long terme des ensembles neuronaux dans un état plus stable. Ainsi, plusieurs études ont identifié des cellules de l'engramme pour différents souvenirs dans de nombreuses régions cérébrales comme l'HPC (Liu et al., 2012; Ohkawa et al., 2015; Roy et al., 2016), l'amygdale (Han et al., 2009; Redondo et al., 2014), le cortex rétrosplénial (rétroS - Cowansage et al., 2014), le CPF (Kitamura et al., 2017) ou le COF (Lesburgueres et al., 2011). Plus récemment, il a été démontré qu'une trace mnésique sera stockée dans des ensembles spécifiques de neurones, et pourra être rappelée uniquement si une connexion fonctionnelle se met en place entre ces ensembles. La mise en place de cette connectivité entre les neurones de l'assemblée nécessite des changements fonctionnels et structuraux durables dans les neurones de l'engramme (Roy et al., 2017; Ryan et al., 2015). Ces données supportent l'idée que la mémoire pourrait être stockée dans des cellules de l'engramme fonctionnellement interconnectés, distribuées à travers différentes régions traitant les différents aspects d'une expérience lors de l'encodage. Cette mise en place de la connectivité entre les régions, nécessaire au rappel de l'information, pourrait constituer une étape clé de la maturation de la trace corticale. En effet des études réalisées au laboratoire ont montré qu'un dialogue cortico-cortical est nécessaire à la phase de maturation tardive de la trace mnésique (Lesburgueres et al., 2011). Ainsi, **l'étude de l'évolution temporelle des ensembles corticaux recrutés, et l'évolution des changements de connectivités entre ces ensembles corticaux lors du rappel d'une mémoire récente ou ancienne pourraient apporter un éclairage essentiel pour la compréhension des mécanismes à la base de la consolidation systémique.**

Le rôle des régions corticales, et notamment du lobe frontal, dans le rappel des mémoires associatives a été étudié par des approches corrélatives et invasives. En outre, plusieurs études indiquent la contribution particulièrement importante de cortex associatifs, tant dans le rappel d'une mémoire récente que d'une mémoire ancienne, notamment du CPFm dans plusieurs paradigmes d'apprentissages spatiaux et non spatiaux (Comeau et al., 2010; Kitamura et al., 2017; Loureiro et al., 2019; Maharjan et al., 2018; Rajasethupathy et al., 2015; Rizzo et al., 2017; Tse et al., 2011; Xu and Südhof, 2013; Ye et al., 2016), du CCa (Bontempi et al., 1999; Frankland et al., 2004; Goshen et al., 2011; Maviel et al., 2004; Pezze et al., 2017; Restivo et al., 2009; Wang et al., 2012), du CCp (Bontempi et al., 1999; Kádár et al., 2016; Maviel et al., 2004) et du COF (Brod and Shing, 2018; Farovik et al., 2015; Frey and Petrides, 2002; Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006; Smith et al., 2010). Dans le cadre plus spécifique de l'étude de la mémoire olfactive associative, il a été montré un recrutement fonctionnel du COF dans le rappel à long terme dans la tâche de TSPA (Lesburgueres et al., 2011). L'ensemble de ces études fait apparaître clairement que les cortex peuvent s'engager précocement dans la maturation de la trace corticale et que la vitesse de prise en charge corticale va être différente d'une région à l'autre.

L'étude des relations fonctionnelles entre des structures cérébrales, dans des comportements spécifiques ou dans l'étude des dysfonctionnements cérébraux, peut être réalisée par une cartographie sur cerveau entier de l'activité cérébrale (Renier et al., 2016; Ye et al., 2016). Afin de comprendre certains processus mnésiques, la cartographie de l'activité cérébrale a été utilisée pour identifier les réseaux neuronaux sous-tendant la mémoire de reconnaissance sociale (Tanimizu et al., 2017), ainsi que l'encodage (Roy et al., 2019), ou le rappel d'une mémoire ancienne (Vetere et al., 2017; Wheeler et al., 2013) lors d'un conditionnement par la peur.

À notre connaissance, il n'existe pas de cartographie des régions cérébrales corticales sous-tendant la consolidation d'une mémoire associative olfactive. Ainsi, il serait intéressant d'établir l'évolution temporelle des ensembles corticaux recrutés lors de la consolidation d'une mémoire olfactive associative et de caractériser les changements de connectivités entre ces ensembles corticaux. Pour cela, nous avons réalisé une cartographie des régions frontales engagées dans la mémoire récente et ancienne lors du rappel dans une tâche de transmission sociale de préférence alimentaire afin d'étudier la connectivité entre ces régions et l'évolution de cette connectivité lors de la consolidation systémique. Une approche pharmacogénétique va ensuite nous permettre de manipuler ces réseaux.

B. Contributions expérimentales

I. Activité des structures impliquées dans le rappel à court et long terme de la TSPA

Les souvenirs anciens sont stabilisés dans le cerveau grâce à des changements dans la force des connexions entre les neurones sous-tendant les différentes composantes du souvenir (Chklovskii,

2004; Chklovskii et al., 2004). Si les mécanismes moléculaires, cellulaires et structuraux qui contribuent à ces changements de connectivité sont de mieux en mieux appréhendés, il est difficile de définir précisément quels sous-ensembles de neurones constituent la mémoire. En effet les souvenirs anciens sont distribués à travers un large réseau de régions corticales et sous-corticales (Lashley, 1950) et l'expression de la mémoire est dépendante de l'activation coordonnée dans ces réseaux distribués de ces assemblées neuronales, plutôt qu'une augmentation nette globale de cette activité (Buzsáki, 2010; Mcintosh, 1999). Les approches électrophysiologiques ont permis d'établir un lien entre l'activité régionale et la coordination de l'activité interrégionale avec les processus mnésique (Ji and Wilson, 2007). Toutefois elles n'offrent qu'une fenêtre étroite qui ne permet pas d'évaluer le réseau dans sa globalité. C'est pourquoi afin d'avoir une appréciation plus large du rôle du cortex frontal dans la consolidation mnésique, **nous avons évalué dans un premier temps le niveau d'activité dans l'ensemble des principales régions du cortex frontal, puis étudié la coordination de l'activité dans ces régions après le rappel d'une mémoire récente ou ancienne.**

I.a - Matériels et méthodes

1) Groupes et plan expérimental

Les animaux ont été soumis à une tâche de TSPA, avec un test de préférence alimentaire soit un jour (J1) ou soit trente jours (J30) après l'interaction (figure B.1). La procédure expérimentale est la même que celle décrite dans la partie A.II (p.83). Pour les groupes du rappel à J30, nous avons repris la cohorte d'animaux de la partie A.II afin de réduire le nombre d'animaux utilisés. Pour chaque délai, nous avons généré un groupe expérimental (EXP) et un groupe témoin, pour tester la « préférence alimentaire innée » (PAI).

Le groupe témoin PAI a permis de tester, sur le plan comportemental, la préférence alimentaire innée pour le thym au moment du test de rétention, et sur le plan biochimique, l'activité cérébrale basale due à la procédure de rappel. Les effectifs des différents groupes sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	J1	J30
EXP	n=10	n=7
PAI	n=10	n=6

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 3.

Les animaux sont euthanasiés 90 min après la fin du test de préférence alimentaire. Le reste du protocole (perfusions, coupe des cerveaux et stockage des tranches) est identique à celui décrit dans la section I.a.3 et .4 de la partie A (p. 75-76).

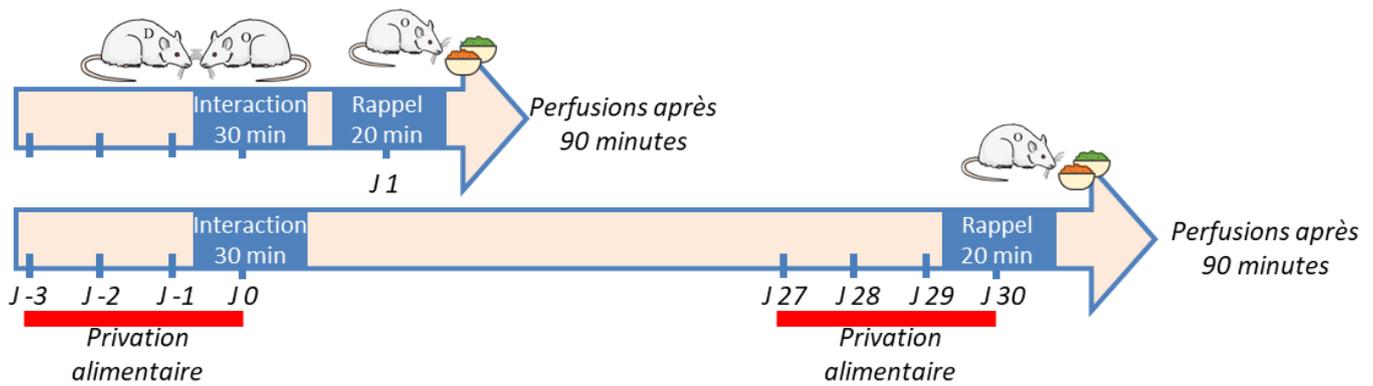


Figure B.1 | Plan expérimental de l'expérience 1.

2) Protocole d'immunofluorescence

Les coupes flottantes de cerveaux sont réparties dans des plaques de 12 ou 24 puits et sont rincées 10 min dans du TP 0.1M. Les coupes sont ensuite pré-incubées pendant 2 heures dans une solution de blocage, composée de TP 0.1M contenant 0.1% d'albumine sérique bovine (Sigma Aldrich, USA), 2% de sérum de chèvre (Biowest, France) et 0.2% de Triton X100 (Sigma Aldrich, USA). Les coupes sont ensuite incubées pendant la nuit, à température ambiante sous agitation modérée, dans la solution de blocage contenant les anticorps primaires de lapin anti-c-fos Cell Signalling (CellS, #2250S, USA, 1 :500) et un autre anticorps primaire de souris anti-NeuN (Merck, MAB377, Allemagne, 1 :500).

Les coupes sont lavées le lendemain 3 x 15 min dans du TP 0.1M avant d'être incubées pendant 2h à température ambiante, protégées de la lumière et sous agitation constante, dans une solution de blocage contenant les anticorps secondaires : un anticorps secondaire de chèvre anti-lapin couplé au fluorochrome Cy3 (longueurs d'ondes absorption/émission: 550 à 570 nm; 1 :500, Jackson ImmunoResearch, 111-165-144, USA) et un anticorps secondaire de chèvre anti-souris couplé à l'Alexa 488 (longueurs d'ondes absorption/émission: 495 à 519 nm; 1:500, Molecular Probes, A11001, USA). Après incubation, les coupes sont de nouveau lavées 3 x 15 min dans du TP 0.1M avant d'être montées sur lame de verre avec 60µl du milieu de montage pour fluorescence à base de Mowiol (Mowiol (Calbiochem, USA) 10%, 0.2M Tris 50%, eau distillée 25%, glycérol 15%, Sodium azide 0.02%) et recouvertes d'une lamelle de verre.

3) Acquisition dans les structures d'intérêt

Les images sont acquises sur un microscope à épifluorescence décrit en section I.a.6 de la partie A (p.76). Des mosaïques sont réalisées dans différentes structures d'intérêt (figures B.2), dont la délimitation est déterminée selon l'atlas stéréotaxique (Paxinos and Watson, 1998) :

- le Cortex Orbito-Frontal (COF) sur sept coupes (+5.2 mm, +5 mm, +4.8 mm, +4.6 mm, +4.4 mm, +4.2 mm et +4 mm par rapport au bregma),
- le Cortex Préfrontal médian (CPFm) sur quatre coupes (+3.6 mm, +3.2 mm, +2.8 mm et +2.4 mm par rapport au bregma) avec une distinction des sous-régions Prélimbique (PrL) et Infralimbique (IL),

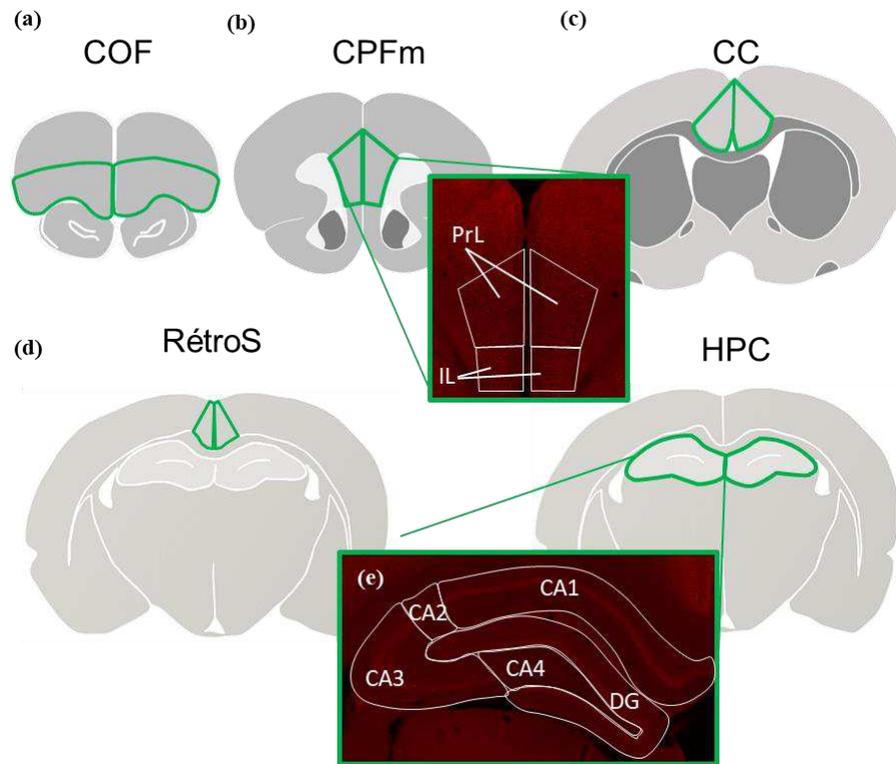


Figure B.2 | Sections coronales schématiques du cerveau de rat (adaptées de l'atlas de Paxinos and Watson, 1998), montrant les régions d'intérêt sélectionnées (en vert) pour le comptage des protéines c-fos et NeuN. (a) Le Cortex Orbitro-Frontal (COF) sur sept coupes (de +5,2 à +4 mm par rapport au point de bregma), (b) le Cortex Préfrontal médian (CPFm) sur quatre coupes (de +3,6 à 2,4 mm) avec le détail des sous-régions prélimbique (PrL) et infralimbique (IL) visibles sur l'illustration, (c) le Cortex cingulaire (CC) sur onze coupes (de +3,6 à -0,8 mm), (d) le Cortex rétrosplénial sur quatre coupes (de -3,2 à -4,6 mm) et (e) l'Hippocampe (HPC) sur six coupes (de -3,2 à -4,2 mm) avec le détail des sous-régions CA1, CA2, CA3 CA4 et le Gyrus denté (DG) visibles sur l'illustration.

- le Cortex Cingulaire (CC) sur onze coupes (+3.6 mm, +3.2 mm, +2.8 mm, +2.4 mm, +1.6 mm, +1.2 mm, +0.8 mm, +0.4 mm, 0 mm, -0.4 mm et -0.8 mm par rapport au bregma),

- Le Cortex rétrosplénial (RétroS) sur quatre coupes (-3.6 mm, -3.8 mm, -4 mm et -4.2 mm par rapport au bregma),

- l'Hippocampe dorsal (HPC) sur six coupes (-3.2 mm, -3.4 mm, -3.6 mm, -3.8 mm, -4 mm et -4.2 mm par rapport au bregma), avec une distinction des sous régions, le CA1, CA2, CA3 CA4 et le Gyrus denté (DG).

4) Analyses

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentage de nourriture au cumin consommée (moyenne \pm ESM). La quantité totale de nourriture consommée durant le test est exprimée en g (moyenne \pm ESM). Pour l'analyse des résultats comportementaux, les groupes ont été comparés à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, la condition (EXP vs PAI) et le délai (J1 vs J30). Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale.

Pour l'analyse statistique de l'activité par comptage des cellules c-fos⁺ dans les différentes structures cérébrales, plusieurs méthodes ont été appliquées : nous avons d'abord analysé les structures dans leur ensemble, et les groupes ont été comparés à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, la condition (EXP vs PAI) et le délai (J1 vs J30). Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale. Pour certaines structures (HPC et CPFm), nous avons ensuite analysé les différentes sous-régions. Les groupes ont alors été comparés à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, la condition (EXP vs PAI) et la sous-région (CA1 vs CA2 vs CA3 vs CA4 vs DG pour l'HPC, et PrL vs IL pour le CPFm). Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale. Cette ANOVA est appliquée pour chacun des deux délais (J1 et J30) indépendamment. Le CC étant une structure relativement vaste, nous avons voulu voir si l'activité était homogène ou s'il y avait au contraire une différence en fonction de la localisation. Nous avons réalisé cette analyse à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, la condition (EXP vs PAI) et la position Antéro-Postérieure (AP, +3.6 vs +3.2 vs +2.8 vs +2.4 vs +1.6 vs +1.2 vs +0.8 vs +0.4 vs 0 vs -0.4 vs -0.8 mm par rapport au bregma). Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale. Lors de l'analyse de l'activité c-fos, deux animaux ont été exclus des analyses pour l'ensemble des structures à l'aide d'un test de Grubbs, qui indiquent que les valeurs mesurées pour ces deux sujets sont significativement éloignées des valeurs moyennes de la population étudiée. Nous avons ensuite analysé la corrélation de l'activité des différentes structures au sein des mêmes animaux à l'aide d'un test de corrélation de Pearson. Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% ($p < 0.05$) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

I.b - Résultats

1) Validation des expérimentations

• Évaluation de la préférence alimentaire à court et long terme

Lors de l'analyse des résultats comportementaux (figure B.3.a), une ANOVA à deux facteurs (groupe et délai) révèle un effet du groupe ($F_{(1,29)}=19.74$; $P=0.0001$), mais pas d'effet du délai ($F_{(1,29)}=1.108$; $P=0.3011$) ni de l'interaction ($F_{(1,29)}=0.122$; $P=0.9129$). Les animaux ayant eu une interaction avec un démonstrateur ayant préalablement consommé une nourriture aromatisée au cumin (EXP) ont en effet montré une préférence pour ce type de nourriture, comparés au groupe d'animaux contrôle, que ce soit un jour (EXP : 55.83% \pm 8.22 et PAI : 17.34% \pm 7.02) ou trente jours (EXP : 47.46% \pm 12.95 et PAI : 7.01% \pm 3.65) après l'interaction. Pour ce qui est de l'analyse de la nourriture totale consommée (figure B.3.b), une ANOVA à deux facteurs (groupe et délai) révèle un effet du délai ($F_{(1,29)}=4.585$; $P=0.0408$), mais pas d'effet du groupe ($F_{(1,29)}=0.501$; $P=0.4849$) ni de l'interaction ($F_{(1,29)}=0.177$; $P=0.6768$). Le fait qu'il n'y ait pas de différence entre les conditions pour chaque délai pour la nourriture totale consommée permet de valider les résultats comportementaux obtenus et d'analyser l'activité induite par le rappel.

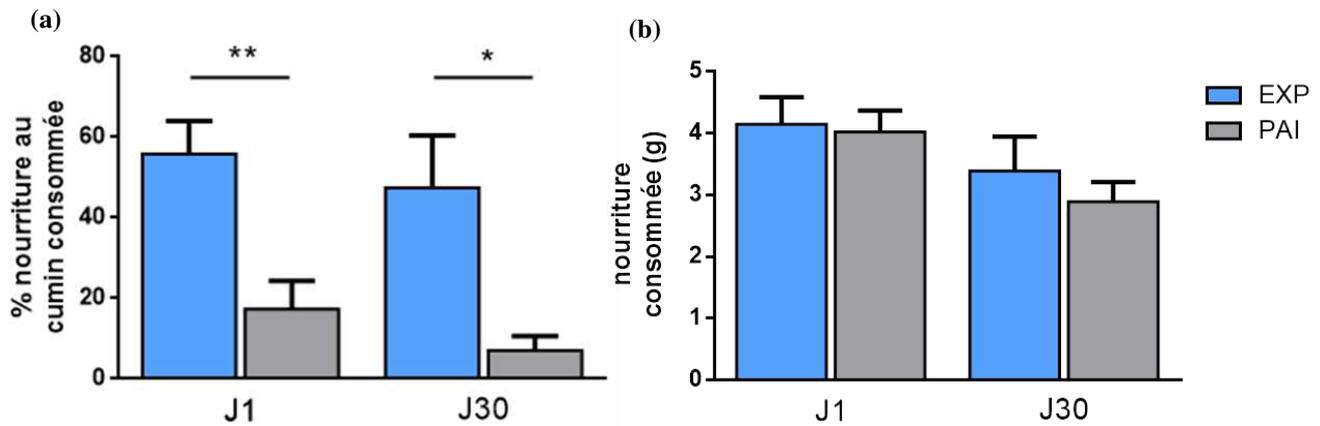


Figure B.3 | Résultats comportementaux des tests de préférence alimentaire pour groupes expérimentaux (EXP) et contrôle (PAI), 1 (J1) et 30 (J30) jours après une tâche de TSPA, (a) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (moyenne \pm ESM), (b) quantité totale de nourriture consommée (en gramme) durant le test de préférence (moyenne, \pm ESM). Analyse statistique : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, $n = 6$ à 10).

• Cortex Orbito-Frontal (OFC) et Hippocampe (HPC)

Lors de l'analyse de l'activité cérébrale par la mesure de c-fos dans l'HPC suite au rappel à J1 (figure B.4.a), une ANOVA à deux facteurs (groupe et sous-région) révèle un effet groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,80)} = 4.895$; $P = 0.0298$), un effet sous-région (CA1 versus CA2 versus CA3 versus CA4 versus GD ; $F_{(4,80)} = 4.793$; $P = 0.0016$) ainsi qu'une interaction groupe x sous-région ($F_{(4,80)} = 3.354$; $P = 0.0137$). Les animaux du groupe EXP ont en effet un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé suite au rappel à court terme. Bien que la différence globale soit significative, lors de la comparaison deux à deux, seul le CA2 de la région hippocampique montre une différence significative entre les groupes. Pour cette même analyse lors du rappel à J30 (figure B.4.b), une ANOVA à deux facteurs (sous-région et groupe) révèle un effet sous-région ($F_{(4,45)} = 3.041$; $P = 0.0266$), mais pas d'effet groupe ($F_{(4,45)} = 2.188$; $P = 0.1461$) ni d'interaction groupe x sous-région ($F_{(4,45)} = 0.0819$; $P = 0.9875$).

Lors de l'analyse de l'activité par comptage des cellules c-fos⁺ dans le COF suite au rappel à J1 et à J30 (figure B.4.c), une ANOVA à deux facteurs (groupe et délai) révèle un effet du groupe (PAI versus EXP ; ($F_{(1,26)} = 13.56$; $P = 0.0011$), un effet d'interaction groupe x délai ($F_{(1,26)} = 10.66$; $P = 0.0031$) mais pas d'effet du délai seul ($F_{(1,26)} = 3.739$; $P = 0.0641$). Les animaux du groupe EXP ont en effet un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé suite au rappel à long terme (EXP : 197.2 ± 27.22 et PAI : 78.38 ± 12.46), mais pas à court terme (EXP : 108.3 ± 17.42 et PAI : 101.1 ± 9.165).

L'ensemble de ces résultats est en accord avec les travaux précédents (Bessières et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006), démontrant l'implication du COF dans le stockage à long terme d'une information, parallèlement au désengagement hippocampique observé à J30. Ceci permet de valider notre protocole d'analyse et nos cohortes d'animaux pour l'analyse des autres structures cérébrales.

2) *L'implication rapide du Cortex Préfrontal médian*

Lors de l'analyse de l'activité cérébrale dans le CPFm suite au rappel à J1 (figure B.5.a), une ANOVA à deux facteurs (groupe et sous-région) révèle un effet groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,32)}$

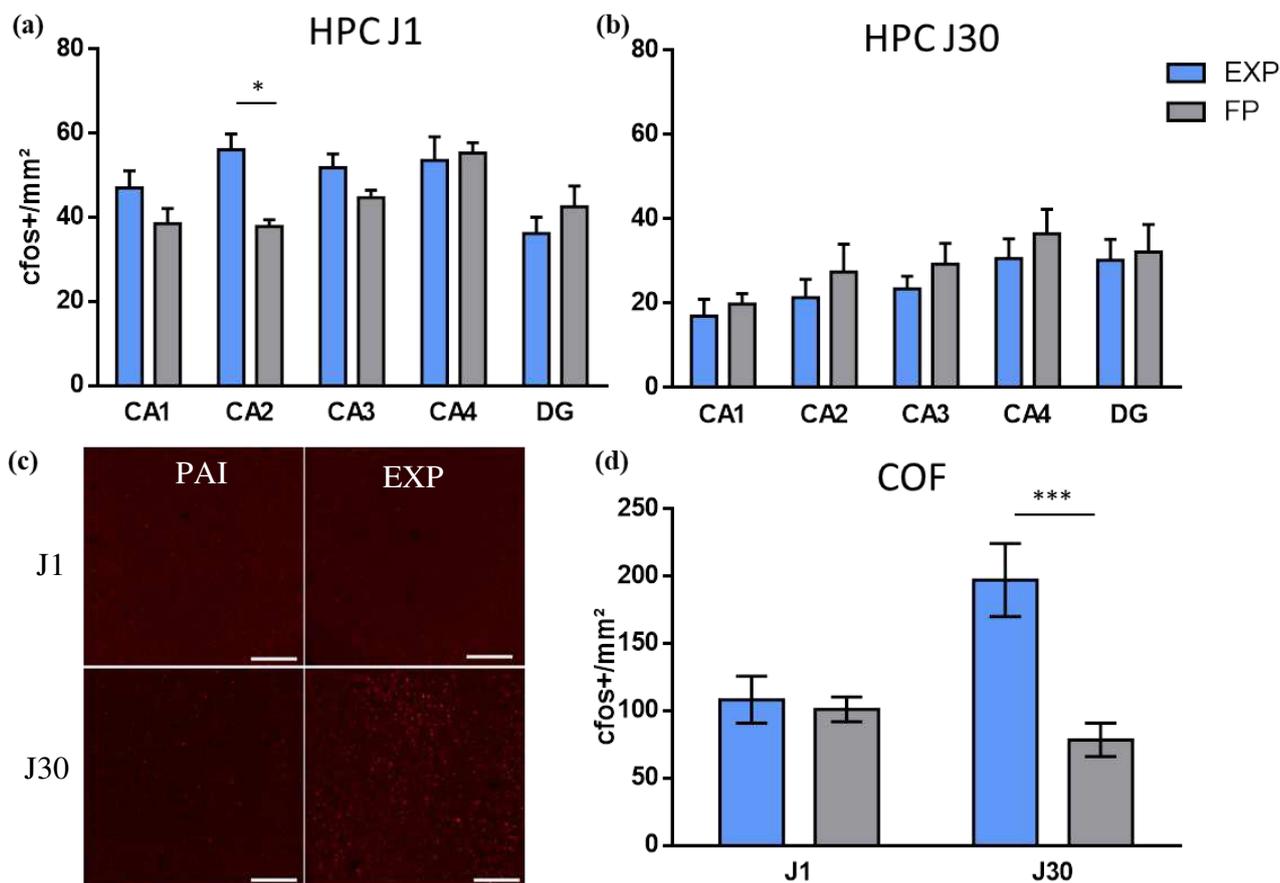


Figure B.4 | Mise en évidence du désengagement hippocampique lors de la corticalisation de l'information, suite au test de préférence alimentaire 1 et 30 jours après une tâche de TSPA. **(a)** comptage des cellules c-fos⁺/mm² (\pm ESM) dans les différentes régions de l'HPC (le CA1, le CA2, le CA3, le CA4 et le gyrus denté (DG)), suite au test de préférence 1 jour (J1) après l'interaction et **(b)** 30 jours (J30) après l'interaction. **(c)** illustration du marquage des cellules c-fos⁺ dans le COF à J1 (en haut) et à J30 (en bas) pour les animaux PAI (à gauche) et EXP (à droite). Echelle 200 μ m. **(d)** Comptage des cellules c-fos⁺/mm² (\pm ESM) dans le COF suite au test de préférence 1 ou 30 jours après l'interaction. **Analyse statistique** : * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, $n = 6$ à 10).

=15.64 ; $P = 0.0004$), mais pas d'effet sous-région (PrL versus IL ; $F_{(1,32)} = 1.365$; $P = 0.2512$) ni d'interaction groupe x sous-région ($F_{(1,32)} = 0.0013$; $P = 0.9708$). Les animaux du groupe EXP ont en effet un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé, que ce soit dans le cortex PrL (EXP : 331.5 ± 21.65 et PAI : 263.0 ± 15.42) ou dans le cortex IL (EXP : 311.3 ± 20.5 et PAI : 243.6 ± 15.48) lors du rappel de la mémoire à court terme.

Pour cette même analyse lors du rappel à J30 (figure B.5.b), une ANOVA à deux facteurs (sous-région et groupe) révèle un effet groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,22)} = 30.68$; $P < 0.0001$), mais pas d'effet sous-région ($F_{(1,22)} = 0.8649$; $P = 0.3625$) ni d'interaction groupe x sous-région ($F_{(1,22)} = 0.1624$; $P = 0.6909$). Tout comme lors du test à J1, les animaux du groupe EXP ont un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé, que ce soit dans le cortex PrL (EXP : 321.6 ± 37.89 et PAI : 154.0 ± 16.17) ou dans le cortex IL (EXP : 284.0 ± 30.76 et PAI : 139.2 ± 13.03) lors du rappel à long terme. Ces données semblent donc démontrer que le cortex PrL et le IL sont rapidement recrutés pour le rappel d'une mémoire olfactive associative.

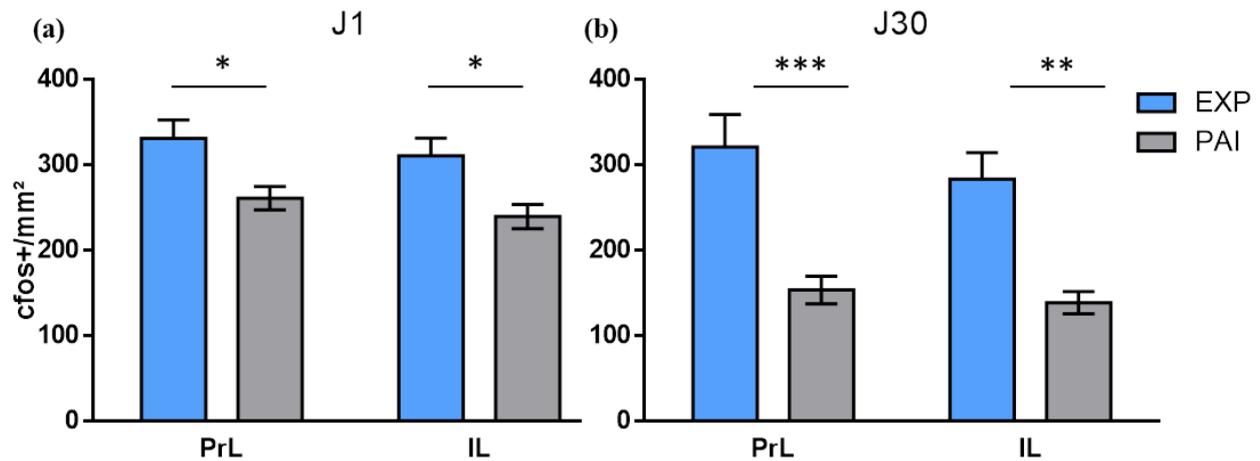


Figure B.5 | Implication rapide du cortex préfrontal médian lors du rappel de l'information, suite au test de préférence alimentaire 1 et 30 jours après une TSPA. (a) comptage des cellules c-fos⁺/mm² (±ESM) dans les différentes régions du CPFm, le Cortex prélimbique (PrL) et infralimbique (IL), 1 jour (J1) après l'interaction et (b) 30 jours (J30) après l'interaction. **Analyse statistique** : * p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, n=6 à 10).

3) Le cortex cingulaire : une structure dynamique

Lors de l'analyse de l'activité représentée par c-fos dans le CC, nous avons d'abord réalisé une analyse sur la structure dans son ensemble. Suite au rappel à J1 et à J30 (figure B.6.c), une ANOVA à deux facteurs (groupe et délai) révèle un effet du groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,27)} = 17.09$; $P = 0.0003$), un effet du délai (J1 versus J30, $F_{(1,27)} = 5.068$; $P = 0.0327$) mais pas d'interaction groupe x délai ($F_{(1,27)} = 1.352$; $P = 0.2551$). Les animaux du groupe EXP ont en effet un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé suite au rappel à long terme (EXP : 209.9 ± 29.8 et PAI : 103.0 ± 15.48), mais pas à court terme (EXP : 231.9 ± 18.45 et PAI : 171.9 ± 13.84).

Le CC est une structure vaste dans laquelle des sous régions, comme le CCa, le CCm ou le CCp (Vogt and Paxinos, 2014), ont été anatomiquement délimitées. Les coordonnées délimitant ces structures restent cependant variables d'une étude à l'autre. Afin de délimiter les sous régions fonctionnelles du CC, nous avons analysé l'activité dans cette structure en faisant une distinction en fonction de la position antéropostérieure (AP) de la coupe. La figure B.6 illustre le marquage c-fos lors du rappel à J1 et à J30, sur deux plans différents (figure B.6.a et .b).

Lors de l'analyse de cette structure avec une distinction AP, suite au rappel à J1 (figure B.6.d), une ANOVA à deux facteurs (groupe et position AP) révèle un effet du groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,16)} = 8.096$; $P = 0.0117$), un effet de la position AP ($F_{(10,160)} = 18.07$; $P < 0.0001$) mais pas d'interaction groupe x délai ($F_{(10,160)} = 1.845$; $P = 0.0568$). Les animaux du groupe EXP ont un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé, en particulier dans la zone de 0 mm à 0.4 mm par rapport au point de Bregma. Lors de cette même analyse à J30 (figure B.6.e), une ANOVA à deux facteurs (groupe et position AP) révèle un effet du groupe ($F_{(1,121)} = 71.4$; $P < 0.0001$), un effet de la position AP ($F_{(10,121)} = 3.239$; $P = 0.001$), mais pas d'interaction groupe x délai ($F_{(10,121)} = 1.581$; $P = 0.12$). Les animaux du groupe EXP ont un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé, en particulier dans la zone de 1.6 mm à 3.6 mm par rapport au point de Bregma.

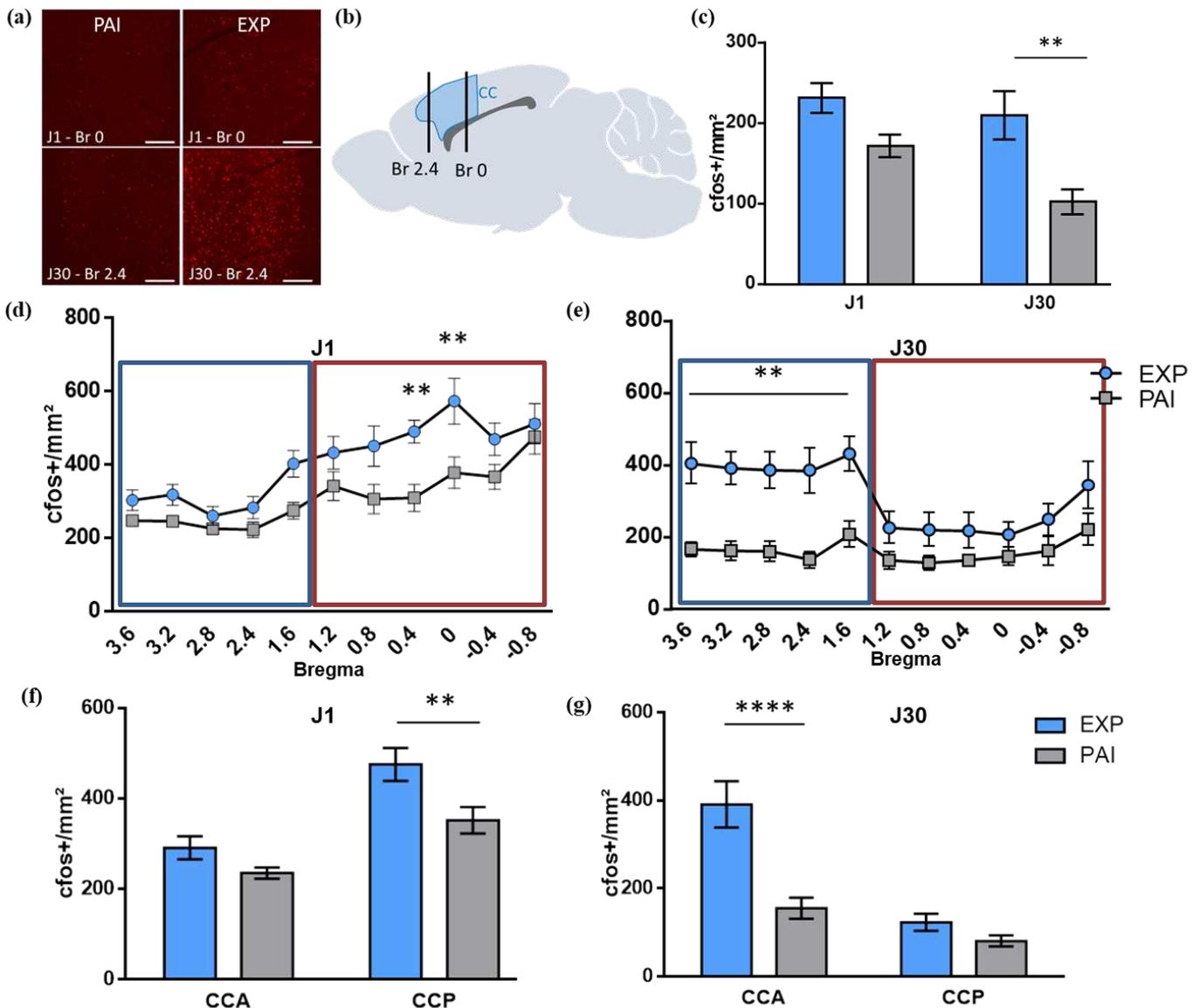


Figure B.6 | Implication différentielle du cortex cingulaire dans le rappel de l'information, suite au test de préférence alimentaire 1 (J1) et 30 (J30) jours après une tâche de TSPA. (a) Illustrations du marquage dans le CC pour les conditions contrôle (PAI) à gauche et expérimentale (EXP) à droite, suite à un test à J1 (sur le plan 0 mm par rapport au point de Bregma (Br)) et à J30 (sur le plan +2,4 mm par rapport au point de Bregma). (b) Schéma d'un cerveau de rat représentant le CC (en bleu) ainsi que la position des coupes illustratives. (c) Comptage des cellules c-fos⁺/mm² (±ESM) à J1 et J30, pour l'ensemble du CC, puis distinction en fonction de la localisation antéro-postérieure (d) à J1 (e) à J30. Ces résultats nous ont permis de définir du point de vue fonctionnel une distinction entre le **CC Antérieur** (CCA, de +3,6 à +1,6mm en fonction du point de bregma) et le **CC Postérieur** (CCp, +1,2 à -0,8mm en fonction du point de bregma), lors du comptage des c-fos⁺/mm² (±ESM), (f) à J1 et (g) à J30. **Analyse statistique** : **p<0,01, ****p<0,0001 comparé au groupe PAI, n=6 à 10).

L'analyse de l'activité des sous régions à J1 et J30 nous a permis de délimiter deux régions du CC d'un point de vue fonctionnel :

- le **Cortex Cingulaire Antérieur** (CCA) : qui représenterait la zone activée suite au test à J30, de +3.6 à +1.6 mm par rapport au point de Bregma,
- le **Cortex Cingulaire Postérieur** (CCp) : représentant le reste du CC, qui semble plus activé suite au rappel à J1, de 1.2 à -0.8 mm par rapport au point de Bregma.

En comparant l'activité dans ces deux sous-régions en fonction du groupe, une ANOVA à deux facteurs (groupe et sous-région) nous montre, à J1, un effet groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,16)} = 7.928$; $P = 0.0124$), un effet sous-région (CCp versus CCa ; $F_{(1,16)} = 47.08$; $P < 0.0001$), mais pas d'interaction groupe x sous-région ($F_{(1,16)} = 2.420$; $P = 0.1394$). Une analyse à J30 montre un effet groupe ($F_{(1,11)} = 11.29$; $P = 0.0064$), un effet sous-région ($F_{(1,11)} = 62.84$; $P < 0.0001$), ainsi qu'une interaction groupe x sous-région ($F_{(1,11)} = 20.07$; $P = 0.0009$). Ainsi, les animaux EXP montrent une augmentation de l'activité c-fos uniquement dans le CCp comparés aux animaux PAI (EXP : 476.0 ± 36.52 et PAI : 352.0 ± 29.36) lors du rappel à J1, mais pas dans le CCa (EXP : 291.2 ± 25.51 et PAI : 235.6 ± 12.32) à J1. Cette différence s'inverse à J30, l'activité cérébrale augmente significativement dans le CCa (EXP : 390.9 ± 52.71 et PAI : 155.3 ± 23.8), mais pas dans le CCp (EXP : 123.1 ± 19.6 et PAI : 80.87 ± 12.69).

4) Le Cortex rétrosplénial

Comme pour le CCa et CCp, la délimitation fonctionnelle entre le CCp et le rétroS reste très floue, certaines études fusionnent ces deux régions et les considèrent comme un nœud du réseau neuronal par défaut (Ash et al., 2016). Ainsi afin de déterminer si la dynamique de recrutement du CCp est similaire au rétroS lors de la TSPA, nous avons comparé l'activité c-fos dans le rétroS lors du rappel à court et long terme. Lors de l'analyse de l'activité par comptage des cellules c-fos⁺ suite au rappel à J1 et à J30 (figure B.7), une ANOVA à deux facteurs (groupe et délai) révèle un effet du groupe (PAI versus EXP ; $F_{(1,26)} = 7.477$; $P = 0.0111$), mais pas d'effet du délai ($F_{(1,26)} = 1.425$; $P = 0.2433$), ni d'interaction groupe x délai ($F_{(1,26)} = 3.062$; $P = 0.0919$). Les animaux du groupe EXP ont en effet un nombre de cellules c-fos⁺/mm² significativement plus élevé suite au rappel à long terme (EXP : 320.7 ± 34.81 et PAI : 210.3 ± 25.65), mais pas à court terme (EXP : 248.2 ± 23.13 et PAI : 224.0 ± 16.2). Ainsi le profil d'activité dans le RétroS est à l'opposé de celui du CCp suggérant qu'il s'agit de deux entités fonctionnellement différentes.

5) Corrélation de l'activité des structures

La connectivité fonctionnelle est largement utilisée dans des études d'imagerie chez l'Homme (EEG, MEG ou IRMf) et est typiquement mesurée par la mesure de covariance des signaux à travers différentes régions cérébrales durant la tâche (comparaison chez un même individu de

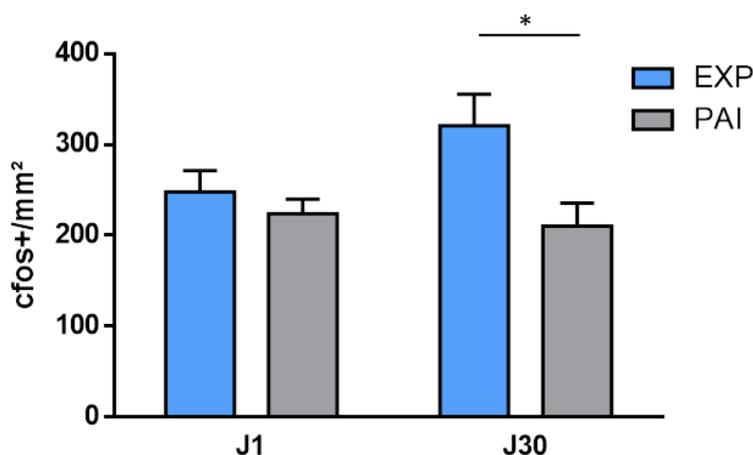


Figure B.7 | Implication du Cortex rétrosplénial dans le rappel à long terme, suite au test de préférence alimentaire 1 et 30 jours après une tâche de TSPA. Comptage des cellules c-fos⁺/mm² (±ESM), 1 jour (J1) après l'interaction et (b) 30 jours (J30) après l'interaction. **Analyse statistique :** * $p < 0,05$, (n=6 à 10).

l'activité avant et après la tâche - Horwitz et al., 1995). Cette connectivité fonctionnelle chez l'animal peut être réalisée par des approches invasives, par exemple électrophysiologiques ou d'imagerie, ou non invasive, mais mesurée *post-mortem*, en accédant à un index d'activation neuronale par région et par animal.

C'est pourquoi, afin de déterminer les interactions entre les ensembles neuronaux des différentes régions corticales, ainsi que l'évolution de ces interactions en fonction de la maturation de la trace mnésique, nous avons calculé un ensemble complet de corrélations interrégionales dans les différents groupes de rat (PAI versus EXP) à J1 puis à J30 en utilisant les résultats de l'expression *c-fos* présentés dans les figures précédents (Table 2). Cette méthode a d'ores et déjà été validée, notamment dans l'étude de la consolidation d'une mémoire sociale (Tanimizu et al., 2017). Ainsi l'analyse des corrélations interrégionales pour le nombre de cellules *c-fos*⁺ pour chaque groupe et à chaque délai est présentée dans la table 2 et résumée dans la figure B.8. Il apparaît clairement que l'activité neuronale est corrélée entre certaines régions, à la fois dans nos conditions PAI et dans nos conditions EXP (Par exemple le CPFm et CCa). Sans l'analyse d'une condition basale (i.e. sans interaction et test), il est difficile d'interpréter ces corrélations, elles peuvent être naturellement et constamment présentes inhérente à l'activité basale chez l'animal, ou associées à la nature du test (i.e le choix entre deux nourritures nouvelles). En revanche, il semble que le rappel du souvenir récent ou ancien est lié à l'apparition d'une connectivité fonctionnelle entre le COF et le CPFm. En effet nous mettons en évidence une corrélation entre l'activité du COF et du CPFm à J1 et à J30. Au cours de la maturation de la trace, cette corrélation positive devient de plus en plus marquée (Test de Pearson, J1 : $p=0.045$, $R^2=0.67$, $n=10$; J30 : $p=0.031$, $R^2=0.852$, $n=7$), suggérant **un renforcement fonctionnel de cette connexion CPFm/COF**. Toutefois, cette analyse fonctionnelle de la connectivité ne nous permet pas d'établir si une connexion anatomique directe existe entre le CPFm et le COF, ni la direction de cette possible connexion (CPFm vers COF, ou COF vers CPFm). Afin de répondre à cette question, nous avons étudié la connectivité anatomique de ces deux structures.

PAI	COF	CCa	CCp	CPFm	HPC	RetroS	EXP	COF	CCa	CCp	CPFm	HPC	RetroS
COF		0,844	0,824	0,759	0,482	0,770	COF		0,771	0,632	0,852	-0,135	0,956
Cca	0,111		0,965	0,942	0,668	0,743	CCA	0,696		0,818	0,970	0,641	0,760
CCp	0,281	0,054		0,905	0,464	0,582	CCP	0,622	0,554		0,807	0,628	0,762
CPFm	0,232	0,875	0,195		0,561	0,585	CPFm	0,678	0,888	0,493		0,596	0,737
HPC	-0,409	-0,182	-0,636	-0,541		0,903	HPC	0,485	0,544	0,254	0,547		0,127
RetroS	-0,125	-0,117	-0,262	-0,343	0,759		RetroS	0,665	0,403	0,294	0,343	0,468	

Table 2 | Résumé des coefficients de corrélation (R^2) entre l'activité des structures impliquées dans le rappel de la TSPA. Le tableau de gauche représente les coefficients pour le groupe contrôle (PAI), et celui de droite le groupe expérimental (EXP) entre l'activité dans les différentes structures : le COF, le CCa et CCp, le CPFm et l'HPC. Les coefficients dans les encadrés verts correspondent aux corrélations observées suite au test **1 jour** après l'interaction tandis que les encadrés rouges correspondent aux corrélations observées suite au test **30 jours** après l'interaction. **Analyse statistique** : corrélation de Pearson, les données **mises en valeurs** correspondent aux corrélations qui sont statistiquement significatives ($p<0.05$).

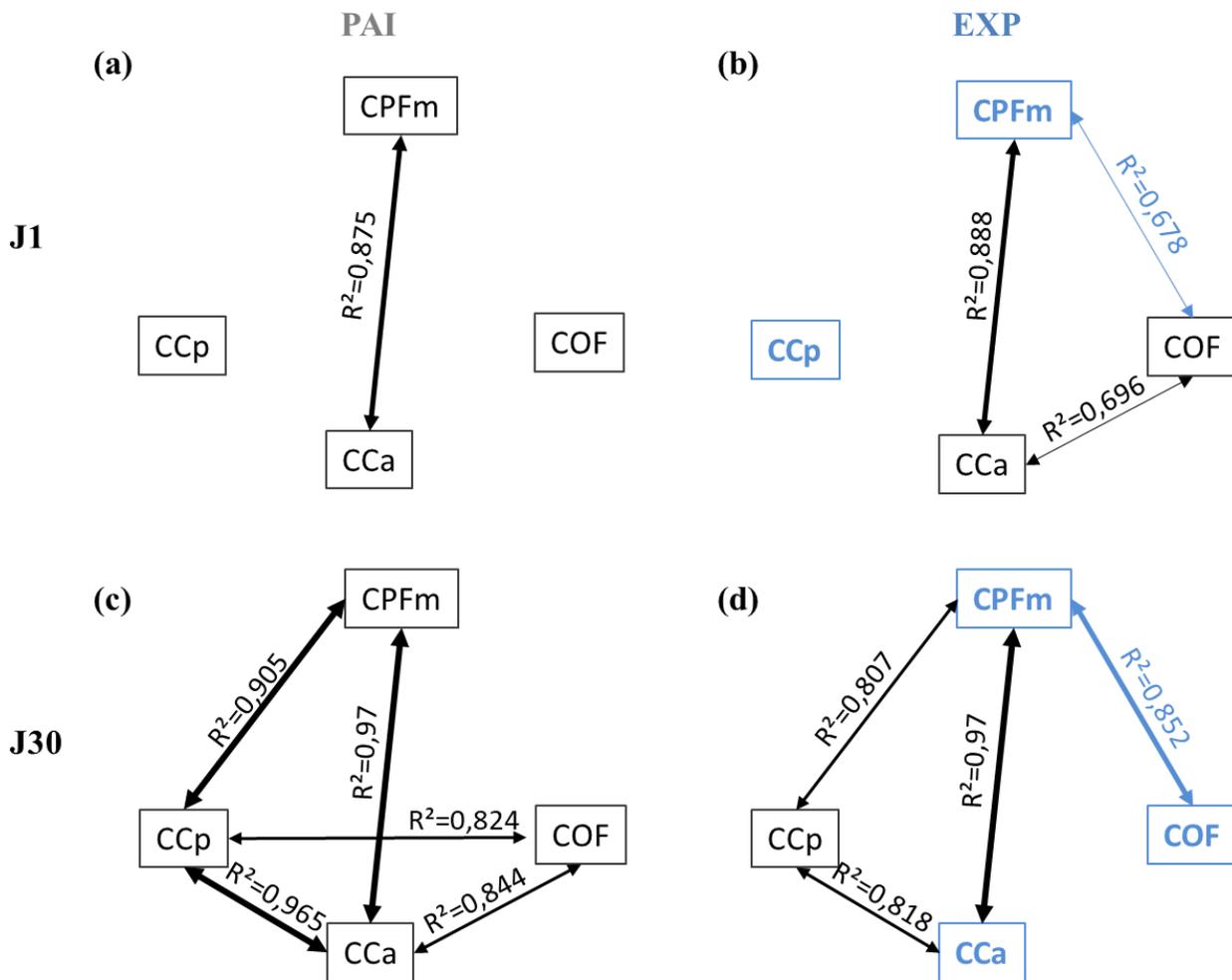


Figure B.8 | Corrélations de l'activité dans les différentes structures corticales activées, suite au test de préférence alimentaire 1 (J1) et 30 (J30) jours après une tâche de TSPA. Schémas représentant les liens entre l'activité dans les différentes structures : le Cortex Orbito-Frontal (COF), le Cortex Cingulaire antérieur (CCa) et postérieur (CCp) et le Cortex Préfrontal médian (CPFm), (a) dans le groupe contrôle (PAI) à J1, (b) pour le groupe expérimental (EXP) à J1, (c) en condition PAI à J30, et (d) en condition EXP à J30. La force de la corrélation, donnée par le R^2 , est représentée selon l'épaisseur de la flèche qui lie les deux structures dont l'activité est corrélée. Les structures qui sont activées en condition EXP comparée à la condition PAI sont en bleu.

II. Étude de la connectivité anatomique entre le cortex orbitofrontal et le cortex préfrontal médian

Depuis plus de cent ans, l'histologie du réseau cérébral est étudiée par différentes techniques de coloration (y Cajal, 1889; Golgi, 1873; Van Leeuwenhoek, 1675). Des méthodes très locales, colorant des cellules ou des axones, ont pu permettre d'étudier finement des microcircuits élémentaires. À une échelle plus large, des méthodes de dégénérescence et de traçage axonal rétrograde et antérograde (partant des neurones post- ou présynaptiques) sont actuellement parmi les plus employées pour cartographier les principaux faisceaux de connexion. Il existe également l'IRM de diffusion, qui a l'avantage d'être non invasive et plus utilisée chez l'Homme. Les méthodes de traçage donnent la direction de la connexion, alors que l'IRM de diffusion permet de voir les changements dans le temps, mais n'a pas de résolution spatiale suffisante. C'est pourquoi, afin d'étudier le lien anatomique ainsi que la direction de ce lien entre le mPFC et l'OFC, nous avons choisi d'utiliser un marqueur rétrograde ; la sous unité B de la toxine cholérique (CTB).

La CTB a la capacité de fixer les monogangliosides (GM1) à la surface des cellules nerveuses avec une très grande affinité. Sa diffusion dans le tissu est restreinte et une grande quantité de traceur peut être captée au niveau du site d'injection. Une fois fixée, la CTB est internalisée dans des vésicules, puis transportée de façon rétrograde à l'intérieur du neurone afférent (Stoeckel et al., 1977; Trojanowski, 1983). La CTB est un traceur rétrograde monosynaptique (i.e. non trans-synaptique), permettant de mettre en évidence des connexions directes exclusivement. La CTB présente également l'avantage de ne pas être captée par les fibres de passage non lésées. Cette CTB, seule ou couplée à un fluorophore, pourra être captée par les terminaisons synaptiques et transportée de façon rétrograde dans le corps cellulaire des neurones où elle va s'accumuler. Ce marqueur est fréquemment utilisé dans l'étude des mécanismes des signaux de transduction, ainsi que dans le transport rétrograde dans le cadre des neurosciences. Il a en effet été montré que la CTB est un excellent traceur pour l'étude du transport axonal (Conte et al., 2009). Pour cette étude nous avons utilisés la CTB couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (Sigma Aldrich, C1655, France).

II.a - Matériels et méthodes

1) Chirurgies

Tous les animaux ont été anesthésiés par une injection i.p de Kétamine (10mg/ml, 1ml/kg; Merial France) puis de Xylazine (2%, 0.4ml/kg ; Bayer, Allemagne). La tête de l'animal a été rasée et nettoyée à la Bétadine. De la lidocaïne a également été appliquée comme anesthésique local (Xylocaïne 5%, Astra Zeneca, UK). Durant l'opération, un gel ophtalmique (Ocry-gel, TVM, France) a été appliqué sur les yeux de l'animal, et renouvelé quand nécessaire. La tête de l'animal a été maintenue immobile sur un appareil stéréotaxique à l'aide de deux barres d'oreilles et son museau a été bloqué avec une barre d'incisives. Le scalp a été incisé et la surface du crâne nettoyée afin de rendre visible les différents points de référence nommés bregma (intersection entre la suture coronale et la suture sagittale) et lambda (intersection entre la suture lambdoïde et la suture sagittale).

La CTB (1%, Sigma-Aldrich, USA) a été injecté unilatéralement, soit au niveau du COF (AP +4.2 mm ; latéral -2 mm (hémisphère gauche) ; dorso-ventral -4.2 mm), soit au niveau du CPFm (antéro-postérieur +2.7 mm ; latéral -0.5 mm (hémisphère gauche); dorso-ventral -5 mm). Le crâne a été perforé au niveau d'un de ces sites et l'injection a été effectuée par pressions manuelles (0.5µl, 0.25µl/minute), à l'aide d'une micropipette de verre connectées à une seringue (Becton Dickinson, France) à l'aide d'un tube de polyéthylène (figure B.9). Après l'injection, la micropipette a été maintenue en place pendant 5 min pour assurer la bonne diffusion des traceurs. Les perforations dans le crâne ont ensuite été bouchées par une cire à os (Bone Wax, Ethicon, USA) afin de protéger le cerveau. Un anesthésiant local (Xylocaïne 5%, Astra Zeneca) a été appliqué sous la peau du crâne avant de suturer les berges de la plaie. L'utilisation de pipettes de verre permet de limiter au maximum la lésion mécanique au niveau des sites d'injection et donc de limiter le risque d'atteinte des fibres de passage. Après l'opération, les animaux ont reçu une injection i.p. d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (Metacam 50mg/ml, 5mg/kg, Bayer, Allemagne). Les animaux ont ensuite été placés dans une cage de réveil chauffée où ils sont

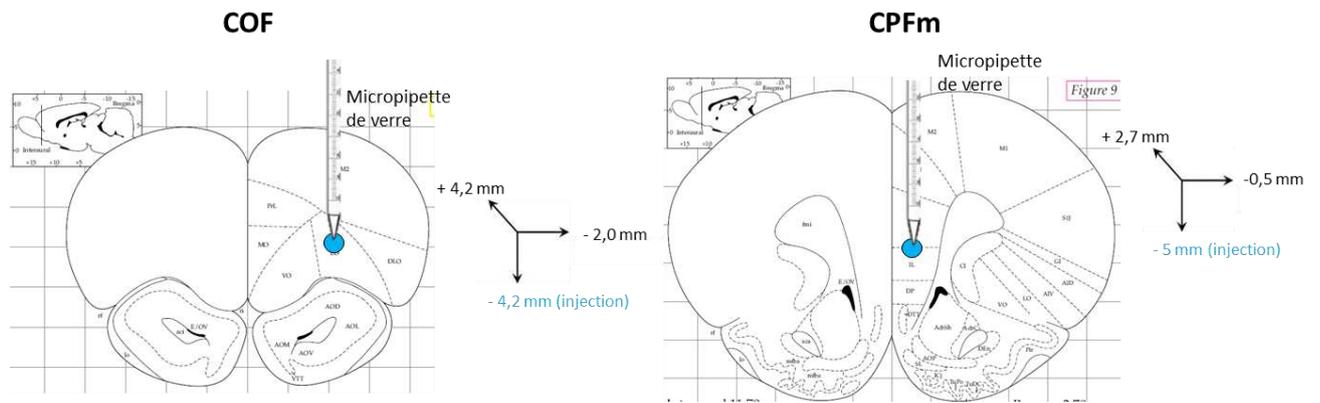


Figure B.9 | Schéma de la zone d'injection par pipette de verre du traceur rétrograde, dans le COF (à gauche) et dans le CPFm (à droite). Les coordonnées indiquées sont exprimées en référence au Bregma, selon l'atlas stéréotaxique de de Paxinos and Watson, 1998).

surveillés jusqu'à leur réveil. Les rats ont bénéficié d'un suivi post-opératoire pendant une semaine.

2) Groupes et plan expérimental

Suite à la chirurgie, les animaux sont maintenus 10 jours dans la zone de stabulation afin de permettre aux CTB injectées dans le COF (n=3) ou le CPFm (n=3) d'être captée et de s'accumuler dans le corps cellulaire. L'accumulation est lente et d'autant plus lente que le corps cellulaire est éloigné de la terminaison présynaptique. Après 10 jours, les animaux sont euthanasiés par perfusion intracardiaque de PFA (figure B.10). Le reste du protocole (perfusions, coupe des cerveaux et stockage des tranches) est identique à celui décrit dans la section I.a.3 et .4 de la partie A (p. 75-76).

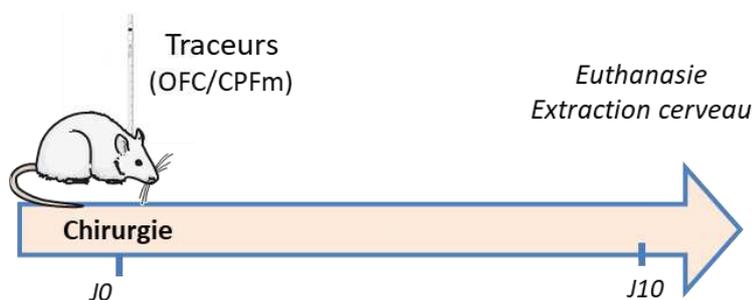


Figure B.10 | Plan expérimental de l'expérience 2.

3) Immunofluorescence

Le signal fluorescent du FITC, fixé au CTB étant trop faible, nous avons réalisé un protocole d'immunofluorescence afin d'amplifier le signal. Les coupes flottantes de cerveaux sont réparties dans des plaques de 12 puits et sont rincées 10 min dans du TP 0.1M. Les coupes sont ensuite pré-incubées pendant 2 heures dans une solution de blocage, composée de TP 0.1M contenant 0.1% d'albumine sérique bovine (Sigma Aldrich, USA), 2% de sérum de chèvre (Biowest, France) et 0.2% de Triton X100 (Sigma Aldrich, USA). Les coupes sont ensuite incubées pendant la nuit, à température ambiante sous agitation modérée, dans la solution de blocage contenant l'anticorps primaire de chèvre anti-CTB (List Biological Laboratories, #703, USA, 1 :10000). Vingt-quatre heures après, les coupes sont lavées 3 x 15 min dans du TP 0.1M avant d'être incubées pendant 2h à

température ambiante, protégées de la lumière et sous agitation constante, dans une solution de blocage contenant l'anticorps secondaire de poulet anti-chèvre couplé à l'Alexa 488 (longueurs d'ondes absorption/émission : 495 à 519 nm; 1:500, Molecular Probes, A21467, USA). Après incubation, les coupes sont de nouveau lavées 3 x 15 min dans du TP 0.1M, puis incubées 15 min avec du DAPI (Boster, USA, 1 :5000). Les coupes sont ensuite lavées 15 min dans du TP 0.1M, avant d'être montées sur lame de verre avec 60µl de milieu de montage pour fluorescence à base de Mowiol (Mowiol (Calbiochem, USA) 10%, 0.2M Tris 50%, eau distillée 25%, glycérol 15%, Sodium Azide 0.02%) et recouvertes d'une lamelle de verre.

II.b – Résultats

1) Injections dans le COF

- Le site d'injection

La figure B.11 montre le site d'injection dans le COF de la CTB, principalement au niveau du VO, validant notre procédure pour cibler notre structure d'intérêt.

- Les afférences du COF

La figure B.12 illustre les afférences du COF, révélées par le traceur rétrograde. Il est possible d'observer l'accumulation de CTB dans les neurones dans plusieurs régions impliquées dans la mémorisation d'un souvenir associatif olfactif ; le CCa (figure B.12.a), les deux sous-régions du CPFm ; le PrL et l'IL (figure B.12.b), ainsi que le cortex piriforme (figure B.12.c), dont la connexion avait déjà été mise en évidence (Carmichael and Price, 1994; Cavada, 2000; Hoover and Vertes, 2011), et que l'on sait impliquée dans l'apprentissage olfactif (Courtiol et al., 2019). La révélation de ces zones est un contrôle positif permettant de valider nos observations de la connexion CPFm →COF.

2) Injections dans le CPFm

- Le site d'injection

La figure B.13 montre le site d'injection dans le CPFm de la CTB, principalement au niveau du PrL, validant notre procédure pour cibler notre structure d'intérêt.

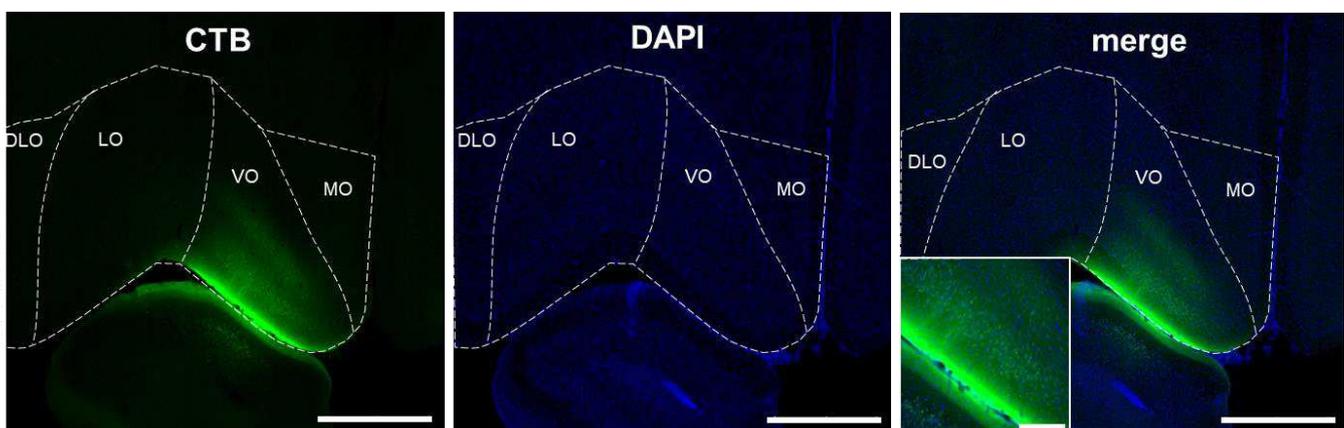


Figure B.11 | Illustration de la zone d'injection du traceur rétrograde par pipette de verre dans le COF. Echelles à 1 mm. Les sous-régions indiquées sont délimitées selon l'atlas stéréotaxique de de Paxinos and Watson, 1998).

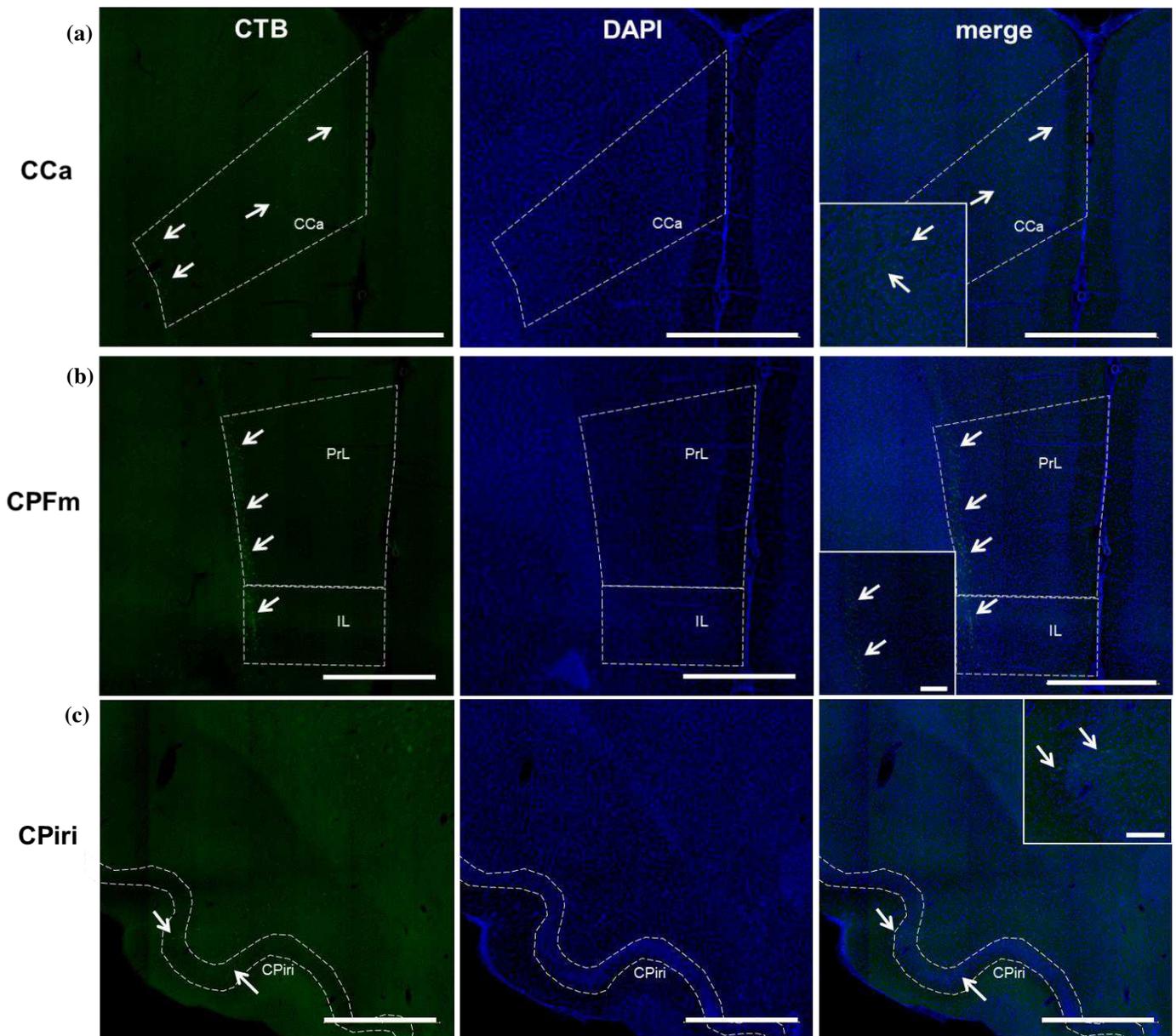


Figure B.12 | Illustration du marquage du traceur rétrograde révélant les afférences du COF. (a) illustration du marquage CTB dans le CCa, les cellules CTB⁺ sont pointées par des flèches blanches, (b) illustration du marquage CTB dans le CPFm, les cellules CTB⁺ sont pointées par des flèches blanches, dans le PrL et l'IL, (c) illustration du marquage CTB dans le Cortex Piriforme (Cpiri), les cellules CTB⁺ sont pointées par des flèches blanches. Echelles à 1mm, zooms à 200 μm. Les sous-régions indiquées sont délimitées selon l'atlas stéréotaxique de de Paxinos and Watson, 1998).

- Les afférences du CPFm

La figure B.14 illustrant les afférences du CPFm, révèle une absence de connexion du COF vers le CPFm (figure B.14.a). Mais une accumulation de CTB dans les neurones de plusieurs régions est cependant observée, confirmant dans notre modèle des observations précédentes, notamment le cortex piriforme (figure B.14.b - Loureiro et al., 2019) et le cortex entorhinal (Hoover and Vertes, 2007; Kitamura et al., 2017; Swanson, 1981) et perirhinal (Deacon et al., 1983), ce qui valide notre injection et permet d'affirmer l'absence de connexion réciproque COF → CPFm.

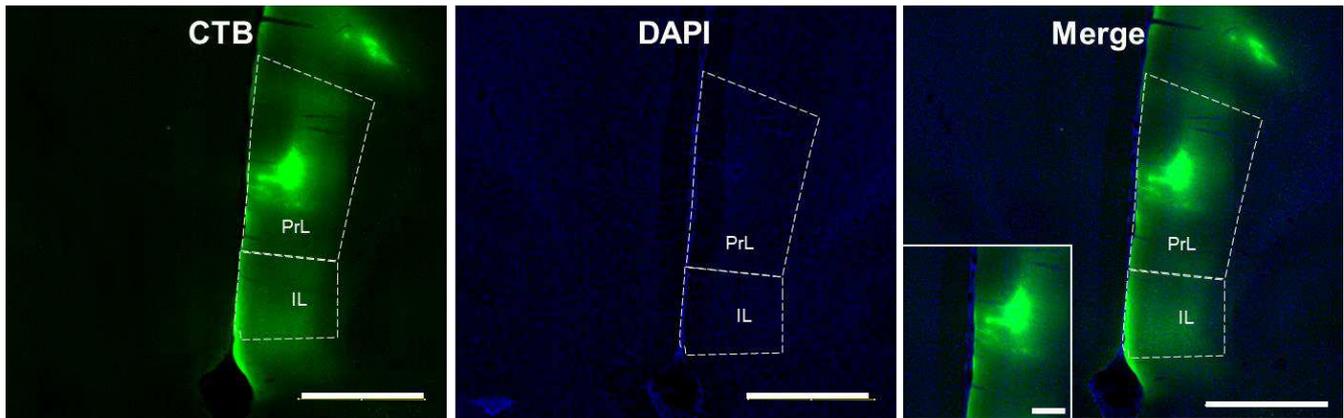


Figure B.13 | Illustration de la zone d'injection du traceur rétrograde par pipette de verre dans le CPFm. Echelles à 1 mm. Les sous-régions indiquées sont délimitées selon l'atlas stéréotaxique de de [Paxinos and Watson, 1998](#)).

II.c - Conclusions

Notre analyse de la connectivité anatomique démontre une connexion anatomique directe et unidirectionnelle, du CPFm vers le COF. L'observation de cellules avec une accumulation de CTB dans des régions connues pour être connectées au COF (le cortex piriforme) ou au CPFm (le cortex piriforme, entorhinal et perirhinal) permettant de valider notre protocole ainsi que les résultats observés.

III. Implication fonctionnelle du cortex préfrontal médian dans le rappel d'une mémoire récente et ancienne

La connectivité fonctionnelle et anatomique révèle que le CPFm pourrait jouer un rôle important dans la consolidation systémique de la mémoire associative olfactive. Toutefois, le rôle du CPFm dans la tâche de TSPA n'a pas été que partiellement documenté ([Loureiro et al., 2019](#)). Afin d'étudier le rôle du CPFm dans cette tâche, nous avons opté pour une approche pharmacogénétique pour deux raisons, essentiellement liées au contrôle spatial de l'inactivation. D'une part, le CPFm est localisé dans une zone proche du COF et du CCa, deux régions qui jouent un rôle dans la tâche de TSPA. Ainsi une approche pharmacogénétique va nous permettre le contrôle précis la région infectée et donc inhibée, afin de minimiser les risques d'inactivation collatérale de régions adjacentes. De plus, le CPFm est localisé juste en dessous du CCa, suggérant que l'approche par guide-canule va endommager au moins partiellement cette région pouvant conduire à une conclusion erronée.

III.a - Matériels et méthodes

1) Vecteurs viraux

Afin d'inhiber l'activité neuronale, nous avons opté pour une stratégie de pharmacogénétique. Nous utiliserons les vecteurs *Adeno Associated Virus* (AAV) de sérotype 9, pour infecter les neurones *in vivo* ([Gray et al., 2011](#)). L'utilisation de vecteurs AAV est relativement simple et permet une infection rapide et à long terme des cellules (pour revue, voir [Millet et al., 2013](#)). Nous

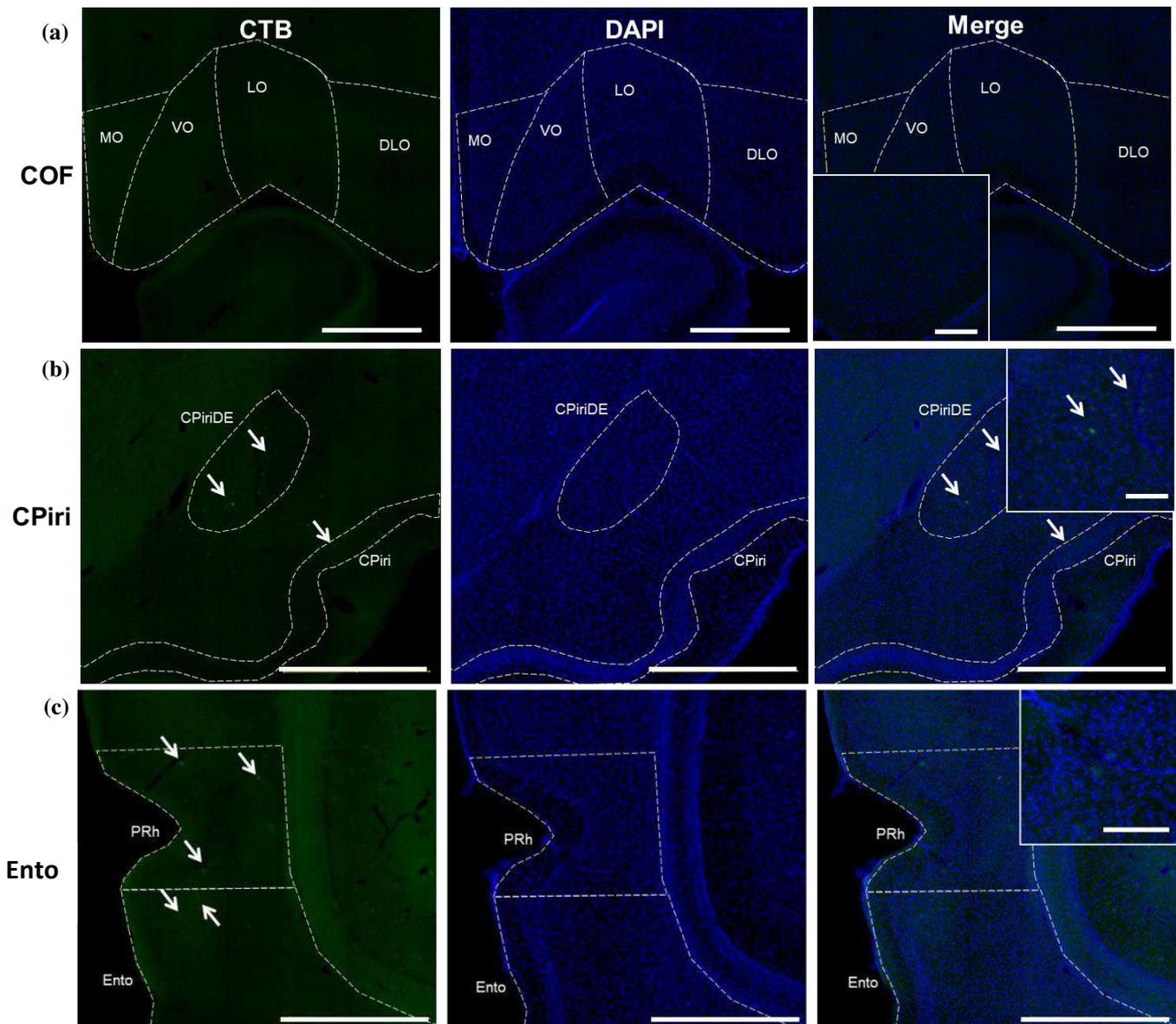


Figure B.14 | Illustration du marquage du traceur rétrograde révélant les afférences du COF. (a) illustration de l'absence de marquage CTB dans le COF, (b) illustration du marquage CTB dans le cortex Piriforme (Cpiri) et dans le noyau dorsal du cortex endopiriforme (CPiriDE), les cellules CTB⁺ sont pointées par des flèches blanches, (c) illustration du marquage CTB dans le cortex entorhinal (Ento) et périrhinal (PRh), les cellules CTB⁺ sont pointées par des flèches blanches. Echelles à 1mm, zooms à 200 μm. Les sous-régions indiquées sont délimitées selon l'atlas stéréotaxique de de Paxinos and Watson, 1998).

infecterons les neurones du cortex préfrontal médian avec une construction DREADD (pour *Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs*). Cette construction moléculaire DREADD est basée sur des récepteurs à protéine G et a été créée de façon à n'être sensible qu'à une molécule ligand qui n'est pas présente naturellement dans l'organisme. Cela permet de contrôler temporellement et spatialement leur activation en injectant, au moment et dans la zone voulue, le ligand de synthèse, typiquement une N-oxide clozapine (CNO) ou un dérivé. Si différents types de DREADD ont été développés pour inhiber ou activer l'activité neuronale, nous avons opté pour le hM4Di, qui est une forme modifiée du récepteur muscarinique M4 humain (hM4). Il peut être activé par le métabolite inerte de la clozapine, le clozapine-N-oxide (CNO) ou un dérivé, le DREADD agoniste C21 (C21), qui active la voie de signalisation Gi. La signalisation Gi dans les

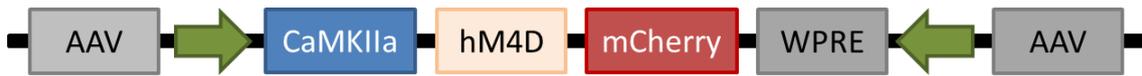


Figure B.15 | Schéma de la construction du vecteur viral, permettant l'expression des récepteurs DREADD dont l'activation entraîne l'inhibition des neurones (DREADDi), du WPRE : *Woodchuck Hepatitis Virus Posttranscriptional Regulatory Element* permettant d'amplifier l'expression des gènes contenus dans le vecteur.

neurones conduit à l'ouverture des canaux potassiques, ce qui entraîne un afflux d'ions potassium qui diminue le potentiel de la membrane au repos des neurones et leur capacité à se dépolariser. Ainsi, les neurones exprimant le hM4Di activés par le CNO voient leur niveau de décharge des potentiels d'action diminué drastiquement (Armbruster et al., 2007).

La construction que nous avons obtenue de la banque Addgene, est illustrée sur la figure B.15. Cette construction a été réalisée par la plateforme AVV de l'institut des maladies neurodégénératives, sous la supervision de Nathalie Dutheil. L'expression de la construction hM4Di est sous la dépendance du promoteur de CaMKIIa qui est fortement actif dans les neurones (Mayford et al., 1996).

2) Chirurgies

Le virus après production est injecté selon le même protocole que celui décrit dans la partie B.II. Les AVV-DREADDi ont été injectés bilatéralement au niveau du PrI (antéro-postérieur +2.7 mm; latéral ± 0.5 mm (de chaque côté); dorso-ventral -5 mm). Le crâne a été perforé au niveau de ces sites et l'injection a été effectuée par pressions manuelles (0.5 μ l, 0.25 μ l/minute), à l'aide d'une micropipette de verre connectées à une seringue (Becton Dickinson, France) par un tube de polyéthylène (figure B.16). Après l'injection, la micropipette a été maintenue en place pendant 5 min pour assurer la bonne diffusion des vecteurs. Les animaux ont ensuite bénéficié de dix jours de récupération, pendant laquelle ils étaient manipulés quotidiennement, plus particulièrement au niveau de la zone abdominale qui servira de point d'injection de notre agoniste des DREADDi, afin de réduire le stress et anticiper l'injection i.p. ultérieure.

3) Groupes et plan expérimental

Après les 10 jours de récupération, les animaux ont été soumis à une tâche de TSPA, avec un test de préférence alimentaire soit un jour (J1), soit trente jours (J30) après l'interaction. Pour chaque délai, nous avons généré un groupe EXP et un groupe témoin PAI. Pour exclure la possibilité que le C21 per se n'interfère pas avec le rappel, nous avons également utilisé deux groupes d'animaux sans injection de vecteurs viraux. Trente minutes avant le test, tous les animaux ont reçu une injection i.p. de C21 (1ml/kg, 3mg/kg, Tocris, UK) ou d'une solution saline (1ml/kg, pays). Après ce délai, nous avons testé la préférence alimentaire des animaux pour la nourriture aromatisée au cumin. L'expérience s'est déroulée selon le plan expérimental décrit en figure B.17.

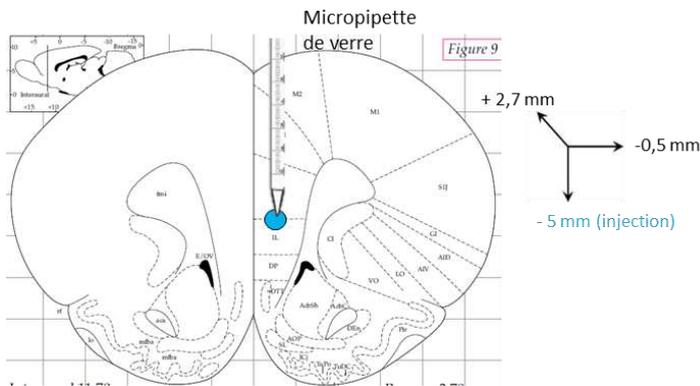


Figure B.16 | Schéma de la zone d'injection du vecteur viral par pipette de verre dans le CPFm. Les coordonnées indiquées sont exprimées en référence au Bregma, selon l'atlas stéréotaxique de de Paxinos and Watson, 1998).

Le groupe témoin PAI a permis de vérifier, sur le plan comportemental, que la présence de neurones infectés par les virus DREADDi n'avait pas d'impact sur la préférence alimentaire innée pour le thym. Le groupe témoin n'ayant pas subi de chirurgie et ayant simplement reçu une injection i.p de C21 ou de saline une heure avant le test a permis de vérifier l'injection de C21 *per se* ne perturbe pas le rappel.

Afin de vérifier que la chirurgie et l'infection de certains neurones du CPFm par le DREADDi n'affecte pas la capacité d'encoder, de stocker ou de rappeler une information, nous avons effectué un contrôle supplémentaire sur les groupes ayant un test à J1. Une semaine après le rappel, ces animaux ont eu une deuxième interaction avec un démonstrateur ayant consommé du cacao (figure B.17). Il a en effet été montré que lors de la présentation d'une paire d'odeur cacao/cannelle, un rat présente une préférence innée pour la nourriture aromatisée à la cannelle, alors qu'une interaction au préalable avec un démonstrateur ayant consommé de la nourriture aromatisée au cacao inverse cette préférence (Bessières et al., 2017; Lesburgueres et al., 2011; Smith et al., 2010). La préférence alimentaire pour le cacao de ces animaux est testée un jour après l'interaction.

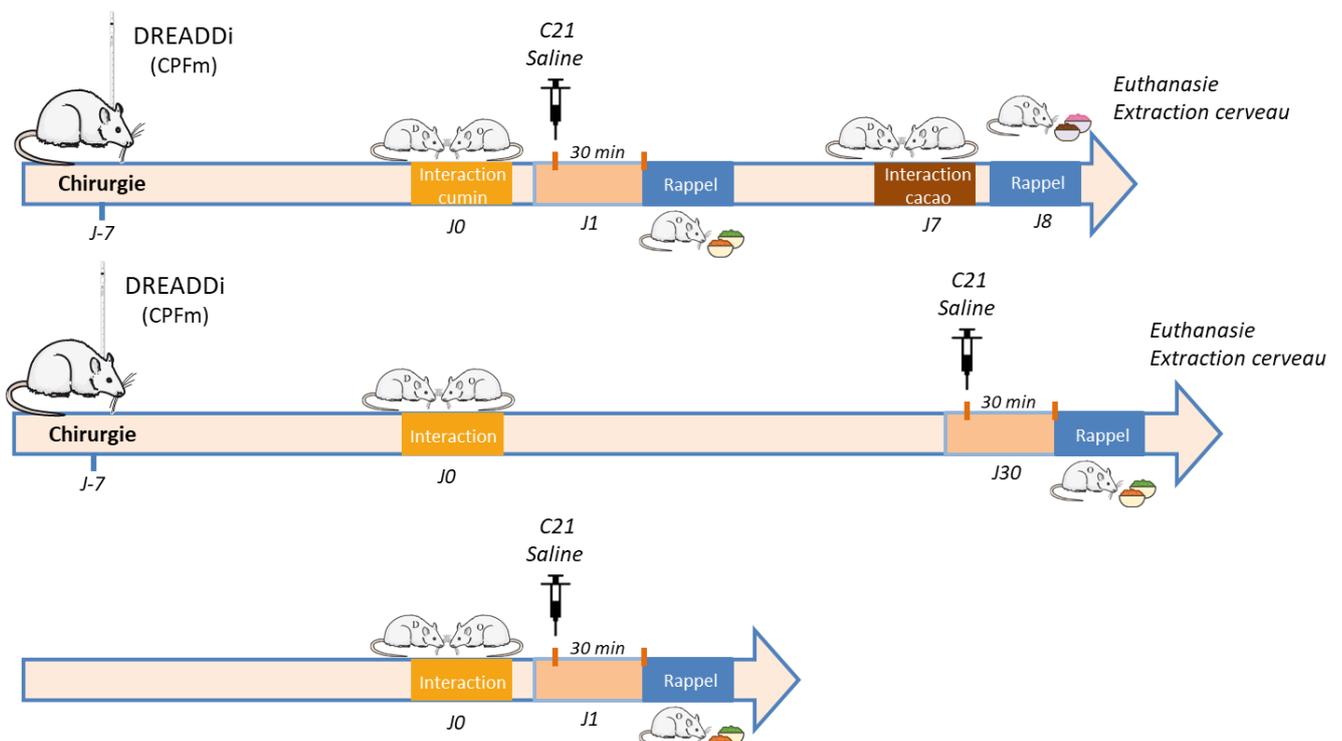


Figure B.17 | Plan expérimental de l'expérience 3.

Suite au test de préférence alimentaire, les animaux ayant subi une injection de DREADDi sont euthanasiés par perfusion intracardiaque de PFA, pour des des contrôles histologiques. Le reste du protocole (perfusions, coupe des cerveaux et stockage des tranches) est identique à celui décrit dans la section I.a.3 et .4 de la partie A (p.75-76). Les animaux sont répartis en 10 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	J1				J30	
	DREADDi		None		DREADDi	
	C21	Saline	C21	Saline	C21	Saline
EXP	n=10	n=10	n=12	n=12	n=10	n=9
PAI	n=2	n=2	\	\	n=2	n=2

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 1.

Afin de valider notre protocole d'inactivation DREADDi, nous avons voulu vérifier que notre construction DREADDi en présence de C21, inhibe bien l'activité neuronale induite dans le CPFm, suite à une injection de sulpiride, dans la fenêtre de temps que nous avons utilisé pour notre expérience. Par souci de réduction du nombre d'animaux utilisés pour ce projet et en accord avec la règle des 3R, une partie des animaux du groupe J1 a été divisée en quatre groupes et nous avons pris soin de ne pas réinjecter le C21 sur un animal ayant précédemment reçu le C21 lors du rappel de la TSPA. Dans chacun de ces groupes, 30 min après l'injection de C21 ou de saline, deux groupes ont été formés : un groupe recevant une injection i.p. de sulpiride (produit décrit en section B.2 de la partie A (p.75) - Sigma Aldrich, USA - 100mg/kg), et un groupe recevant une injection de solution saline. Quarante-vingt-dix min après les injections, les animaux sont perfusés selon le protocole précédemment décrit. L'expérience s'est déroulée selon le plan expérimental décrit sur la figure B.18.

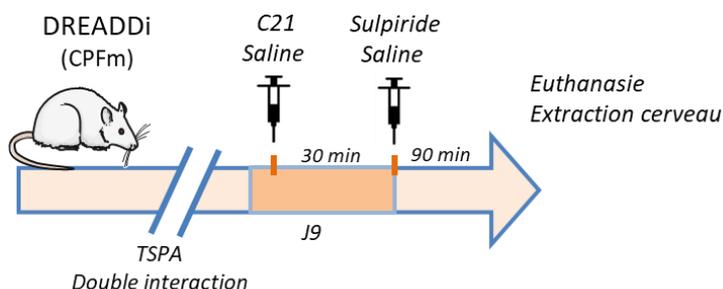


Figure B.18 | Plan expérimental de l'expérience d'injection de sulpiride.

Les animaux ont donc été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau suivant :

	DREADDi	
	C21	Saline
Sulpiride	n=3	n=3
Saline	n=3	n=3

Tableau présentant les effectifs des injections de Sulpiride.

4) Protocole d'immunofluorescence

Pour contrôler l'étendue d'infection, aucun protocole d'immunofluorescence n'est nécessaire, car la protéine fluorescente mCherry est suffisamment exprimée et le signal suffisamment intense pour permettre une bonne acquisition avec le microscope à épifluorescence. Pour valider notre construction, nous avons analysé, sur les coupes des cerveaux des animaux ayant reçu une injection de sulpiride (ou de saline), l'expression de c-fos dans le CPFm en utilisant le protocole d'immunofluorescence précédemment décrit (Partie B.I). Cette fois, l'anticorps secondaire utilisé pour révéler c-fos est un anticorps secondaire d'âne anti-lapin couplé au DyLight 488 (longueurs d'ondes absorption/émission : 495 à 519 nm ; 1:500, Bethyl, USA).

5) Acquisition dans les structures d'intérêt

Les images sont acquises sur un microscope à épifluorescence décrit en section I.a.6 de la partie A (p.77). Des mosaïques sont réalisées dans le CPFm sur quatre coupes (+3.6 mm, +3.2 mm, +2.8 mm et +2.4 mm par rapport au bregma). La délimitation de nos zones d'intérêt est déterminée selon l'atlas stéréotaxique (Paxinos and Watson, 1998).

6) Analyses

Nous avons d'abord réalisé une analyse des animaux ayant reçu une injection de sulpiride. Pour l'analyse de l'étendue d'infection, nous avons calculé le niveau de gris moyen du CPFm dans son ensemble (PrL et IL) sur les quatre coupes, bilatéralement et fait la moyenne des huit valeurs pour chaque animal. Nous avons ensuite comparé ces niveaux d'infection avec un test de Mann-Whitney, le nombre d'individus étant trop réduit pour tester la distribution normale des échantillons. Pour l'analyse de l'expression de la protéine c-fos, nous avons utilisé la méthode de comptage précédemment décrite dans section I.c.7 de la partie A (p.75-76), avec un seuil de détection fixé à 3500. Nous avons comparé l'expression de la protéine c-fos à l'aide de *t-tests* multiples non paramétriques, dans le CPFm puis dans le striatum.

Nous avons ensuite analysé l'étendue d'infection de l'ensemble des animaux ayant été soumis à une tâche de TSPA à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, l'injection (C21 vs saline) et le délai (J1 vs J30), afin de vérifier que le niveau d'infection était équivalent pour les groupes C21 et saline. Un test post-hoc de Sidak a permis de comparer deux à deux les groupes d'animaux en fonction de la condition expérimentale. Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcent de nourriture au cumin consommée et en quantité totale de nourriture consommée (moyenne \pm ESM). Les groupes contrôles ayant uniquement reçu une injection i.p. de C21 ou de saline (sans DREADDi) ont été comparés avec un test de Mann-Whitney, car les échantillons n'ont pas une distribution normale. Pour les résultats comportementaux à J1 et J30, nous avons regroupé les PAI de la condition C21 et saline car les quatre animaux ont consommé une quantité de nourriture aromatisée au cumin similaire entre eux, et surtout semblables aux moyennes habituellement obtenues dans les groupes PAI lors des tests de préférence alimentaire de notre équipe. L'un des huit PAI a été exclu, car il a été blessé par l'injection qui a précédé le test de préférence, au cours duquel il n'a pas quasiment rien mangé (<0.2g). Les PAI n'ont cependant pas été inclus dans les

analyses statistiques, en raison de leur faible effectif. Pour l'analyse de la consommation de nourriture aromatisée suite à la première interaction, les groupes ont été comparés à l'aide d'un *t-test* non apparié, aux deux délais de rappel. Pour l'analyse de la consommation de cacao après la seconde interaction, les groupes ont été comparés à l'aide d'un *t-test* non apparié. Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% ($p < 0.05$) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

III.b - Résultats

1) Validation de notre approche pharmacogénétique

Afin de valider notre protocole d'injection, nous avons étudié l'impact des DREADDi sur l'activation des neurones dans le CPFm suite à une activation pharmacologique par injection de Sulpiride.

• Effet des DREADDi sur l'activité neuronale

La figure B.19.a, .b et .c illustre des marquages de l'étendue d'infection (mCherry) dans le CPFm et de l'expression de la protéine c-fos suite à une injection i.p de sulpiride. Nous avons d'abord contrôlé que l'étendue d'infection DREADDi était bien la même pour les groupes C21 et saline (en regroupant les conditions saline et sulpiride – figure B.19.d). Un test de Mann-Whitney ne révèle aucune différence sur les niveaux de gris du signal mCherry, représentant l'étendue d'infection des DREADDi (M-W, $U=10.00$, $n=6$, $p=0.2381$). L'injection de sulpiride augmente l'activité neuronale basale car un *t-test* multiple non paramétrique montre une différence significative de l'expression c-fos dans le CPFm entre les groupes sulpiride et saline (figure B.13.e). En effet, un *t-test* multiple non paramétrique montre une différence significative entre les groupes C21 et saline, à la fois dans la condition sulpiride ($t_{(4)}=7.2094$, $p=0.0019$) et dans la condition contrôle ($t_{(4)}=6.733$, $p=0.0025$ - figure B.19.e). Ainsi l'activation des DREADDi induit en effet une diminution significative de l'activité neuronale, quantifiée par l'analyse de c-fos, que ce soit sur l'activité basale (C21 : 75.84 ± 5.754 ; saline : 228.1 ± 21.87), ou suite à l'injection de sulpiride (C21 : 124.9 ± 9.958 ; saline : 356.0 ± 30.47).

Afin de vérifier que l'activation des DREADDi bloque effectivement l'activation, à la fois dans la condition basale et dans la condition sulpiride, et pour exclure les effets non spécifiques du C21, nous avons analysé l'expression de c-fos dans une autre structure cérébrale non infectée avec le DREADDi, et sensible au sulpiride : le striatum (Marshall et al., 2001). Lors de la comparaison de l'expression c-fos dans le striatum (figure B.13.f), un *t-test* multiple non paramétrique ne montre pas de différence entre les groupes C21 et saline, que ce soit en condition Sulpiride ($t_{(4)}=0.75754$, $p=0.4929$) ou contrôle ($t_{(4)}=2.11324$, $p=0.10212$), indiquant ainsi que les effets inhibiteurs du C21 sur l'activité neuronale sont spécifiques de la zone infectée. Ainsi nous validons notre approche pharmacogénétique pour réduire l'activité neuronale, sélectivement dans le CPFm, à la fois en termes de d'infection, d'étendue d'infection, mais également de concentration d'agoniste et de biodisponibilité dans le cerveau.

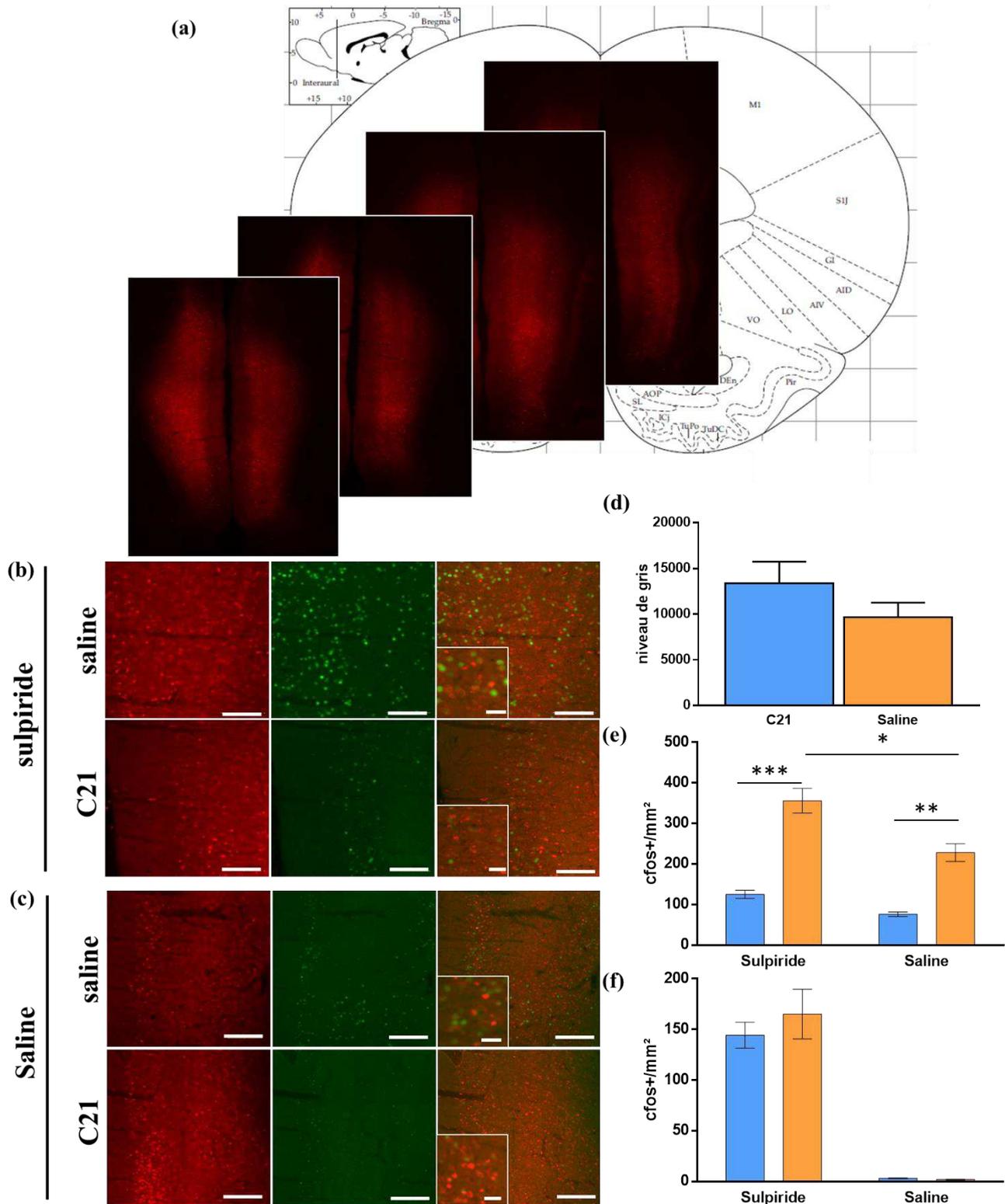


Figure B.19 | L'activation des DREADD inhibiteurs (DREADDi) entraîne une diminution de l'activité dans le CPFm. (a) illustrations sur les quatre coupes analysées du CPFm de l'étendue d'infection par le DREADDi, déterminée par l'expression de la protéine fluorescente mCherry, pour les coupes de +3.6 mm à +2.4 mm par rapport au bregma, selon l'atlas stéréotaxique (Paxinos and Watson, 1998). (b) Illustrations du marquage mCherry (à gauche) et c-fos (au centre) suite à l'injection i.p. de sulpiride en condition contrôle (saline, en haut) et d'activation des DREADDi (C21, en bas). Échelles à 100 μ m, zoom à 50 μ m. (c) Illustrations du marquage mCherry (à gauche) et c-fos (au centre) suite à l'injection i.p. de saline en condition contrôle (saline, en haut) et d'activation des DREADDi (C21, en bas). Échelles à 200 μ m, zoom à 50 μ m. (d) Quantité totale de l'étendue d'infection mCherry, mesurée par le niveau d'intensité lumineuse (niveau de gris/unité de surface) sur les quatre coupes dans le CPFm (\pm SEM, n=6). (e) Comptage des cellules c-fos+/mm² (\pm ESM) dans le CPFm suite à l'activation des DREADDi (C21) et à l'injection de sulpiride. (f) Comptage des cellules c-fos+/mm² (\pm ESM) dans le Striatum suite à l'activation des DREADDi (C21) et à l'injection de sulpiride. **Analyse statistique :** * p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, (n=3).

2) L'inactivation du CPFm perturbe le rappel de la mémoire à court et long terme.

Afin d'évaluer le rôle du CPFm dans le rappel d'une mémoire récente et ancienne, nous avons pharmacologiquement inactivé le CPFm au moment du rappel, 1 ou 30 jours après l'interaction.

• Contrôle de l'étendue d'infection

Afin d'exclure la possibilité que les effets observés soient liés à une variabilité dans l'infection de la construction DREADDi, nous avons comparé l'étendue d'infection totale pour les deux groupes, aux deux délais de test (figure B.20). Une ANOVA à deux facteurs (injection et délai) ne révèle ni d'effet du délai ($F_{(1,43)} = 0.7261$; $P = 0.3989$), ni d'effet de l'injection ($F_{(1,43)} = 2.718$; $P = 0.1065$), ni d'interaction délai x injection ($F_{(1,43)} = 0.06711$; $P = 0.7968$). Ces résultats permettent d'affirmer que les CPFm sont infectés de façon homogène entre les groupes. Aucun animal n'a été exclu de l'analyse.

• Absence d'effet de l'agoniste DREADDi sur le rappel de la TSPA

Afin d'exclure des effets de l'agoniste C21 sur le rappel dans notre tâche comportementale, nous avons testé l'impact du C21 seul (sans infection du CPFm avec les DREADDi). Lors de l'analyse des résultats des groupes ayant uniquement reçu une injection i.p. sans infection DREADDi au préalable (figure B.21), un test de Mann-Whitney ne révèle aucune différence de pourcentage de nourriture aromatisée au cumin consommée (M-W, $U = 59.00$, $n_1 = 11$, $n_2 = 12$, $p = 0.6815$), ni sur la quantité totale de nourriture consommée (M-W, $U = 63.00$, $n_1 = 11$, $n_2 = 12$, $p = 0.8664$) indiquant que l'injection de C21 n'a aucun effet seul sur les capacités de l'animal à rappeler une information. Cette molécule peut donc être utilisée dans le cadre du TSPA.

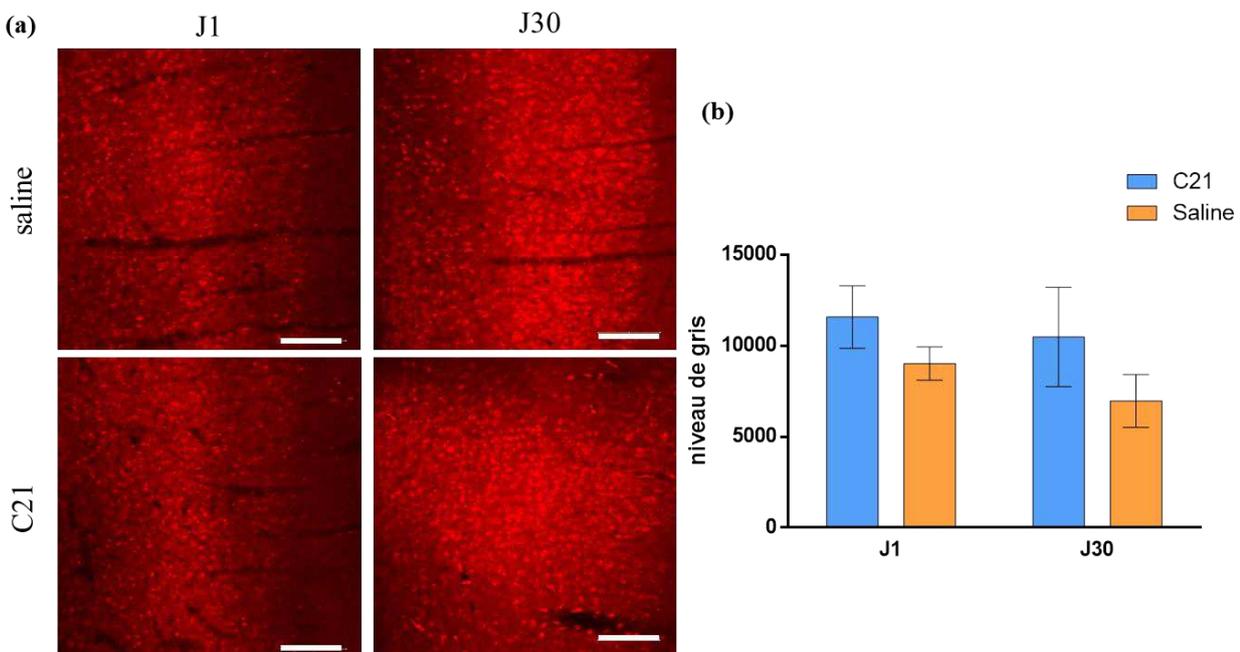


Figure B.20 | Validation de la zone d'infection par les DREADDi. (a) Illustration du marquage mCherry dans le CPFm pour la condition saline (en haut) et C21 (en bas), lors du test de préférence alimentaire 1 jour (J1) ou 30 jours (J30) après l'interaction. Échelles à 200 μ m. (b) Mesure du niveau d'intensité lumineuse (niveau de gris) de mCherry (\pm ESM) sur les quatre coupes, permettant de mesurer l'étendue d'infection dans le CPFm, à J1 ou (c) à J30.

- L'inactivation du CPFm perturbe le rappel d'un souvenir récent

Pour l'analyse des résultats comportementaux suite au rappel d'une mémoire récente, nous avons regroupé les quatre animaux du groupe PAI pour chaque délai, car il n'y avait pas de différence dans la quantité de nourriture aromatisée au cumin consommée (figure B.22.a et .b). Les PAI sont indiqués sur le graphique mais n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques, seuls les groupes expérimentaux ont été analysés. Un *t-test* non apparié révèle une différence significative entre les groupes C21 et saline (*t-test*, $t_{(18)}=2.638$, $p=0.0167$). Les animaux du groupe C21 ont statistiquement moins mangé de nourriture aromatisée au cumin que le groupe contrôle saline (C21 : 25.65 ± 10.32 ; saline : 63.63 ± 10.04 ; PAI : 16.35 ± 8.88). Lors de l'analyse de la nourriture totale consommée, un *t-test* non apparié ne révèle aucune différence significative entre les groupes C21 et saline (*t-test*, $t_{(18)}=0.2703$, $p=0.79$).

Pour vérifier que la perturbation à J1 est bien liée à l'activation des DREADDi dans le CPFm, nous avons réalisé, une semaine après le rappel à court terme, une seconde interaction avec des démonstrateurs ayant consommé de la nourriture aromatisée au cacao. Nous avons ensuite testé la préférence alimentaire des rats un jour après l'interaction, sans injection de l'agoniste C21 (figure B.22.c et .d). Un *t-test* non apparié ne révèle aucune différence significative entre les groupes C21 et saline, que ce soit pour la quantité de nourriture aromatisée au cacao consommée (*t-test*, $t_{(18)}=0.9874$, $p=0.3365$), ou pour la quantité totale de nourriture mangée (*t-test*, $t_{(18)}=0.7051$, $p=0.4898$). Les animaux du groupe C21, dont le premier rappel a été perturbé par l'activation des DREADDi dans le CPFm, ont mangé autant de nourriture aromatisée au cacao que le groupe saline (C21 : 77.99 ± 6.675 ; saline : 66.77 ± 9.198). Cela démontre que les DREADDi et le C21 n'ont pas d'effet durable sur l'activité des neurones, et que les rats précédemment perturbés par l'injection du C21, ont toujours la capacité à apprendre, à stocker et à rappeler une information lorsque l'agoniste du DREADDi n'est pas présent.

- L'inactivation du CPFm perturbe le rappel d'un souvenir ancien

Pour l'analyse des résultats comportementaux suite au rappel d'une mémoire récente, nous

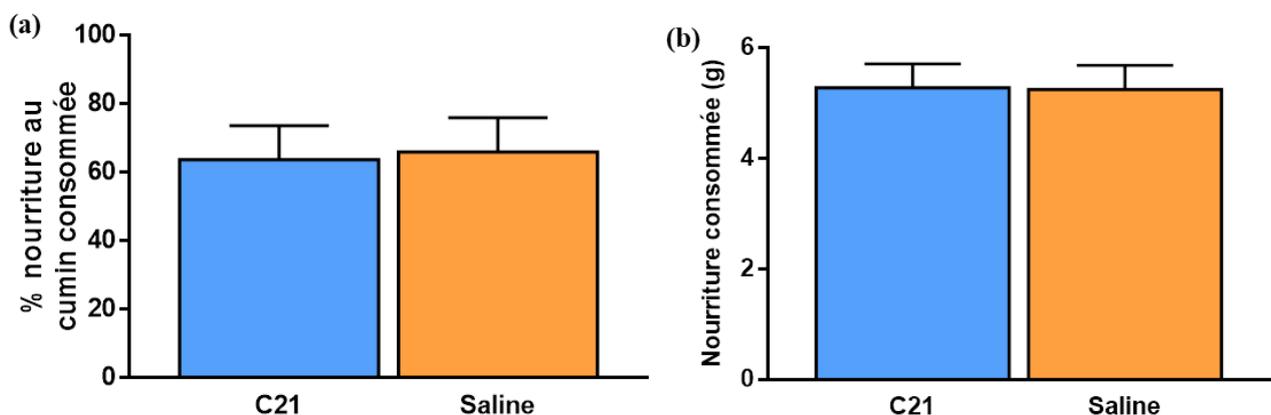


Figure B.21 | Le C21 *per se* n'a pas d'effet sur le rappel d'une mémoire récente de la TSPA. (a) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM) lors du test de préférence alimentaire 1 jour après l'interaction, pour le groupe sans DREADDi, suite à l'injection de C21, permettant de montrer la molécule n'a pas d'effet *per se* sur la capacité d'encoder, de stocker ou de rappeler une information. (b) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). **Analyse statistique :** $n=11$ à 12).

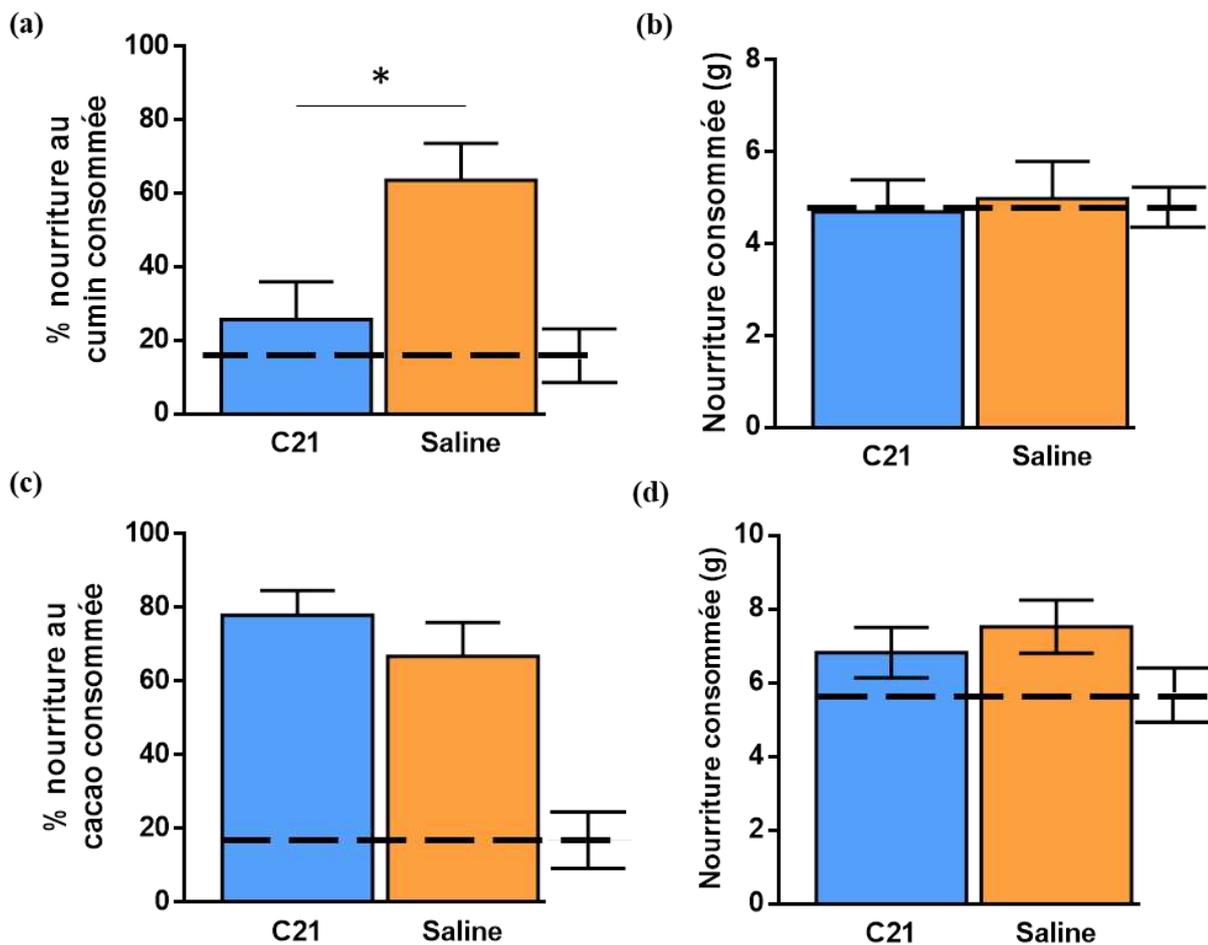


Figure B.22 | L'inactivation du CPFm par les DREADDi perturbe le rappel d'une mémoire récente de la TSPA. Le groupe témoin ayant eu une simple interaction sans apprentissage d'odeur (PAI – regroupement des groupes PAI C21 et PAI saline) est représenté en pointillé. **(a)** Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cummin consommée (\pm ESM) lors du test de préférence alimentaire 1 jour après l'interaction. Pour les groupes expérimentaux : en condition contrôle (saline) ou suite à l'activation des DREADDi (C21) dans le CPFm. **(b)** Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). **(c)** Pourcentage de nourriture au cacao consommée (\pm ESM) lors du test de préférence alimentaire 1 jour après l'interaction, sans activation des DREADDi, permettant de montrer le groupe C21 n'a pas perdu sa capacité d'encoder, de stocker ou de rappeler une information. **(d)** Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). **Analyse statistique :** * $p < 0,05$, $n = 11$ à 12 .

avons regroupé les quatre animaux du groupe PAI pour chaque délai car il n'y avait pas de différence significative de la quantité de nourriture aromatisée au cummin consommée (figure B.23.a et .b). Les PAI ont été indiqués sur le graphique mais n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques, seuls les groupes expérimentaux ayant été analysés. Un *t-test* non apparié révèle une différence significative entre les groupes C21 et saline (*t-test*, $t_{(17)} = 3.290$, $p = 0.0043$). Les animaux du groupe C21 ont statistiquement moins mangé de nourriture aromatisée au cummin que le groupe contrôle saline (C21 : 26.6 ± 5.842 ; saline : 59.95 ± 8.5 ; PAI : 9.08 ± 9.08). Lors de l'analyse de la nourriture totale consommée, un *t-test* non apparié ne révèle aucune différence significative entre les groupes C21 et saline (*t-test*, $t_{(17)} = 1.032$, $p = 0.3167$).

Afin de vérifier que notre effet est toujours visible lors d'une comparaison entre les délais, nous avons analysé l'ensemble des données à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs (groupe et délai), qui révèle un effet de l'injection du C21 sur les performances mnésiques ($F_{(2,40)} = 12.61$; $P < 0.0001$), mais pas d'effet du délai du rappel (récent versus ancien ; $F_{(1,40)} = 0.1414$; $P = 0.7089$), ni d'interaction entre l'injection x le délai du rappel ($F_{(2,40)} = 0.07326$; $P = 0.9295$). L'ensemble de ces

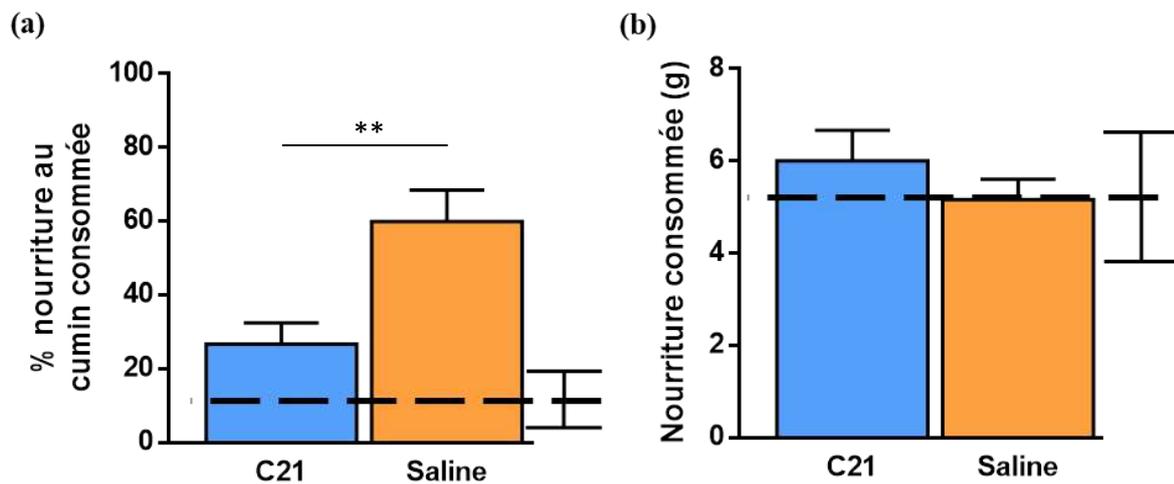


Figure B.23 | L'inactivation du CPFm par les DREADDi perturbe le rappel d'une mémoire ancienne de la TSPA. (a) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM) lors du test de préférence alimentaire 30 jours après l'interaction. Pour les groupes expérimentaux : en condition contrôle (saline) ou suite à l'activation des DREADDi (C21) dans le CPFm, et pour le groupe témoin ayant eu une simple interaction sans apprentissage d'odeur (PAI – regroupement des groupes PAI C21 et PAI saline) est représenté en pointillé. (b) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). **Analyse statistique :** ** $p < 0,01$, $n = 9$ à 10).

resultats suggère que l'inactivation du CPFm bloque à la fois le rappel à court et à long terme, contrairement à celle du COF qui ne bloque que le rappel à long terme.

III.c – Conclusions

Après avoir validé notre étendue d'infection, nous avons montré que l'inactivation pharmacogénétique du CPFm lors du rappel dans la tâche de TSPA perturbe le rappel d'une mémoire associative olfactive récente et ancienne, démontrant l'implication fonctionnelle du CPFm dans le rappel mnésique. Contrairement au COF, le CPFm pourrait agir précocement dans le processus de consolidation systémique, puisqu'il est engagé très rapidement dans le rappel de la mémoire.

IV. Implication du cortex préfrontal médian dans l'encodage d'une mémoire olfactive associative

Parce que le CPFm est engagé précocement lors du rappel, nous allons évaluer l'impact de l'inactivation du CPFm lors de l'encodage. Nous avons utilisé la même approche pharmacogénétique que précédemment.

IV.a – Matériels et méthodes

1) Groupes et plan expérimental

En accord avec la règle des 3R visant à réduire le nombre d'animaux dans les expérimentations, cette expérience a été menée sur les animaux de la partie précédente, ayant eu un test de préférence pour la paire cumin/thym 30 jours après l'interaction. Les animaux des groupes C21 lors de la première interaction vont cette fois-ci recevoir une injection de solution saline, et inversement. Cinq jours après la fin du test à J30, les rats sont de nouveaux soumis à une tâche de TSPA, et interagissent avec un démonstrateur ayant consommé du cacao. Trente minutes avant

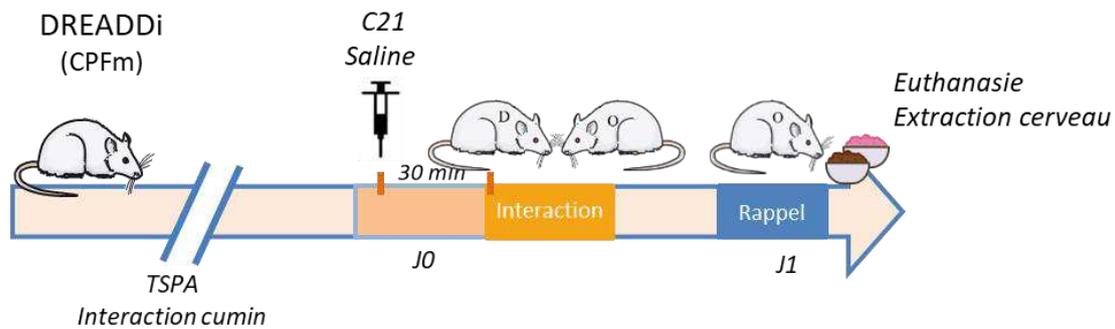


Figure B.24 | Plan expérimental de l'expérience 4.

l'interaction, les animaux reçoivent une injection i.p. de C21 (ou de saline). La préférence alimentaire des animaux a ensuite été testée 1 jour après l'interaction. L'expérience s'est déroulée selon le plan expérimental décrit en figure B.24.

Suite au test de préférence alimentaire, les animaux sont euthanasiés par perfusion intracardiaque de PFA afin de pouvoir effectuer des contrôles histologiques. Le reste du protocole (perfusions, coupe des cerveaux et stockage des tranches) est identique à celui décrit dans la section I.a.3 et .4 de la partie A (p.75-76). Les animaux ont donc été répartis en 4 groupes dont les effectifs sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	DREADDi	
	C21	Saline
EXP	n=8	n=9
PAI	n=2	n=2

Tableau présentant les effectifs de l'expérience 3.

2) Analyses

Les résultats comportementaux sont exprimés en pourcentage de nourriture au cumin consommée et en quantité totale de nourriture consommée (\pm ESM pour chaque moyenne exprimée). Il a été possible de regrouper les groupes PAI de la condition C21 et saline car les quatre animaux ont consommé une quantité de nourriture aromatisée au cumin similaire entre eux, et surtout semblables aux moyennes obtenues habituellement dans les groupes PAI lors des tests de préférence alimentaire de notre équipe. Les groupes ont été comparés à l'aide d'un *t-test* non apparié, aux deux délais de rappel. Les PAI n'ont cependant pas été inclus dans les analyses statistiques, en raison de leur faible effectif. Lors du rappel, l'un des animaux n'a pas touché à l'un de ses ramequins. Cela suggère que l'animal ne l'a pas visité, et donc qu'il n'a pas pu faire un choix entre les deux nourritures aromatisées. Cet animal a donc été exclu des analyses. Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% ($p < 0.05$) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

IV.b – Résultats

Lors de l'analyse des résultats comportementaux suite au rappel d'une mémoire récente, nous avons regroupé les quatre animaux du groupe PAI pour chaque condition car il n'y avait pas de différence dans la quantité de nourriture aromatisée au cacao consommée (figure B.25.a). Les PAI

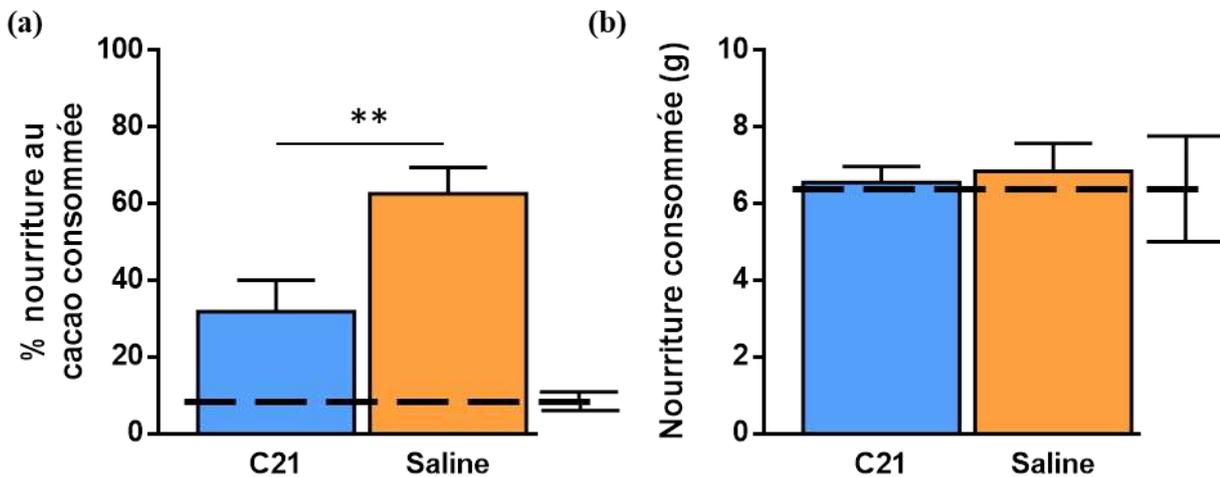


Figure B.25 | L'inactivation du CPFm par les DREADDi au moment de l'encodage perturbe le rappel d'une mémoire récente de la TSPA. (a) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cumin consommée (\pm ESM) lors du test de préférence alimentaire 1 jour après l'interaction. Pour les groupes expérimentaux : en condition contrôle (saline) ou suite à l'activation des DREADDi (C21) dans le CPFm, et pour le groupe témoin ayant eu une simple interaction sans apprentissage d'odeur (PAI – regroupement des groupes PAI C21 et PAI saline). **(b)** Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). **Analyse statistique :** ** $p < 0,01$, $n = 9$ à 10).

ont été indiqués sur le graphique mais n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques, seuls les groupes expérimentaux ont été analysés. Un *t*-test non apparié révèle une différence significative entre les groupes C21 et saline pour la quantité de nourriture aromatisée au cumin consommée (*t*-test, $t_{(17)} = 2.902$, $p = 0.0099$). Les animaux du groupe C21 ont statistiquement moins mangé de nourriture aromatisée au cumin que le groupe contrôle saline (C21 : 31.89 ± 8.143 ; saline : 62.62 ± 6.878 ; PAI : 8.75 ± 4.072). Lors de l'analyse de la nourriture totale consommée (figure B.25.b), un *t*-test non apparié ne révèle aucune différence significative entre les groupes C21 et saline (*t*-test, $t_{(17)} = 0.3453$, $p = 0.7341$). Ainsi, nous démontrons que l'activité du CPFm lors de l'encodage est nécessaire pour le rappel à court terme.

IV.c – Conclusions

Dans cette expérience, nous avons pu mettre en évidence l'importance de l'intégrité du CPFm lors de l'encodage, pour permettre le rappel d'une information récente. En effet, une inactivation des neurones infectés par les DREADDi 30 min avant l'interaction sociale empêche l'inversion de la préférence alimentaire lors du test de préférence 1 jour après l'interaction. Toutefois ces données sont à prendre avec précaution : nous ne pouvons pas exclure que le C21, injecté lors de l'encodage, ne soit pas toujours présent au moment du rappel, même si d'après une étude portant sur les propriétés et la cinétique du C21 (Thompson et al., 2018), cela est peu probable. De plus nous ne pouvons pas exclure que, comme le COF, le CPFm soit étiqueté lors de l'interaction et que le processus de consolidation tel qu'il a été mis en évidence pour le COF (Lesburgueres et al., 2011) soit plus rapide pour le CPFm (<24h).

C. Discussion

En accord avec les résultats de notre laboratoire ainsi que d'autres équipes ([Lesburgueres et al., 2011](#); [Ross and Eichenbaum, 2006](#)), nous avons démontré que le rappel d'une mémoire associative olfactive était associé à une augmentation de l'activité dans l'HPC, uniquement lors du rappel à court terme. Si ces données sur la globalité l'HPC sont en accord avec le désengagement hippocampique décrit dans le modèle de la consolidation ([Alvarez and Squire, 1994](#); [Squire and Alvarez, 1995](#)), l'analyse des sous-régions de l'HPC révèle quelques différences. En effet, comme [Lesburgueres et al., \(2011\)](#), nous mettons en évidence une augmentation globale de l'activité de l'HPC dorsal, mais notre étude semble pointer plus spécifiquement la partie CA2 de l'HPC dorsal, dont le rôle dans la mémoire sociale a été bien décrit ([Hitti and Siegelbaum, 2014](#); [Stevenson and Caldwell, 2014](#)). De plus, le groupe d'Eichenbaum indique un rôle prépondérant de l'HPC ventral dans cette tâche de TSPA ([Ross and Eichenbaum, 2006](#)), structure également importante dans la mémoire sociale ([Phillips et al., 2019](#)).

En parallèle de ce désengagement, nos travaux ont mis en évidence que le processus de consolidation d'une mémoire olfactive et associative va se mettre en place au niveau cortical selon une cinétique qui est spécifique de la région corticale concernée. Certains cortex semblent en effet s'engager rapidement et exclusivement au cours de la consolidation, ce qui serait le cas du CCp. Au contraire, d'autres cortex sont recrutés uniquement lors du rappel à long terme d'une information, comme c'est le cas pour le COF, le CCa ou le RétroS. Enfin, le CPFm fait figure d'exception car il est engagé à la fois à court et à long terme. A notre connaissance, il n'existe pas dans la littérature scientifique d'étude similaire pour la mémoire associative olfactive. Une étude publiée très récemment a pointé le rôle du CPFm dans le rappel à court terme dans une tâche de TSPA chez la souris, mais n'apporte aucune information sur son rôle dans le rappel à long terme ([Loureiro et al., 2019](#)). Toutefois des profils d'activations similaires ont notamment été mis en évidence dans d'autres types de mémoire, comme la mémoire spatiale ([Bontempi et al., 1999](#); [Maviel et al., 2004](#)) ou lors de l'apprentissage par un conditionnement de peur au contexte ([Wheeler et al., 2013](#)). Ces résultats suggèrent que ces cortex pourraient jouer un rôle essentiel dans le processus de consolidation mnésique.

Cette connectivité fonctionnelle entre les structures corticales dans le cadre du rappel d'une information a été parfaitement illustrée par le groupe de Frankland, qui a analysé l'activité de plus de 84 régions corticales ou sous-corticales, dans le cadre du rappel d'un conditionnement de peur au contexte. Cette équipe a démontré que la connectivité entre le CPFm, le CCa et l'IL joue un rôle essentiel dans le rappel à long terme de la mémoire ([Wheeler et al., 2013](#)), même si dans cette étude, aucune connectivité dans un groupe contrôle n'a été réalisée. Par une approche similaire à [Wheeler et al., \(2013\)](#), nos travaux sur l'évolution de la connectivité, ciblé sur le cortex frontal, nous a permis de mettre en évidence un lien anatomique et fonctionnel entre le CPFm et le COF. Nous avons pu démontrer que ce lien fonctionnel s'établit dès le rappel à court terme, alors qu'il est inexistant dans nos conditions contrôles. De plus, ce lien semble se renforcer au cours du processus de consolidation. Une analyse complémentaire sur des rats ayant subi un rappel à

moyen terme (J7 ou J15) pourraient confirmer le lien entre la force de cette connectivité et l'état de consolidation ou de corticalisation de la trace. Nos observations appuient les résultats du groupe de Susumu Tonegawa, qui a clairement montré la nécessité de la mise en place d'une connectivité fonctionnelle entre les réseaux sous-tendant la trace mnésique du GD et du cortex entorhinal, pour rappeler une information (Ryan et al., 2015). La mise en place de cette connectivité entre les réseaux va nécessiter des changements fonctionnels et structuraux rapides (Ryan et al., 2015). Dans le cadre du TSPA, des changements structuraux similaires ont été mis en évidence dans le COF dans les premières 24h qui suivent l'interaction sociale et perdurent au moins 30 jours suite à l'interaction (Lesburgueres et al., 2011). Ces changements structuraux fournissent les bases moléculaires nécessaires à la mise en place d'une connectivité fonctionnelle entre le CPFm et le COF. Cette connectivité fonctionnelle cortico-corticale pourrait être nécessaire à la maturation de la trace mnésique, puisque le blocage pharmacologique de l'activité du COF pendant 1 à 15 jours ou 15 à 30 jours altèrent le rappel à long terme (Lesburgueres et al., 2011).

Le CPFm pourrait avoir un rôle clé dans la mise en place du processus de consolidation mnésique, puisque nous avons montré son implication dans le rappel à court terme, confirmant les résultats de l'équipe de Christian Lüscher (Loureiro et al., 2019), ainsi que son rôle dans le rappel à long terme. Les projections entre CPFm, le NAc (région impliquée dans le circuit de récompense) et le cortex piriforme (impliqué dans le traitement des modalités olfactives) ont fait l'objet d'une étude approfondie et sont également essentielles pour le stockage et le rappel du souvenir associatif à court terme (Loureiro et al., 2019). L'étude du rôle du CPFm lors de l'interaction montre que son activité est nécessaire pour l'encodage de l'information associative. Toutefois, nos résultats ne permettent pas de déterminer si les troubles observés sont liées à une perturbation de l'étiquetage neuronal cortical, qui affecterait alors uniquement le rappel comme cela a été observé pour le COF (Lesburgueres et al., 2011). Nous ne pouvons pas non plus exclure que le CPFm soit indispensable à l'acquisition même d'une information aussi complexe que celle encodée au cours d'une interaction sociale. En effet, le CPFm joue un rôle essentiel dans l'apprentissage des associations entre les informations entrantes (contextes, lieux, événements, etc.) et les réponses adaptatives correspondantes (pour revue, voir Euston et al., 2012). Pour résoudre ce problème, la manipulation de l'activité neuronale par une approche optogénétique, qui permettrait de contrôler temporellement l'inactivation, pourrait permettre de discriminer si les perturbations que nous observons sont dues à une perturbation de l'étiquetage des neurones du mCPF, ou bien si l'intégrité de cette structure est nécessaire à l'encodage.

Malgré cette incertitude, il a été établi sans ambiguïté que le CPFm reçoit des connexions monosynaptiques de l'HPC (Jay and Witter, 1991; Thierry et al., 2000) et des études ont montré qu'il pouvait être fonctionnellement connecté à cette structure (Comeau et al., 2010; Maharjan et al., 2018; Rajasethupathy et al., 2015). Plus récemment, il a été démontré, par une approche électrophysiologique, qu'une synchronisation de l'activité entre l'HPC et le CPFm est indispensable pour la consolidation mnésique d'un apprentissage spatial (Benchenane et al., 2010). Cela suggère que le CPFm pourrait être l'un des principaux acteurs pour orchestrer les changements corticaux commandés par l'HPC. Ainsi, la cinétique de prise en charge de la trace mnésique par les cortex

serait davantage dépendante du nombre d'intermédiaires entre l'HPC et la structure corticale, offrant une version modifiée de la « théorie unifiée » de la consolidation ([Dash et al., 2004](#); [Runyan et al., 2019](#)), qui explique ces différences de cinétique uniquement par la longueur des connexions. Nos données obtenues sur le CCa, le CCp et le RétroS vont dans ce sens. En effet, le CCp, qui est recruté précocement dans le rappel d'une information, est anatomiquement davantage relié au lobe temporal médian et notamment à la formation hippocampique que le CCa. Le CCp serait également fortement connecté à la fois avec le CCa et avec le RétroS, qui eux sont impliqués dans le rappel d'une mémoire ancienne. Le CCp pourrait alors être un relai au cours de la consolidation de l'information dans ces deux structures.

Ainsi pris dans leur ensemble, nos travaux, confrontés à ceux de la littérature, pointent le rôle essentiel du CPFm dans le processus de consolidation mnésique. Sa position anatomique privilégiée par rapport à l'HPC, et par sa grande connectivité avec d'autres structures impliquées dans les processus mnésiques associatifs, confère au CPFm un rôle central dans la consolidation. Il serait l'intermédiaire entre l'HPC et les autres structures corticales dans les phases précoces de la consolidation, pour ensuite orchestrer la maturation de la trace corticale dans les phases plus tardives. Afin d'approfondir les connaissances sur son rôle, la manipulation spécifique de l'activité des connexions uniquement reliées au COF, par des méthodes similaires à celles décrites par [Loureiro et al., 2019](#), permettrait de mieux comprendre le rôle de la connexion CPFm → COF dans la consolidation d'une mémoire associative olfactive et d'apporter ainsi un éclairage nouveau sur le processus de consolidation systémique.

Partie C : Nouvelle méthode de discrimination basée sur la vitesse d'apprentissage chez la souris



Sean A. Edlin

A. Introduction

Au cours du vieillissement, la plupart de nos aptitudes physiques et cognitives se dégradent. Cependant, bien qu'apparaissant chez des individus sains, ces perturbations de nos aptitudes cognitives et notamment de nos performances mnésiques, sont notables dans notre quotidien. Ces perturbations « normales » des capacités à se souvenir de certaines informations sont considérées comme des « troubles de la mémoire associées à l'âge » (Crook et al., 1986). Si les différents types de mémoire ne subissent pas les mêmes degrés de perturbation au cours du vieillissement normal, il a été montré que la mémorisation des informations spatiales est particulièrement perturbée chez les sujets âgés sains, comparés aux sujets jeunes (Newman and Kaszniak, 2000; Wilkniss et al., 1997).

Parce que les processus du vieillissement se mettent en place chez quasiment tous les mammifères (Bartus and Dean, 1985), les mécanismes biologiques sous-tendant ces perturbations ont été étudiés dans de nombreux modèles allant du rongeur jusqu'au primate. Si le modèle primate, en raison de sa similarité avec l'Homme, est particulièrement pertinent pour l'étude du vieillissement cognitif (pour revue, Crook et al., 1986), les modèles rongeurs se sont également révélés adaptés à l'étude des troubles de la mémoire spatiale associée à l'âge (pour revue, Gallagher and Rapp, 1997; Markowska et al., 1989), notamment en raison de l'espérance de vie chez ces modèles, rendant l'accès à des populations âgées plus rapide et moins onéreux (20-24 mois chez le rongeur, contre plusieurs années chez le primate). Comme décrit chez l'homme, le processus de vieillissement chez la souris n'affecte pas les individus avec la même intensité. Des études montrent en effet une perturbation de la mémoire spatiale chez les animaux âgés, alors que d'autres démontrent au contraire des performances similaires aux sujets jeunes (Drapeau et al., 2007; Gage et al., 1988; Gallagher et al., 1993; Markowska et al., 1989). Si certains auteurs dénoncent une variabilité dans les méthodologies utilisées (Miller and Weissert, 2003), d'autres mettent en exergue une variabilité interindividuelle qu'on retrouve tant chez l'Homme que chez l'animal (Drapeau et al., 2007; Dykiert et al., 2012; Gage et al., 1988; Lund et al., 2004). Les performances chez les sujets âgés ne seraient ainsi pas toutes perturbées, ou pas de la même façon d'un individu à l'autre ni selon le type de tâche (Gage et al., 1988; Reagh et al., 2016). Ainsi l'objectif de notre étude est de caractériser les performances cognitives d'une large cohorte de souris âgées en utilisant un apprentissage spatial complexe dans un labyrinthe radiaire à 8 bras. L'analyse de ces courbes d'apprentissage devrait nous permettre d'identifier de nouveaux paramètres pour caractériser les déclinés des souris âgées et vérifier l'existence d'une variabilité interindividuelle dans cette population de souris âgées.

B. Contributions expérimentales

I. Matériels et méthodes

I.a - Sujets et conditions d'élevage

L'expérience a été réalisée sur des souris C57BL/6 mâles adultes âgés de 6 à 22 mois, provenant du centre d'élevage Janvier (Le Genest-St-Isle). Cette étude a été réalisée sur des animaux dans le cadre d'une étude plus large sur les effets des ondes électromagnétiques de basse fréquence sur le cerveau. Aucun effet significatif n'a été mis en évidence dans cette étude. Par souci de valoriser au maximum l'utilisation des animaux de cette large population de souris, nous avons étudié les différences interindividuelles dans cette cohorte. À leur arrivée au laboratoire, les animaux ont été placés en cages collectives (5 souris par cage) et ont disposé de nourriture et d'eau *ad libitum* dans une animalerie climatisée (22-23°C) équipée d'un cycle artificiel lumière-obscurité de 12 heures (7h00-19h00). Les animaux ont été reçus 3 mois avant leur test. Une semaine avant le début des expériences, les souris sont isolées et manipulées tous les jours pendant environ 3 minutes. Les animaux ont été placés dans le labyrinthe radiaire pendant 2 fois 10 minutes. Une semaine après avoir été isolées, les souris ont été soumises à une privation alimentaire afin de leur faire attendre 85-90% de leur poids initial. L'ensemble des protocoles expérimentaux a débuté après l'habituation, et a eu lieu pendant la phase éclairée du cycle jour-nuit. Toutes les expériences ont été réalisées en accord avec les Directives européennes sur les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire (2010/63/UE) et un ensemble de procédures validé par le comité d'éthique local (N° de saisine A50120159).

I.b - Labyrinthe radiaire à huit bras

Les souris ont été soumises à une tâche d'apprentissage dans un labyrinthe radiaire automatisé à huit bras pendant dix jours (deux jours d'habituation puis huit jours de test), période pendant laquelle la privation alimentaire a été maintenue. Chaque bras du labyrinthe fait 62 cm de long et 12 cm de large. Ils sont reliés à une plateforme centrale de 32 cm de diamètre (figure C.1). À l'entrée de chaque bras, il y a une porte automatique qui se referme lorsque la souris passe. Le cheminement des souris est enregistré à l'aide du système Imetronic (Pessac, France).

Pour les essais dans le labyrinthe radiaire, des pellettes ont été utilisées comme récompenses (Dustless Precision Pellets, BioServ, France). Deux jours d'habituation à l'équipement sont réalisés. Lors du premier jour, la souris peuvent visiter librement les bras qui sont tous appâtés au milieu et à leur extrémité. Pour forcer la souris à visiter la totalité du labyrinthe, les portes des bras visités se ferment progressivement jusqu'à ce qu'elle visite tous les bras. Lors du deuxième jour, les souris peuvent explorer librement (toutes les portes ouvertes) tous les bras, appâtés avec une récompense uniquement à leur extrémité. Après les deux jours d'habituation, les souris en privation alimentaire sont soumises à l'apprentissage de la tâche spatiale. Trois bras sur huit (toujours les mêmes pour un animal donné) sont appâtés avec les pellettes (figure C.1). Chaque

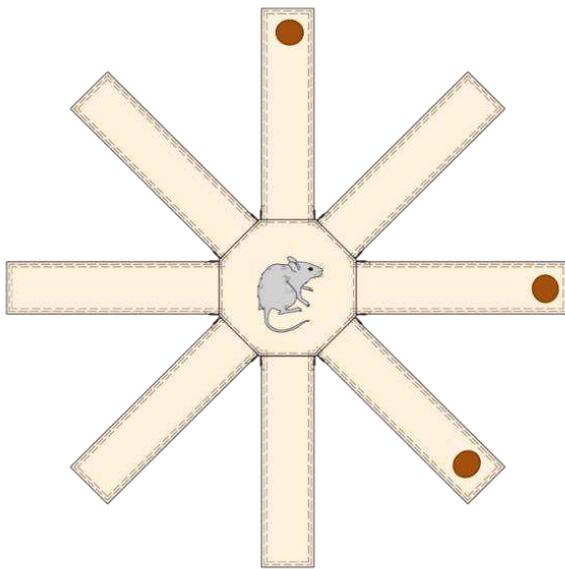


Figure C.1 | Schéma du labyrinthe radial à 8 bras, présentant un exemple des bras appâtés (ronds marron) selon le pattern 45-90-125 degrés.

souris a un ensemble différent de bras appâtés, mais les positions des bras appâtés sont toujours 45-90-125 degrés (par exemple, les bras 1,2 et 4, ou 2,3 et 5, ou 3,4 et 6, etc.).

I.c - Groupes et plan expérimental

Les souris ont été testées pour l'acquisition d'une mémoire de référence sur 8 sessions, séparées d'une journée de repos. Chaque session était composée de 6 essais (intervalle de 1 minute entre les essais). Chaque essai commençait par l'ouverture simultanée des 8 portes. Après chaque visite dans un bras et lorsque l'animal est à nouveau au centre de la plateforme, l'ensemble des portes se referme pendant un délai de 4 sec. Cette précaution est prise pour éviter une stratégie de balayage dans l'exploration de labyrinthe. Ensuite, l'ensemble des portes s'ouvre à nouveau. Chaque essai se termine lorsque l'animal retrouve les trois appâts et retourne dans la plateforme centrale. La visite d'un bras non appâté, ou une seconde visite dans un bras appâté sont comptabilisés comme une erreur. Les animaux sont divisés en deux groupes, un premier groupe de souris jeunes âgées de 4-6 mois (n=18), et un deuxième groupe avec un nombre important de souris âgés de 17 à 22 mois (n=111).

I.d - Analyses

Le nombre total d'erreurs (i.e. le nombre de visites d'un bras non appâté, ou de visites répétées dans un bras appâté) est comptabilisé pour chaque essai, et une moyenne est calculée pour les six essais afin d'avoir la moyenne du nombre total d'erreurs par jour (\pm ESM pour chaque moyenne exprimée). Le nombre total d'erreurs est ensuite analysé à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs, le groupe (jeunes vs âgées) et la session (1 vs 2 vs 3 vs 4 vs 5 vs 6 vs 7 vs 8). Les données pour chaque animal ont ensuite été normalisées à 100%. Une fois les données normalisées, nous avons analysé les performances finales des animaux en moyennant les performances des trois dernières sessions. Les animaux dont la moyenne du pourcentage d'erreur sur les trois dernières sessions est supérieure à 62.5% (critère peu restrictif représentant le pourcentage d'erreur que l'animal ferait s'il lui fallait visiter au moins une fois chacun des bras 8 pour finir la tâche) ont été éliminés de notre analyse car nous considérons qu'ils n'ont pas appris la tâche.

L'objectif est ensuite, à l'aide des courbes d'apprentissage obtenues, de mesurer le temps nécessaire à chaque souris pour atteindre la moitié de sa meilleure performance (i.e., la demi-vie de la courbe). C'est cette valeur qui représentera la vitesse d'apprentissage individuelle. Cependant, les courbes ne sont pas toujours linéaires et les animaux peuvent faire plus d'erreurs certains jours que le jour précédent. Nous avons donc décidé d'appliquer une stratégie statistique, permettant de modéliser les courbes d'apprentissage individuelles afin de les homogénéiser, à l'aide d'une méthode de régression non linéaire exponentielle. Ces modélisations ne représentent cependant pas toujours de façon pertinente le profil de la souris. Pour pallier à ce problème, la courbe d'apprentissage réelle normalisée et la courbe modélisée sont comparées à l'aide d'un test de corrélation de Pearson, afin de vérifier que la courbe modélisée représente de façon pertinente la courbe d'apprentissage réelle. Seuls les animaux ayant un coefficient de corrélation supérieur à 0.754492 sont sélectionnés pour les analyses ultérieures. Ainsi, 32 des 58 animaux du groupe âgé et 14 des 18 animaux du groupe jeune ont été sélectionnés. Pour ces animaux, c'est à partir de la demi-vie de la courbe modélisée que la vitesse d'apprentissage est déterminée.

Une fois cette vitesse déterminée, un test de normalité de Shapiro-Wilk révèle que la distribution n'est pas normale pour l'un des groupes. La vitesse d'apprentissage des groupes de souris jeunes et âgées est donc comparée à l'aide d'un test de Mann-Whitney. Lors de l'analyse de la vitesse d'apprentissage, un « *outlier* » (animal ayant des données statistiquement aberrantes) a été détecté dans le groupe de souris âgées, à l'aide d'un test de Grubbs et a été exclu pour la suite des analyses. Le groupe des sujets âgés est ensuite scindé en deux selon la méthode de la médiane (Drapeau et al., 2007; Lemaire et al., 1999; Piazza et al., 1989), afin de séparer le groupe ayant une vitesse d'apprentissage normale en comparaison avec le groupe de souris jeunes, du groupe ayant une vitesse d'apprentissage réduite. La vitesse d'apprentissage des trois groupes est ensuite comparée à l'aide d'un Kruskal-Wallis, et les courbes d'apprentissage normalisées à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs (groupe vs essai). Pour toutes les comparaisons effectuées, un intervalle de confiance de 95% ($p < 0.05$) doit être atteint pour que les différences observées soient considérées comme significatives.

II. Résultats

II.a – Courbes d'apprentissage

La figure C.2.a présente la courbe d'apprentissage des animaux, déterminée par le nombre total d'erreurs. Une ANOVA à deux facteurs (groupe et session) révèle un effet groupe (Jeunes versus âgées ; $F_{(1,127)}=5.99$; $P=0.0158$), un effet session ($F_{(7,889)}=89.71$; $P<0.0001$) ainsi qu'une interaction groupe x session ($F_{(7,889)}=2.726$; $P=0.084$). Les animaux âgés font en moyenne plus d'erreurs que les animaux jeunes à la session 3 (âgées : 4.901 ± 0.2116 ; jeunes : 3.417 ± 0.5184) et 4 (âgées : 3.417 ± 0.5184 ; jeunes : 2.25 ± 0.3201) de l'entraînement. Afin de vérifier qu'il n'y a pas de différence entre les groupes au niveau moteur ou au niveau de la mémoire de travail, et de vérifier que les deux groupes ont bien appris la tâche après les 8 sessions d'entraînement, nous avons

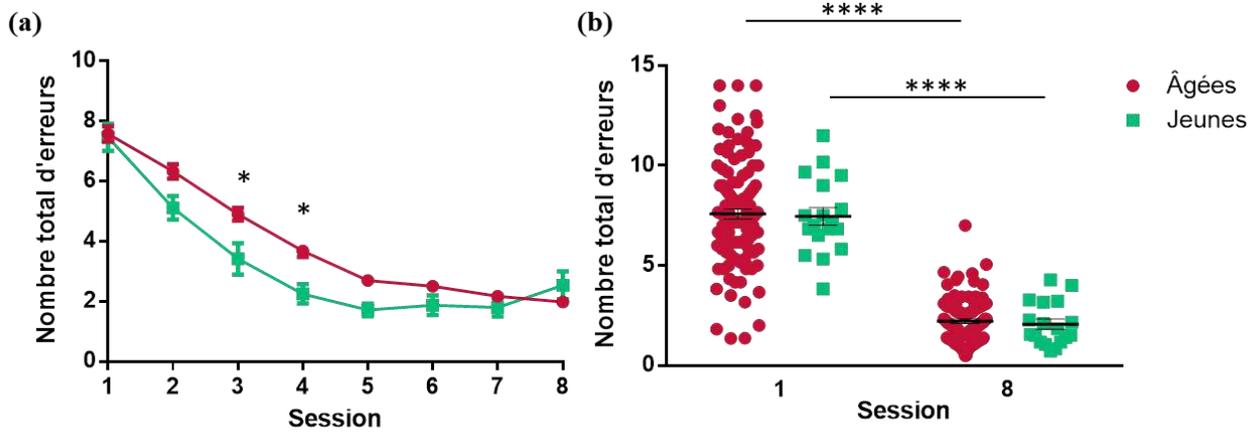


Figure C.2 | Courbes d'apprentissage pour les groupes de souris âgées et jeunes, au cours d'une tâche d'apprentissage spatial dans un labyrinthe radiaire à 8 bras. (a) Les performances mnésiques sont exprimées en moyenne du nombre d'erreurs total (i.e. le nombre de visites d'un bras non appâté et de visites réitérées dans un bras appâté, \pm ESM) sur 6 essais journaliers, pendant les 8 sessions d'entraînement. (b) Nombre d'erreurs total (\pm ESM) à la première et à la dernière session d'entraînement (J7). **Analyse statistique** : * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$, $n = 18$ à 111).

comparé le nombre d'erreurs total entre les deux groupes à la première et à la dernière session. Une ANOVA à deux facteurs (groupe et session) révèle un effet session (session 1 vs session 8 ; $F_{(1,127)} = 242.1$; $P < 0.0001$), mais pas d'effet groupe (Jeunes versus âgées ; $F_{(1,127)} = 0.1276$; $P = 0.7215$) ni d'interaction groupe x session ($F_{(1,127)} = 0.0022$; $P = 0.9625$). Les animaux des groupes jeunes et âgés ont donc des performances similaires aux premières et dernières sessions. Parce que ces deux paramètres sont réunis, les données pour chaque animal ont ensuite été normalisées à 100%, afin de permettre les analyses ultérieures de vitesse d'apprentissage (figure C.3). Une fois les données normalisées, la suite des analyses a été réalisée uniquement sur les animaux qui ont appris la tâche, c'est-à-dire dont la moyenne des erreurs totale (%) des trois derniers essais est inférieure à 62.5%. Ainsi, 9 animaux du groupe de souris âgées (8.1%) et 1 jeune (5.5%) ont été exclus.

II.b – Nouvelle stratégie de discrimination des animaux

Pour définir la vitesse d'apprentissage, nous avons choisi une méthode originale basée sur le temps nécessaire aux animaux pour atteindre la moitié de leur meilleure performance, c'est-à-dire la demi-vie de la courbe d'apprentissage.

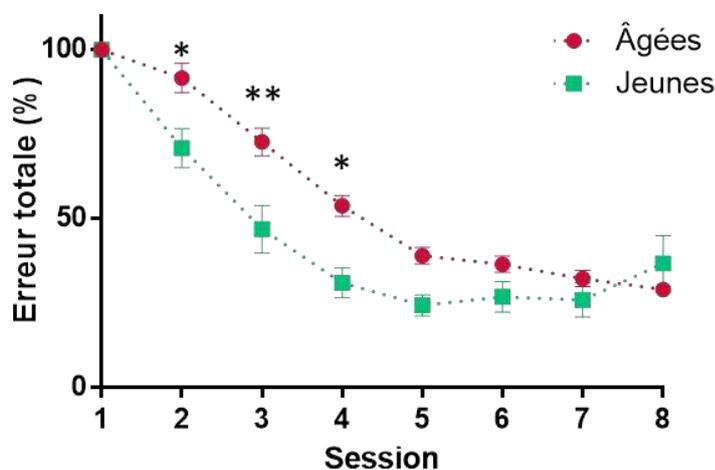


Figure C.3 | Courbes d'apprentissage normalisée pour les groupes de souris âgées et jeunes, au cours d'une tâche d'apprentissage spatial dans un labyrinthe radiaire à 8 bras. Les données pour chaque animal ont été normalisées à 100% pour le premier jour (\pm ESM). **Analyse statistique** : ** $p < 0,01$, $n = 17$ à 102).

1) Modélisation des courbes d'apprentissage

A partir des courbes normalisées, nous avons utilisé un modèle de régression non linéaire exponentielle, afin de modéliser une courbe d'apprentissage homogène pour chaque animal (figure C.4). En effet, pour certaines souris, la courbe n'est pas linéaire, et l'animal peut faire plus d'erreurs à une session donnée qu'aux sessions précédentes, rendant impossible le calcul de la demi-vie de la courbe. Pour chaque courbe modélisée, un test corrélatif permettait d'évaluer si la courbe d'apprentissage modélisée représentait de façon pertinente la courbe d'apprentissage réelle. Dans l'exemple donné figure C.4, l'une des souris a des performances très variables d'une session à l'autre, et la courbe modélisée ne représente donc pas correctement la courbe d'apprentissage réelle (*one-exponential decay*, $R^2=0.2476$). Cet animal a donc été exclu des analyses ultérieures. En revanche, pour l'autre exemple de souris, la courbe modélisée présente une forte corrélation avec la courbe d'apprentissage réelle, traduisant une bonne représentativité de cette dernière (*one-exponential decay*, $R^2=0.8808$). En utilisant cette méthode, 43 animaux du groupe de souris âgées et 3 jeunes ont été exclus de l'analyse de la vitesse car la valeur de cette vitesse est statistiquement erronée (figure C.4.b).

2) La vitesse d'apprentissage

La courbe d'apprentissage modélisée nous permet d'obtenir la vitesse d'apprentissage, représentée par le nombre de session que met l'animal pour atteindre la moitié de ses meilleures performances (figure C.5). Un test de Mann-Whitney révèle une différence significative entre les groupes de souris âgées et jeunes (M-W, $U=220.00$, $u_1=59$, $u_2=14$, $P=0.0060$). Les animaux du groupe « âgées » ont en effet besoin de plus de session pour atteindre la moitié de leurs performances que les souris jeunes (Âgées : 2.736 ± 0.3624 ; Jeunes : 1.039 ± 0.1238).

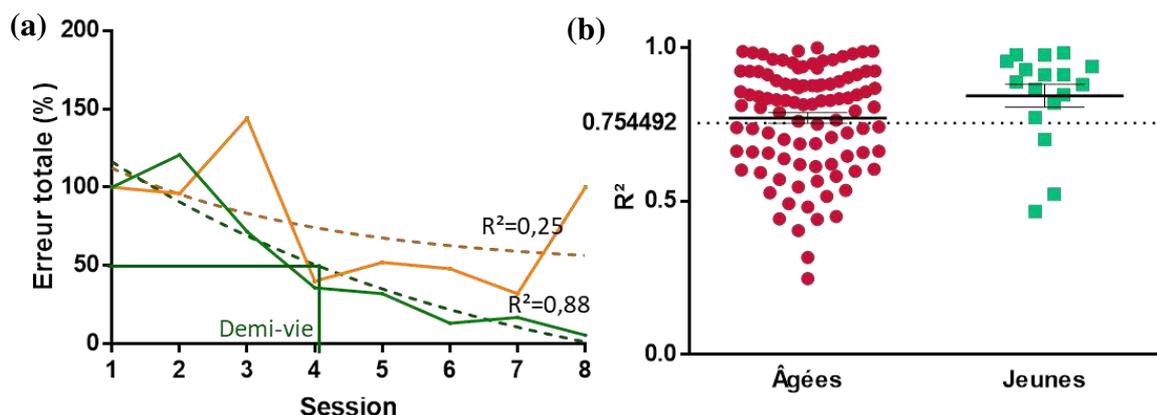


Figure C.4 | Sélection des animaux basée sur la représentativité de la courbe modélisée. (a) Exemples des courbes d'apprentissage individuelle pour deux souris, l'une en orange et l'autre en vert. Les traits pleins représentent leur courbe réelle d'apprentissage, avec lesquelles il est difficile de calculer la vitesse d'apprentissage, dues aux variations dans les performances au cours des sessions. Nous avons alors modélisé pour chaque souris une courbe d'apprentissage avec la méthode de régression non linéaire exponentielle. Un test de corrélation de Pearson permet de vérifier que cette modélisation représente de façon pertinente les courbes d'apprentissage réelles. Selon le critère de sélection ($R^2 > 0.754492$), seul l'animal en vert remplit ce critère et sera sélectionné pour déterminer sa vitesse d'apprentissage. (b) Représentation du R^2 de chaque individus pour les groupes de souris âgées et jeunes.

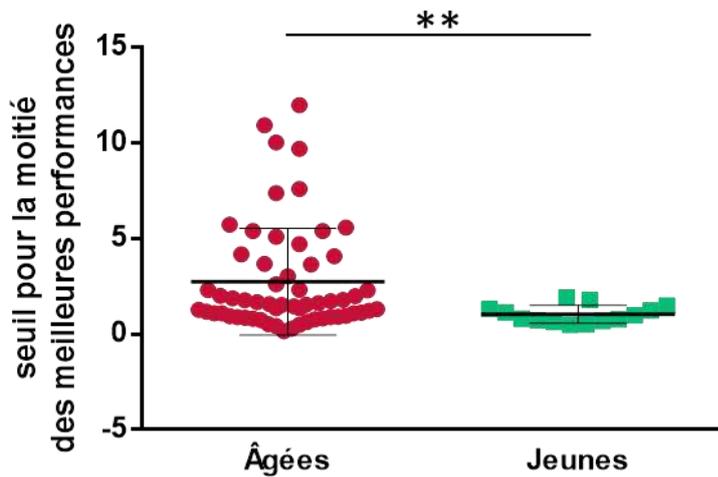


Figure C.5 | Vitesse d'apprentissage en fonction de l'âge des souris (\pm ESM), mesurée en nombre de sessions nécessaire pour atteindre 50% des meilleures performances. Les souris âgées ont besoin de plus de temps pour atteindre ce critère, traduisant une vitesse d'apprentissage réduite en comparaison avec souris jeunes. **Analyse statistique : ** $p < 0,01$, $n = 14$ à 59)**

II.c - Analyse des populations

1) Vitesse d'apprentissage normale et réduite

Il est à noter que les performances de la population des souris âgées sont relativement variables (figure C.5). Cela pourrait traduire une distinction dans cette population entre les animaux âgés avec une vitesse d'apprentissage normale en comparaison avec celle des animaux jeunes, et les animaux âgés ayant une vitesse d'apprentissage réduite. En séparant le groupe des souris âgées selon la méthode de la médiane (Drapeau et al., 2007; Lemaire et al., 1999; Piazza et al., 1989), nous obtenons deux groupes de 29 et 30 animaux, l'un « vitesse normale » (VN) et l'autre « vitesse réduite » (VR). En analysant la vitesse d'apprentissage (figure C.6), un test de Kurskall-Wallis révèle une différence significative entre les groupes (K-W, $\chi^2 = 50.13$, $p < 0.0001$). Si les souris VN ont une vitesse d'apprentissage similaire à celle des souris jeunes (VN : 0.9785 ± 0.0683 ; Jeunes : 1.039 ± 0.1237), celle du groupe VR est significativement inférieure aux deux autres, car le nombre de sessions nécessaires pour atteindre la moitié des meilleures performances est significativement plus élevée (VN : 4.554 ± 0.5624).

2) Courbes d'apprentissage

Une fois les trois groupes formés, nous analysons la courbe d'apprentissage normalisée (figure C.7). Une ANOVA à deux facteurs (groupe et session) révèle un effet groupe ($F_{(2,70)} = 24.97$; $P < 0.0001$), un effet session ($F_{(7,490)} = 376.9$; $P < 0.0001$), ainsi qu'une interaction groupe x session

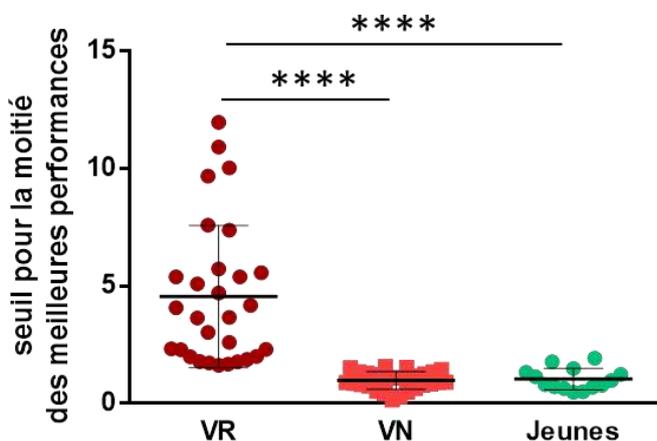


Figure C.6 | Vitesse d'apprentissage en fonction des performances des souris (\pm ESM), en distinguant les souris âgées ayant une vitesse d'apprentissage normale (VN) ou réduite (VR). Les souris du groupe VR ont besoin de plus de temps pour atteindre le critère de 50% des performances, traduisant une vitesse d'apprentissage réduite en comparaison avec souris jeunes. Il n'y a pas de différence entre les jeunes et les VR **Analyse statistique : **** $p < 0,0001$, $n = 14$ à 30)**

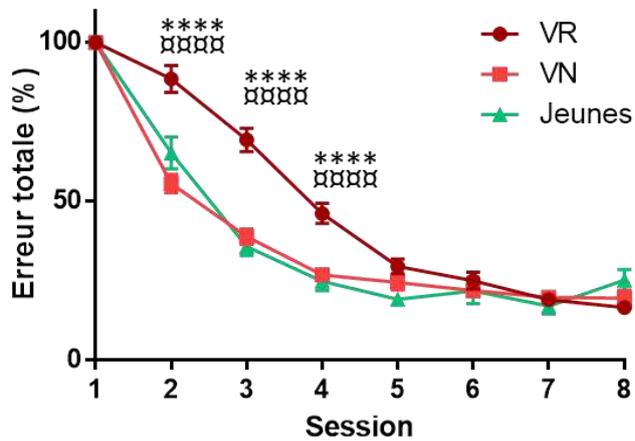


Figure C.7 | La vitesse d'apprentissage permet de discriminer les animaux faisant plus d'erreurs au cours du processus d'apprentissage. Courbes d'apprentissage normalisées pour les groupes de souris âgées VN et VR et le groupe des souris jeunes, au cours d'une tâche d'apprentissage spatial dans un labyrinthe radiaire à 8 bras. Les données pour chaque animal ont été normalisées à 100% pour le premier jour (\pm ESM). **Analyse statistique** : *: comparaison VR avec jeunes, α : comparaison VR avec VN, **** $p < 0,0001$, $n = 14$ à 30).

($F_{(14,490)} = 13.03$; $P < 0.0001$). Les animaux du groupe VR font significativement plus d'erreurs que les groupes VN et jeunes aux sessions 2 (VR : 88.53 ± 5.932 ; VN : 55.61 ± 4.21 ; Jeunes : 65.25 ± 4.99), 3 (VR : 69.33 ± 5.155 ; VN : 38.87 ± 3.865 ; Jeunes : 35.76 ± 2.818) et 4 (VR : 46.2 ± 5.155 ; VN : 26.9 ± 3.865 ; Jeunes : 24.88 ± 2.818). Il n'y a aucune différence entre les groupes VN et jeunes. Une analyse corrélative avec un test de Pearson ne montre pas de corrélation entre la vitesse d'apprentissage chez les souris âgées et les performances finales, c'est-à-dire la moyenne d'erreurs totales (non normalisées) sur les trois derniers essais (test corrélatif de Pearson, $r^2 = 0.010$; $n = 59$; $P = 0.9407$).

C. Discussion

En accord avec les observations faites chez l'Homme, la perturbation des fonctions cognitives, et notamment des fonctions mnésiques, observée lors d'une tâche d'apprentissage spatial dans un labyrinthe radiaire à 8 bras est extrêmement variable d'un individu âgé à l'autre. En se basant sur les performances d'une large population de souris âgées, nous avons pu mettre au point une nouvelle méthode, basée sur des critères statistiques, permettant de mesurer et de catégoriser les animaux selon le critère de vitesse d'apprentissage spatial. Une analyse des courbes d'apprentissage a montré que tous les animaux, sans distinction d'âge, peuvent réussir la tâche et qu'il n'y a plus de différence entre les souris jeunes et âgées lors de la dernière session d'apprentissage. Cependant, une analyse détaillée de nos résultats a permis de mettre en évidence que la vitesse d'apprentissage est perturbée au cours du vieillissement plus que les capacités d'apprentissage en soi. Ces données sont en accord avec les travaux de [Barnes et McNaughton en 1985](#), dans leur comparaison entre des animaux âgés et jeunes dans un apprentissage spatial sur une plateforme circulaire ([Barnes and McNaughton, 1985](#)). Un des avantages de cette analyse est que la vitesse d'apprentissage est relativement indépendante du niveau des performances brutes, lesquelles peuvent être contaminées par la variabilité interindividuelle dans les capacités sensorielles et motrices des animaux, sans lien direct avec l'apprentissage et la mémoire *per se*.

Nos résultats indiquent également qu'une très faible proportion d'animaux n'a pas eu la capacité, selon nos critères, d'apprendre la position des trois bras appâtés. Ces résultats mettent en lumière que, lors d'un vieillissement normal, l'apprentissage d'une information spatiale est

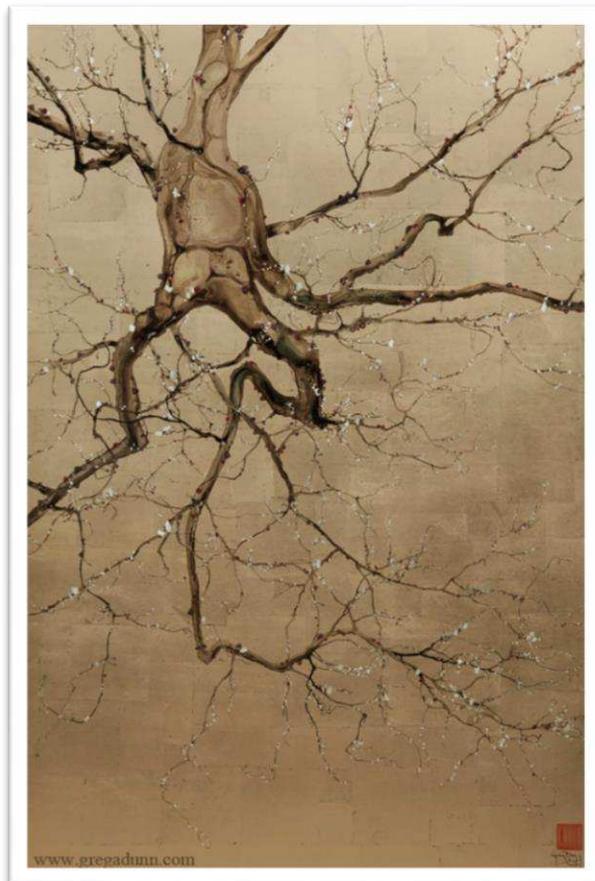
ralentie, mais que les processus supportant l'encodage semblent être normaux. Ces données paraissent être en contradiction avec les données de la littérature (par exemple [Drapeau et al., 2007](#); [Gage et al., 1988](#); [Haberman et al., 2017](#); [Lund et al., 2004](#)). Outre la diversité des tests comportementaux, cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les courbes d'acquisition sont incomplètes et qu'en augmentant le nombre d'essais, l'animal pourrait à terme être quand même être capable d'acquérir une information spatiale.

Afin d'étudier plus en détail la vitesse d'apprentissage, nous avons utilisé une méthode basée sur le temps nécessaire aux animaux pour atteindre la moitié de leur meilleure performance, afin de permettre une distinction basée sur une méthode statistique stable et fiable. La détermination de cette valeur a été possible grâce à la modélisation de courbes d'apprentissage par une méthode de régression non linéaire, afin d'homogénéiser les courbes des animaux qui auraient fait plus d'erreurs à une session donnée, comparée à leur session précédente. Une approche méthodologique similaire a été utilisée chez l'homme dans le cadre d'un apprentissage verbal ([Jones et al., 2005](#)) dans lequel le participant doit retrouver un maximum de 15 mots qui lui ont été verbalement dictés. Dans cette étude, il est montré que l'âge est l'un des critères qui peut affecter la vitesse d'apprentissage. De plus, cette étude ne trouve pas de corrélation entre la vitesse d'apprentissage et le niveau des performances finales, ce qui est en accord avec nos résultats. Il est toutefois difficile de lier ces deux tests comportementaux, en raison de la diversité des réseaux neuronaux et des structures engagées, différemment impliqués dans les deux tests. En utilisant le paramètre de la vitesse d'apprentissage, et en prenant avantage de la taille de notre cohorte, nous avons isolé deux populations de souris âgées : un groupe avec une vitesse d'apprentissage normale, similaires à celle des souris jeunes, et un groupe de souris âgées ayant une vitesse d'apprentissage réduite. Cette distinction dans la vitesse peut être liée à des dysfonctionnements dans les mécanismes cellulaires, électrophysiologiques et moléculaires sous tendant la consolidation d'une information spatiale telles que la plasticité synaptique, la neurogenèse, ou l'excitabilité intrinsèque ([Brightwell, 2004](#); [Desjardins et al., 1997](#); [Drapeau et al., 2007](#); [Dunn and Kaczorowski, 2019](#); [Morris and Gold, 2012](#); [Rosenzweig and Barnes, 2003](#); [Shivarama Shetty and Sajikumar, 2017](#); [Smith et al., 2000](#); [Yamamoto-Sasaki et al., 1999](#)). Cette réduction de la vitesse d'apprentissage, et plus généralement la variabilité interindividuelle, pourrait également s'expliquer par une variation dans les choix stratégiques mis en place par l'animal au cours de l'apprentissage spatial. Des études utilisant le paradigme de la piscine de Morris ont mis en évidence que le choix stratégique des animaux pouvait permettre dans certains cas de « masquer » ou compenser certaines perturbations mnésiques. Ainsi, les animaux âgés ont des performances similaires à celles des animaux jeunes dans la piscine de Morris (plateforme visible) si les animaux utilisent une stratégie égocentrique ([Lund et al., 2004](#)). En revanche, lorsque l'apprentissage doit se faire par une stratégie allocentrique (la plateforme est cachée), les animaux âgés montrent des performances significativement réduites ([Gage et al., 1988](#); [Gallagher et al., 1993](#); [Lund et al., 2004](#); [Markowska et al., 1989](#)). Des études chez l'Homme confirment que les choix stratégiques diffèrent entre les individus jeunes et âgés et sont directement corrélés aux performances mnésiques ([Ariel et al., 2015](#); [Burger et al., 2017](#); [Guerrero Sastoque et al., 2019](#); [Hinault et al., 2017a, 2017b](#)). Il a été montré que l'application d'une stratégie allocentrique

nécessite l'utilisation flexible d'indices spatiaux et est dépendante d'un réseau hippocampique intact, tandis que l'application d'une stratégie égocentrique est plutôt dépendante du réseau striatal (Colombo et al., 2003; Devan et al., 1999; McDonald and White, 1994; Oliveira et al., 1997; Packard, 1999; Packard and McGaugh, 1996; Passino et al., 2002). Il est donc possible que ces changements stratégiques, associés à des phénomènes de compensation (Reuter-Lorenz and Cappell, 2008) soient liés à des perturbations spécifiques des systèmes impliqués dans les processus de choix stratégiques, dans le cadre du vieillissement. Pour identifier ces approches stratégiques, une cartographie de l'activité neuronale globale, telle qu'elle a été réalisée dans le cas de notre étude précédente, pourrait nous orienter vers la stratégie que l'animal a utilisée pour résoudre la tâche. Une étude de corrélation entre les structures recrutées et la vitesse d'acquisition pourrait être réalisée.

La vitesse d'apprentissage ne constitue qu'un critère d'évaluation des fonctions cognitives des animaux. Une analyse plus globale de ces données, nous permettrait d'extraire des informations multiples, notamment sur l'état de la mémoire de travail, l'état de la mémoire de référence, sur les performances maximales obtenues, sur le nombre d'erreurs lors de la première session ou sur le type d'erreur commise (discrimination des bras en fonction de leur position). Cette méthodologie permet de catégoriser des animaux ayant des perturbations globales des performances cognitives ou plus ciblées, afin d'identifier des marqueurs comportementaux ou moléculaires d'un vieillissement sain ou pathologique.

Discussion générale



« Le grand cerveau, comme un grand gouvernement, ne peut pas être capable de faire des choses simples de façon simple »

Donald Hebb

Selon les théories actuelles de la consolidation mnésique, la formation de la mémoire à long terme s'accompagne d'une réorganisation progressive des structures cérébrales sous-tendant le stockage et le rappel de cette information (Frankland and Bontempi, 2005). Si la théorie standard de la consolidation (Squire and Alvarez, 1995) et la théorie des traces multiples (Moscovitch and Nadel, 1998) émettent des prédictions différentes quant à l'implication de l'HPC dans le rappel des informations de nature épisodique et sémantique, ces deux modèles s'accordent toutefois sur l'évolution de la trace du souvenir sémantique. En effet, initialement encodés dans un réseau hippocampo-cortical, ces nouveaux souvenirs déclaratifs deviennent progressivement de plus en plus dépendants d'un réseau distribué de neurones corticaux au fur et à mesure qu'ils subissent un processus de maturation et se stabilisent au cours du temps. Selon ces théories, la trace mnésique dans l'HPC détiendrait les « adresses » des neurones corticaux qui encodent pour les différentes composantes de l'expérience (visuelles, sémantiques, émotionnelles, etc.).

Notre compréhension des mécanismes et des circuits corticaux sous-tendant la formation de la mémoire à long terme s'est grandement affinée au cours de cette dernière décennie. Par des approches multiples, les récents travaux convergents et suggèrent que l'activité dans le néocortex lors de l'apprentissage, et plus particulièrement dans les régions du CPF, pourrait constituer le support de la mémoire à long terme. Si des avancées majeures ont été obtenues avec le modèle de conditionnement de peur au contexte (Bian et al., 2019; Broadbent and Clark, 2013; Cullen et al., 2015; Dejean et al., 2016; Einarsson et al., 2015; Giannotti et al., 2019; Rizzo et al., 2017; Roy et al., 2019; Sacchetti et al., 2002; Wheeler et al., 2013) dans lequel l'HPC, impliqué dans l'apprentissage d'informations spatiales, joue un rôle central, l'identification des réseaux corticaux et l'évolution de leurs connectivités lors de la consolidation systémique d'une information non spatiale, n'ont fait l'objet que de peu d'études (Lesburgueres et al., 2011; Loureiro et al., 2019; Smith et al., 2007; Tanimizu et al., 2017; Zhong et al., 2017). Dans **ce travail de thèse, à l'aide d'une approche intégrative alliant des techniques comportementales, des méthodes de mesures d'activité neuronale, d'étude de connectivité fonctionnelle et anatomique et enfin d'approches pharmacogénétiques, nous avons cherché à élucider certains des mécanismes responsables de la consolidation systémique des souvenirs anciens.**

A. Evolution de la connectivité fonctionnelle lors du rappel d'une mémoire associative olfactive récente et ancienne : implication du CPFm dans la consolidation systémique

I. Les anticorps c-fos : vers une validation systématique

Le recours aux anticorps s'est maintenant généralisé dans les études scientifiques. Utilisés à la fois sur des tissus intacts, fixés ou broyés, ils ont permis de nombreuses avancées dans notre connaissance du vivant. Parallèlement à cette généralisation, de nombreux questionnements, notamment au sujet de la variabilité et de la faible reproductibilité de certains résultats expérimentaux, ont mené la communauté scientifique à réfléchir sur la nécessité de standardiser une méthode afin de valider l'efficacité de ces anticorps (Bordeaux et al., 2010; Goldstein et al., 2007). Nos résultats expérimentaux ont montré qu'en fonction de la référence de l'anticorps c-fos, voire même du lot utilisé, nous avons pu observer ou non la corticalisation de la trace mnésique au niveau du COF chez le rat après une tâche de TSPA, phénomène pourtant observé par de nombreuses équipes (Bontempi et al., 1999; Frankland and Bontempi, 2005; Lesburgueres et al., 2011; Maviel et al., 2004; Ross and Eichenbaum, 2006; Tanimizu et al., 2017), confirmant la variabilité qui peut exister entre les anticorps, même lorsqu'ils sont regroupés sous la même référence. Nous proposons une approche pharmacologique par injection de sulpiride pour tester l'efficacité, la sélectivité et la sensibilité de nos anticorps c-fos. Cette approche simple nous est apparue d'autant plus importante que l'objectif de notre deuxième partie était de réaliser une cartographie de l'activité neuronale, nécessitant un travail d'acquisition lourd à mettre en place. Devant la multiplication de méthodes de production d'anticorps propres à chaque compagnie, la variabilité des méthodes d'évaluation qualitative mise en place ainsi que le *turn-over* dans les références, nos travaux illustrent que **les laboratoires de recherche se doivent de mettre en place des méthodes simples et facilement reproductibles pour valider systématiquement les lots d'anticorps qu'ils utilisent pour leurs recherches.**

II. Rôle de la voie CPFm vers le COF dans la consolidation

1) *Résumé de nos principaux résultats*

Afin d'améliorer nos connaissances sur la consolidation systémique d'une mémoire associative olfactive, nous avons étudié l'évolution temporelle des ensembles corticaux recrutés, ainsi que l'évolution des changements de connectivités entre ces ensembles, lors du rappel d'une mémoire récente ou ancienne. L'analyse de la cartographie de l'activité neuronale lors du rappel à court et à long terme lors d'une tâche de TSPA nous permet de mettre en évidence plusieurs points :

- **Plusieurs régions corticales (y compris le CCa, le CPFm (PrL ou IL), le COF et le RetroS) ont été identifiées comme étant d'importants nœuds qui faisant partie des réseaux neuronaux**

impliqués dans le rappel de la mémoire à long terme. Notre étude appuie la théorie standard de la consolidation, validant l'hypothèse d'une prise en charge par les réseaux corticaux du rappel à long terme.

- Nous montrons également que parmi ces cortex, **le CPFm joue un rôle très particulier**, puisque l'activité neuronale dans cette région augmente lors du rappel d'une mémoire récente et ancienne induite par le test de TSPA. De plus, l'inactivation de cette région bloque le rappel à court et à long terme, contrairement à celle du COF ([Lesburgueres et al., 2011](#)). Avec le même paradigme, il a été montré très récemment que lors du rappel à court terme, le CPFm est un relai entre le cortex piriforme (CPiri) et le noyau accumbens (NAc). Ce réseau entraîne l'inhibition de la préférence innée des rats, qui choisissent alors la nourriture à l'odeur familière ([Loureiro et al., 2019](#)).

- En lien avec ces observations récentes, nous mettons en évidence que **la maturation de la trace mnésique est associée à un renforcement des connections fonctionnelles entre le CPFm et le COF.** Ainsi, en raison de sa position anatomique stratégique, le CPFm pourrait avoir un rôle de relai entre l'HPC et le COF lors du processus de consolidation. Nos données et celles de l'équipe montrent que l'activité hippocampique, nécessaire à la consolidation ([Lesburgueres et al., 2011](#)), pourrait participer à la maturation du réseau CPFm→COF lors de la phase précoce de consolidation, alors que dans les phases tardives, le CPFm pourrait seul stabiliser la trace mnésique au niveau du COF.

Si notre analyse a permis de mettre en évidence cette connectivité du CPFm→COF, elle ne représente sans doute qu'une partie des changements de connections liés à la consolidation. Une cartographie plus large, comme celle réalisée par l'équipe de Frankland ([Wheeler et al., 2013](#)) dans le cadre du conditionnement par la peur au contexte, apporterait sans aucun doute une vision plus globale des réseaux neuronaux sous tendant le rappel à court et à long terme.

Le cortex préfrontal, et plus particulièrement le CPFm, est une région extrêmement interconnectée avec d'autres structures, notamment les cortex moteurs et sensoriels (illustré dans notre étude par ses connexions avec le Cortex Piriforme pour l'olfaction). Il est donc, comme l'HPC, idéalement situé pour intégrer des informations sensorielles multiples, ce qui a conduit Paul Frankland et Bruno Bontempi à proposer que le CPF orchestre la même fonction pour le rappel de la mémoire ancienne que l'HPC pour la mémoire récente ([Frankland and Bontempi, 2005](#)). En opposition avec cette hypothèse, d'autres études suggèrent que le CPF serait recruté uniquement en fonction de l'effort nécessaire pour le rappel ([Rudy et al., 2005](#)). Notre étude et celle de [Loureiro et al., 2019](#), semblent clairement suggérer que le CPFm pourrait orchestrer le rappel, en agissant sur différents processus et *via* des connections spécifiques avec d'autres structures cérébrales. Nous ne pouvons cependant pas exclure qu'une autre connexion que celles mentionnées, notamment avec le CCA, pourrait être engagé dans le rappel d'une information associative lorsque la trace mnésique est faible ([Bunge et al., 2004](#)).

2) Modèle du rôle du CPFm dans la consolidation d'une mémoire olfactive associative

Sur la base de notre étude et des données récentes de la littérature, nous proposons un **modèle qui place le CPFm au cœur de la consolidation d'une information olfactive associative**. Lors du rappel d'une mémoire récente, la familiarité de l'odeur pourrait être une information en partie stockée dans l'HPC, où l'odeur, l'interaction sociale et la nature « sans danger » de l'odeur seraient associés.

A court terme, la mémoire garderait l'aspect « épisodique », le choix de l'animal étant guidé par le souvenir de son interaction avec un congénère le jour précédent. Cette hypothèse permettrait d'expliquer le recrutement de l'HPC dans le rappel de la mémoire récente que notre équipe et d'autres ont mis en évidence (Lesburgueres et al., 2011; Ross and Eichenbaum, 2006). Dans ce contexte, le CPFm, en collaboration avec l'HPC et le NAc, pourrait « bloquer » la préférence innée (Loureiro et al., 2019) et adapter le choix de l'animal vers la nourriture familière (figure D.1.a). Ainsi le CPFm interviendrait pour adapter le comportement, en lien avec de nouvelles connaissances, en agissant *via* ses connexions vers le NAc. Cette voie pourrait soutenir les mécanismes rapides d'adaptation, indispensables à la survie de l'animal.

Le processus de consolidation serait associé à la « décontextualisation » de l'information, la rendant familière et indépendante du souvenir de l'interaction avec le démonstrateur. Cette

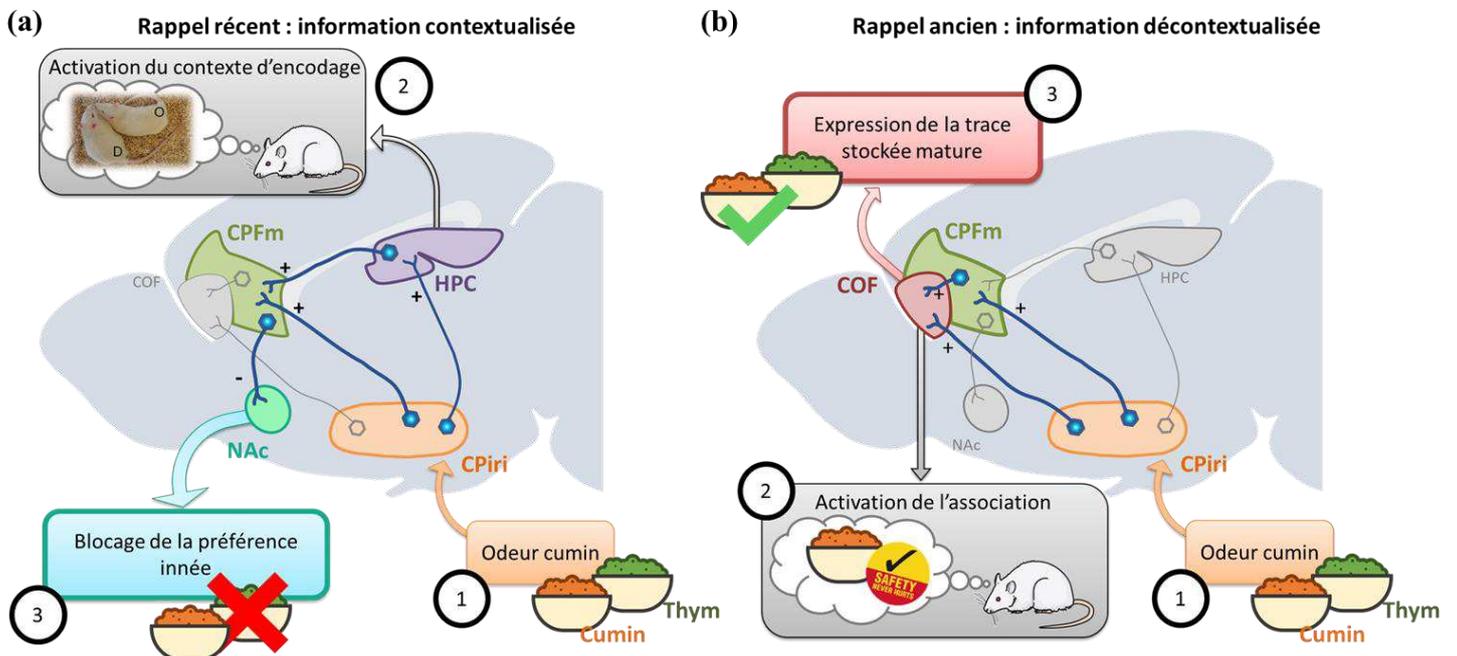


Figure D.1 | Schéma de synthèse mettant le CPFm au cœur du processus de consolidation d'une information associative olfactive. (a) Suite à l'interaction, lors du rappel à court terme, l'odeur de cumin active un souvenir « contextualisé », sous-tendu par l'activation du Cortex Piriforme (CPiri – impliqué dans le traitement des odeurs), de l'hippocampe (HPC - impliqué dans le rappel des informations récentes et du contexte d'encodage), du Cortex Préfrontal Médian (CPFm - impliqué dans l'évaluation du bénéfice/risque et dans la mise en place d'une réponse comportementale) et du Noyau Accumbens (NAc – impliqué dans le circuit de la récompense), ce qui va permettre le blocage de la préférence innée pour le thym (Loureiro et al., 2019). (b) Suite à l'interaction, lors du rappel à long terme, l'odeur de cumin active l'association indépendamment de son contexte d'encodage, sous-tendu par l'activation du CPiri, du CPFm et du Cortex Orbitofrontal (COF - impliqué dans l'association des modalités), ce qui va permettre l'expression de la trace mnésique stockée après son processus de maturation.

hypothèse est soutenue par le fait que l'HPC n'est pas recruté dans le rappel à long terme (nos travaux; [Lesburgueres et al., 2011](#); [Ross and Eichenbaum, 2006](#)). Cette vision s'appuie sur la « théorie de la liaison contextuelle » récemment développée dans une revue récente ([Yonelinas et al., 2019](#)). Dans ce modèle, le néocortex ne stockerait pas le souvenir épisodique, mais plutôt les modalités d'une information indépendamment de son contexte d'acquisition. C'est l'HPC qui détiendrait les données sur le contexte dans lequel l'information a été encodée, et son rôle serait de mettre en relation les informations contextuelles (le rat pourrait se souvenir de sa récente interaction avec un congénère) avec les informations sémantiques qu'il recevrait des autres régions (la nature sans danger d'une odeur puisque portée par un congénère sain). Parallèlement à la « décontextualisation » de l'odeur, le CPFm orchestrerait l'écriture de cette nouvelle odeur dans le COF par des réactivations *offline*. Ces réactivations vont permettre la stabilisation de la trace mnésique de l'odeur dans le COF, dont le rôle dans la reconnaissance des odeurs familières a été clairement établi chez l'animal ([Lesburgueres et al., 2011](#); [Ross and Eichenbaum, 2006](#)) mais aussi chez l'Homme ([Royet et al., 1999, 2001](#)). Ainsi, au cours du rappel à long terme, l'odeur présentée lors de l'interaction, stockée par le COF, va donc apparaître comme « familière », indépendamment de son contexte d'encodage (figure D.1.b). Reconnue comme telle, l'animal choisira cette nourriture. La voie CPFm→NAC, inhibant la préférence innée, n'a pas lieu d'être inactivée.

Ainsi la voie CPFm→NAC serait fonctionnelle jusqu'à ce que l'odeur acquise soit consolidée dans le COF. La voie CPFm→COF ne serait recrutée que pour stocker le souvenir d'une nouvelle odeur pour la rendre familière et considérée comme « sans danger » indépendamment de son contexte d'encodage. Ainsi dans notre modèle, le CPFm permettrait l'apprentissage d'associations entre les informations entrantes et les réponses adaptatives correspondantes (pour revue, voir [Euston et al., 2012](#)). Il stockerait surtout les schémas de ces associations ([Alexander and Brown, 2011](#)), telles que le lien entre l'odeur et son aspect inoffensif, mais pas le souvenir d'une odeur seule. Cela pourrait expliquer pourquoi une simple exposition à l'odeur ou au goût d'une nouvelle nourriture n'entraîne qu'une mémorisation temporaire de la familiarité de cette nouvelle nourriture (uniquement l'information contextualisé du souvenir) qui est rapidement oubliée ([Bessières et al., 2017](#)). Dans ce cas, la voie CPFm→COF ne serait pas recrutée et l'odeur ne serait pas stockée à long terme. **Le CPFm pourrait alors agir comme un cortex qui « établit » la pertinence de stocker ou non une information** ([Wallis, 2007](#)).

3) Implications et perspectives

L'ensemble de nos données suggèrent un rôle clé de la connectivité du CPFm dans la mémoire olfactive associative. Il agirait à la fois pour le rappel d'une information récente et d'une mémoire ancienne. Toutefois, les réseaux sous tendant ces deux fonctions pourraient être différents. D'après notre modèle et les données de la littérature, la connectivité CPFm→NAC pourrait être essentielle pour le rappel à court terme alors que la CPFm→COF permettrait de consolider l'information olfactive dans le COF. Notre prochain objectif serait donc d'explorer l'implication différentielle de ces voies dans un rappel d'une mémoire associative olfactive récente ou

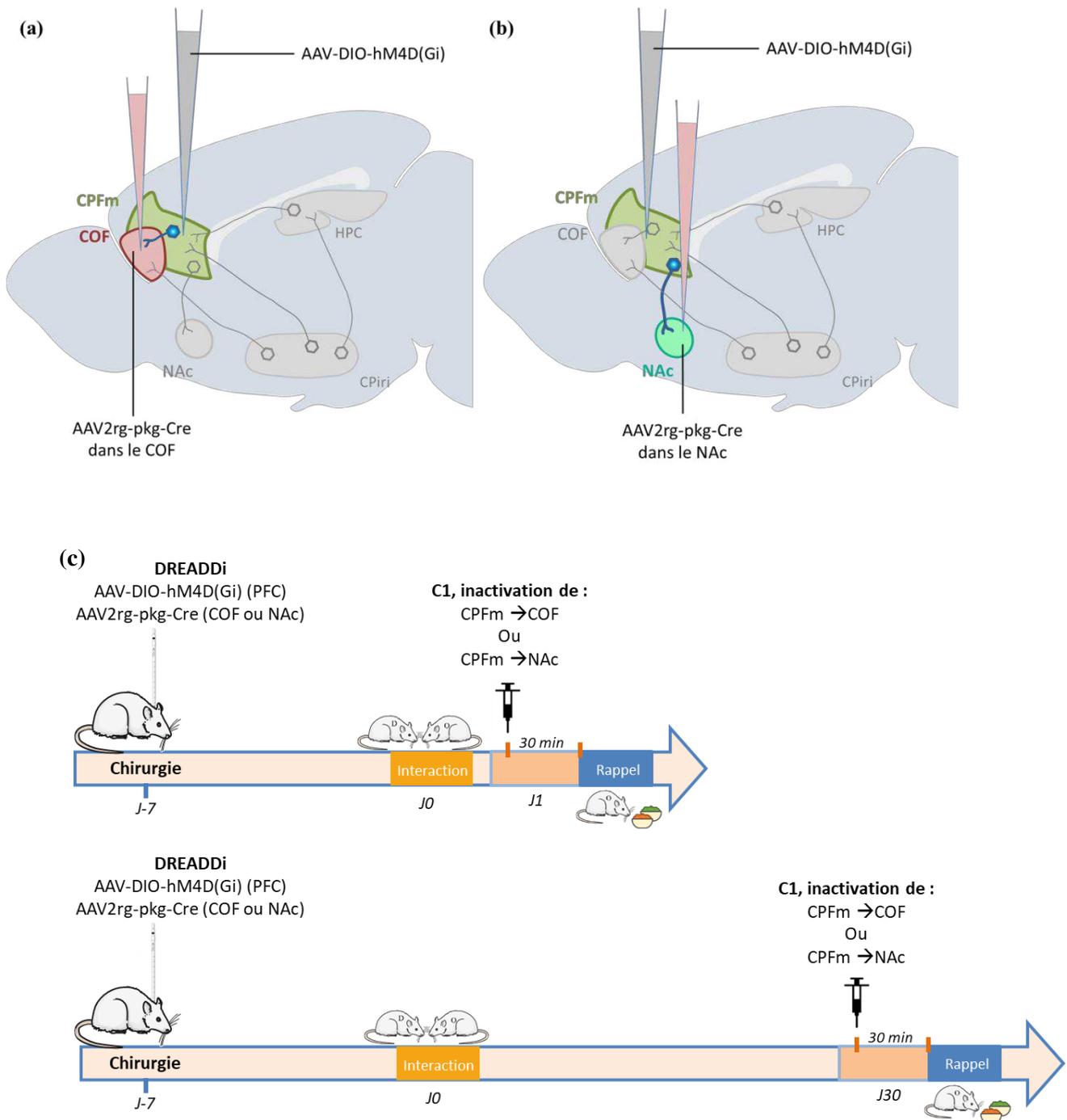


Figure D.2 | Stratégie d'injection virale permettant l'inhibition spécifique de projections entre les zones corticales. L'injection d'un virus AAV-DIO-hM4D(Gi) dans le CPFm va permettre l'expression dépendante de la présence de CRE-recombinase de DREADDi dans toute la structure, puis l'injection d'un virus rétrograde AAV2rg-pkg-Cre qui exprimera la CRE-recombinase et permettra donc l'expression des DREADDi, spécifiquement (a) dans la voie CPFm→COF, permettant d'inhiber spécifiquement la connexion entre ces structures, ou (b) dans la voie CPFm→NAc, permettant d'inhiber spécifiquement la connexion entre ces structures par l'agoniste C21. (c) Plan expérimental permettant de tester l'effet de l'inhibition spécifique d'une voie de connexion entre deux structures sur le rappel d'une mémoire récente ou ancienne de TSPA.

ancienne. Pour cela, les rats observateurs recevront une injection, dans le NAc (pour étudier la voie CPFm-NAcc) ou dans le COF (pour étudier la voie CPFm-COF) d'un virus AAV rétrograde qui exprimera la CRE-recombinase (AAV2rg-pkg-Cre). Ils recevront ensuite une injection dans le CPFm d'un AAV qui exprimera le récepteur hM4D(Gi) dont l'expression est dépendante de la présence de la CRE-recombinase (figure D.2). Ainsi, seuls les neurones du CPFm associés à la structure cible

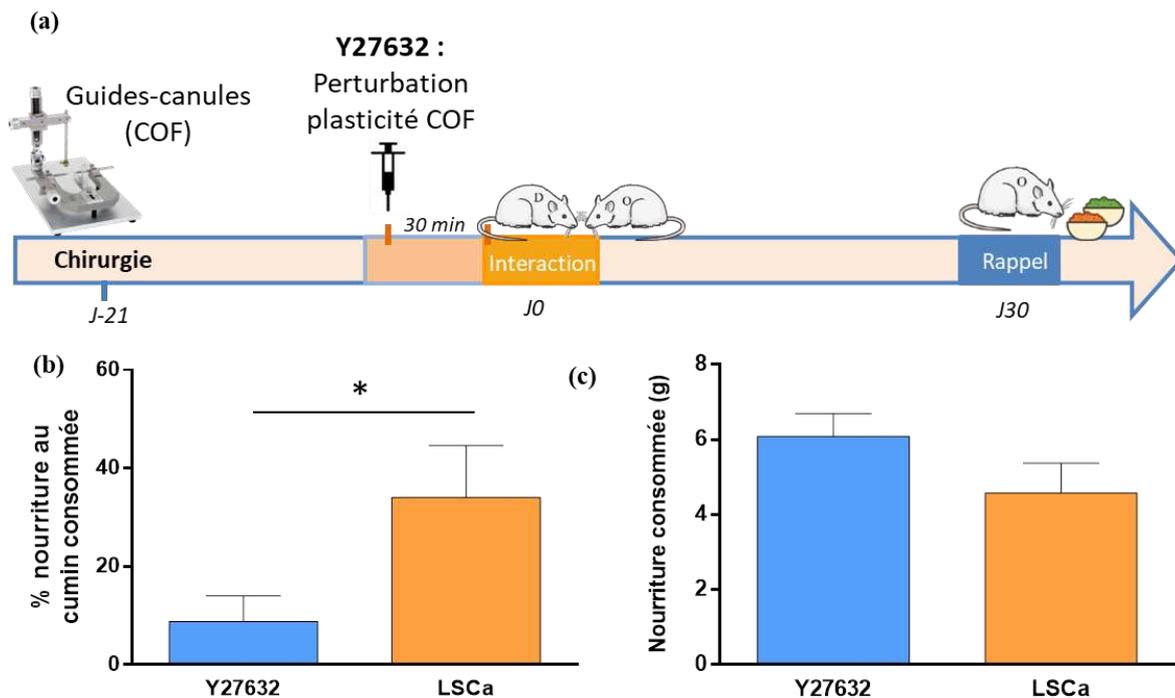


Figure D.3 | La perturbation de la plasticité dans le COF au moment de l'encodage perturbe le stockage à long terme d'un souvenir de TSPA. (a) Plan expérimental de l'expérience permettant la perturbation de la plasticité synaptique dans le COF au moment de l'encodage, par injection de Y27632. (b) Les performances mnésiques sont exprimées en pourcentage de nourriture au cummin consommée (\pm ESM) lors du test de préférence alimentaire 30 jours après l'interaction, pour le groupe ayant reçu une injection de Y27632 ou de Liquide Céphalorachidien artificiel (LSCa). (c) Quantité totale de nourriture consommée durant le test de préférence (en gramme, \pm ESM). **Analyse statistique :** * $p < 0,05$, $n = 7$ à 8 .

exprimeront les DREADDi et seront inhibés par l'agoniste C21. Grâce à cette stratégie nous pourrions bloquer sélectivement l'une ou l'autre des voies pendant le rappel à court ou à long terme, afin de déterminer si ces voies ont effectivement un rôle différentiel dans le rappel d'une mémoire associative olfactive.

Notre étude suggère également que le CPFm participe à la maturation de la trace au niveau du COF. En effet, il a déjà été montré que le blocage chronique de l'activité dans le COF dans la phase tardive de la maturation de la trace peut altérer le rappel à long terme (Lesburgueres et al., 2011). Ainsi, pour déterminer si l'activité de la voie CPFm \rightarrow COF est responsable de la maturation de la trace, nous inhiberons chroniquement cette voie, en utilisant la même stratégie de précédemment pour cibler la voie durant la phase de maturation. L'impact sur le rappel à long terme nous permettra de déterminer si l'activité dans la connexion CPFm \rightarrow COF est nécessaire pour le stockage de la trace au niveau du COF.

Enfin, les données obtenues dans notre laboratoire ont démontré que des changements structuraux dans le COF sont observés 24h après l'apprentissage (Lesburgueres et al., 2011), alors que la structure n'est pas impliqué dans le rappel à court terme. La question est alors de savoir si ces changements observés au niveau du COF sont nécessaires à la mise en place et au renforcement de la connectivité de la voie CPFm \rightarrow COF, que nous avons mise en évidence lors de notre étude. Pour cela nous bloquerons les changements structuraux à l'aide d'un inhibiteur de la plasticité structurale, le Y27632, qui sera injecté dans le COF juste avant l'encodage. Nous avons d'ores et déjà démontré que l'injection du Y27632 dans le COF juste avant l'encodage bloque

l'expression de la mémoire à long terme (Mann-Whitney, $U=8$, $n_1=8$, $n_2=7$, $p=0.0426$, figure D.3). Grâce à cette approche, nous pourrions évaluer l'implication de la plasticité structurale dans la mise en place d'une connectivité fonctionnelle que nous avons révélé entre le CPFm et le COF, grâce à notre cartographie de l'activité neuronale. De même, nous pourrions également déterminer avec précision si les changements structuraux qui ont été observés 24h après l'encodage dans le COF (Lesburgueres et al., 2011), touchent sélectivement les neurones du COF associés au CPFm.

L'ensemble de ces expériences pourrait apporter un éclairage nouveau sur le rôle du CPFm dans les processus de consolidation d'une mémoire associative olfactive. Ces données pourraient également mettre en lumière la nécessité de manipuler les voies d'entrée et de sortie des structures pour définir le rôle des connectivités et leur évolution dans les processus de consolidation systémique.

B. Vieillesse et mémoire

I. Résumé de nos principaux résultats

Au cours du vieillissement, la plupart de nos aptitudes physiques et cognitives se dégradent. Toutefois, ces dégradations sont très variables et de nombreuses études tentent maintenant de comprendre cette variabilité interindividuelle (Dykiert et al., 2012; Hertzog et al., 2017; Miller and Weissert, 2003). Cette variabilité se retrouve dans les différents types de mémoire, qui ne sont pas affectés de la même façon au cours du vieillissement normal. Il a notamment été montré que la mémorisation des informations spatiales est particulièrement perturbée chez les sujets âgés sains, comparés au groupe de sujets jeunes (Newman and Kaszniak, 2000; Wilkniss et al., 1997). Cependant, l'apprentissage spatial est un processus complexe pouvant être réalisé par des stratégies différentes (egocentrique ou allocentrique) et altéré pour différentes raisons (déficit spécifique de la mémoire de travail, de la neurogenèse, etc.). C'est pourquoi, sur la base d'une cohorte importante d'animaux âgés, nous avons analysé les courbes d'acquisition des animaux lors d'un apprentissage spatial dans un labyrinthe radiaire à huit bras. Un des résultats majeurs de cette étude est qu'une grande majorité de souris âgées sont capables d'apprendre la position de trois bras appâtés sur huit. En effet, même si des différences interindividuelles existent, les souris âgées atteignent des performances similaires à celles des souris jeunes au bout de huit sessions d'acquisition. L'un des critères qui distingue toutefois les souris jeunes des souris âgées est le temps nécessaire pour atteindre leur performance maximum, c'est-à-dire leur vitesse d'apprentissage. Pour saisir cette vitesse différentielle de l'apprentissage spatial en tant qu'indice de performance fiable et discriminatoire de la mémoire, nous avons utilisé un modèle de régression linéaire pour modéliser la courbe individuelle d'apprentissage des souris. Cette méthode d'analyse a permis d'isoler clairement deux populations de souris âgées, l'une ayant des performances mnésiques similaires à celle des jeunes souris (vitesse d'apprentissage normale) et l'autre présentant une vitesse d'apprentissage réduite (classée comme lente). Ainsi, l'indice de

performance générée peut servir d'outils de catégorisation utile pour isoler des différences interindividuelles et mettre en lumière des marqueurs moléculaires pertinents d'une fragilité cognitive.

II. Perspectives

Les dysfonctionnements des réseaux neuronaux sous-tendant l'apprentissage d'une mémoire spatiale pourrait avoir des répercussions majeures sur la vitesse d'acquisition des informations. C'est pourquoi, nous pourrions dans un premier temps réaliser une cartographie de l'activité neuronale à la fin de l'apprentissage spatial. Cette cartographie pourrait révéler l'existence d'une connectivité fonctionnelle entre le CPFm, impliqué dans cette tâche (Maviel et al., 2004), et d'autres structures cérébrales. Une étude similaire pourrait être réalisée chez les souris âgées ayant une vitesse d'apprentissage normale ou réduite. La comparaison de ces cartographies avec celle obtenue sur les animaux jeunes, pourrait révéler l'existence de stratégies différentielles d'apprentissage. Elle pourrait également mettre en lumière l'existence de fragilités spécifiques de certaines voies qui pourraient être manipulées par des stratégies ciblées pour ralentir les déclin cognitifs liés à l'âge.

Bibliographie



- Abel, T., and Kandel, E. (1998). Positive and negative regulatory mechanisms that mediate long-term memory storage. *Brain Research Reviews* 19.
- Abel, T., and Nguyen, P.V. (2008). Chapter 6 Regulation of hippocampus-dependent memory by cyclic AMP-dependent protein kinase. In *Progress in Brain Research*, (Elsevier), pp. 97–115.
- Abel, T., Nguyen, P.V., Barad, M., Deuel, T.A.S., Kandel, E.R., and Bourchouladze, R. (1997). Genetic Demonstration of a Role for PKA in the Late Phase of LTP and in Hippocampus-Based Long-Term Memory. *Cell* 88, 615–626.
- Abraham, W.C. (2003). How long will long-term potentiation last? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358, 735–744.
- Abraham, W.C., Mason, S.E., Demmer, J., Williams, J.M., Richardson, C.L., Tate, W.P., Lawlor, P.A., and Dragunow, M. (1993). Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 56, 717–727.
- Abraham, W.C., Logan, B., Greenwood, J.M., and Dragunow, M. (2002). Induction and Experience-Dependent Consolidation of Stable Long-Term Potentiation Lasting Months in the Hippocampus. *J. Neurosci.* 22, 9626–9634.
- Addis, D.R., Moscovitch, M., Crawley, A.P., and McAndrews, M.P. (2004). Recollective qualities modulate hippocampal activation during autobiographical memory retrieval. *Hippocampus* 14, 752–762.
- Alberini, C.M., and Kandel, E.R. (2015). The Regulation of Transcription in Memory Consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7, a021741.
- Alexander, W.H., and Brown, J.W. (2011). Medial prefrontal cortex as an action-outcome predictor. *Nat Neurosci* 14, 1338–1344.
- Alexandre, F. (2013). *Comprendre les réseaux cérébraux* (Bordeaux: INRIA).
- Alvarez, P., and Squire, L.R. (1994). Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91, 7041–7045.
- Alvarez, P., Lipton, P.A., Melrose, R., and Eichenbaum, H. (2001). Differential Effects of Damage within the Hippocampal Region on Memory for a Natural, Nonspatial Odor–Odor Association. *Learn Mem* 8, 79–86.
- Amaral, D.G., and Witter, M.P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience* 31, 571–591.
- Amaral, D.G., Dolorfo, C., and Alvarez-Royo, P. (1991). Organization of CA1 projections to the subiculum: A PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1, 415–435.
- Anagnostaras, S.G., Maren, S., and Fanselow, M.S. (1999). Temporally Graded Retrograde Amnesia of Contextual Fear after Hippocampal Damage in Rats: Within-Subjects Examination. *J. Neurosci.* 19, 1106–1114.
- Angel, P., and Karin, M. (1991). The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1072, 129–157.
- Angelini, L., Mazzucchi, A., Picciotto, F., Nardocci, N., and Broggi, G. (1981). Focal lesion of the right cingulum: a case report in a child. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 44, 355–357.
- Ariel, R., Price, J., and Hertzog, C. (2015). Age-related Associative Memory Deficits in Value-based Remembering: The Contribution of Agenda-based Regulation and Strategy Use. *Psychol Aging* 30, 795–808.
- Armbruster, B.N., Li, X., Pausch, M.H., Herlitze, S., and Roth, B.L. (2007). Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 5163–5168.
- Ash, J.A., Lu, H., Taxier, L.R., Long, J.M., Yang, Y., Stein, E.A., and Rapp, P.R. (2016). Functional connectivity with the retrosplenial cortex predicts cognitive aging in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 113, 12286–12291.
- Atherton, L.A., Dupret, D., and Mellor, J.R. (2015). Memory trace replay: the shaping of memory consolidation by neuromodulation. *Trends in Neurosciences* 38, 560–570.

- Axmacher, N., Mormann, F., Fernández, G., Elger, C.E., and Fell, J. (2006). Memory formation by neuronal synchronization. *Brain Research Reviews* 52, 170–182.
- Balbinot, G., and Schuch, C.P. (2019). Compensatory Relearning Following Stroke: Cellular and Plasticity Mechanisms in Rodents. *Front. Neurosci.* 12, 1023.
- Barabasi, A.-L., and Albert, R. (1999). Emergence of Scaling in Random Networks. *Science* 286, 5.
- Barbas, H., and Blatt, G.J. (1995). Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey. *Hippocampus* 5, 511–533.
- Barnes, C.A., and McNaughton, B.L. (1985). An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behavioral Neuroscience* 99, 1040–1048.
- Barry, D.N., Coogan, A.N., and Commins, S. (2016). The time course of systems consolidation of spatial memory from recent to remote retention: A comparison of the Immediate Early Genes *Zif268*, *c-Fos* and *Arc*. *Neurobiology of Learning and Memory* 128, 46–55.
- Bartlett, F.C. (1932). Remembering: A study in experimental and social psychology.
- Bartus, R.T., and Dean, R.L. (1985). Developing and using animal models in the search for an effective treatment for age-related memory disturbances. In *Normal Aging, Alzheimer's Disease, and Senile Dementia: Aspects on Etiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment*, (Brussels: C. G. Gottfries (Ed.)), pp. 231–267.
- Barulli, D., and Stern, Y. (2013). Efficiency, capacity, compensation, maintenance, plasticity: emerging concepts in cognitive reserve. *Trends Cogn Sci* 17.
- Basbous, J., Jariel-Encontre, I., Gomard, T., Bossis, G., and Piechaczyk, M. (2008). Ubiquitin-independent-versus ubiquitin-dependent proteasomal degradation of the *c-Fos* and *Fra-1* transcription factors: Is there a unique answer? *Biochimie* 90, 296–305.
- Bayley, P.J., Hopkins, R.O., and Squire, L.R. (2003). Successful Recollection of Remote Autobiographical Memories by Amnesic Patients with Medial Temporal Lobe Lesions. *Neuron* 38, 145–154.
- Bayley, P.J., Gold, J.J., Hopkins, R.O., and Squire, L.R. (2005). The Neuroanatomy of Remote Memory. *Neuron* 46, 799–810.
- Benchenane, K., Peyrache, A., Khamassi, M., Tierney, P.L., Gioanni, Y., Battaglia, F.P., and Wiener, S.I. (2010). Coherent Theta Oscillations and Reorganization of Spike Timing in the Hippocampal- Prefrontal Network upon Learning. *Neuron* 66, 921–936.
- Benke, T.A., Lüthi, A., Isaac, J.T.R., and Collingridge, G.L. (1998). Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature* 393, 793–797.
- Berlucchi, G. (2002). The Origin of the Term Plasticity in the Neurosciences: Ernesto Lugaro and Chemical Synaptic Transmission. *Journal of the History of the Neurosciences* 11, 305–309.
- Bernard, F.A., Bullmore, E.T., Graham, K.S., Thompson, S.A., Hodges, J.R., and Fletcher, P.C. (2004). The hippocampal region is involved in successful recognition of both remote and recent famous faces. *NeuroImage* 22, 1704–1714.
- Bessières, B., Nicole, O., and Bontempi, B. (2017). Assessing recent and remote associative olfactory memory in rats using the social transmission of food preference paradigm. *Nat Protoc* 12, 1415–1436.
- Bian, X.-L., Qin, C., Cai, C.-Y., Zhou, Y., Tao, Y., Lin, Y.-H., Wu, H.-Y., Chang, L., Luo, C.-X., and Zhu, D.-Y. (2019). Anterior Cingulate Cortex to Ventral Hippocampus Circuit Mediates Contextual Fear Generalization. *J. Neurosci.* 39, 5728–5739.
- Biedenkapp, J.C., and Rudy, J.W. (2007). Context Preexposure Prevents Forgetting of a Contextual Fear Memory: Implication for Regional Changes in Brain Activation Patterns Associated with Recent and Remote Memory Tests. *Learn Mem* 14, 200–203.
- Bisler, S., Schleicher, A., Gass, P., Stehle, J.H., Zilles, K., and Staiger, J.F. (2002). Expression of *c-Fos*, *ICER*, *Krox-24* and *JunB* in the whisker-to-barrel pathway of rats: time course of induction upon whisker

stimulation by tactile exploration of an enriched environment. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 23, 187–198.

Bliss, T.V.P., and Collingridge, G.L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31–39.

Bliss, T.V.P., and Gardner-Medwin, A.R. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology* 232, 357–374.

Bliss, T.V.P., and Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology* 232, 331–356.

Bliss, T.V.P., Collingridge, G.L., Kaang, B.-K., and Zhuo, M. (2016). Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 17, 485–496.

Blum, S., Hebert, A.E., and Dash, P.K. (2006). A role for the prefrontal cortex in recall of recent and remote memories: *NeuroReport* 17, 341–344.

Bojovic, O., Panja, D., Bittins, M., Bramham, C.R., and Tjølsen, A. (2015). Time Course of Immediate Early Gene Protein Expression in the Spinal Cord following Conditioning Stimulation of the Sciatic Nerve in Rats. *PLOS ONE* 10, e0123604.

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.

Bordeaux, J., Welsh, A.W., Agarwal, S., Killiam, E., Baquero, M.T., Hanna, J.A., Anagnostou, V.K., and Rimm, D.L. (2010). Antibody validation. *BioTechniques* 48, 197–209.

Bowman, C.R., and Zeithamova, D. (2018). Abstract Memory Representations in the Ventromedial Prefrontal Cortex and Hippocampus Support Concept Generalization. *J. Neurosci.* 38, 2605–2614.

Bozon, B., Davis, S., and Laroche, S. (2003). A Requirement for the Immediate Early Gene *zif268* in Reconsolidation of Recognition Memory after Retrieval. *Neuron* 40, 695–701.

Bramham, C.R., Alme, M.N., Bittins, M., Kuipers, S.D., Nair, R.R., Pai, B., Panja, D., Schubert, M., Soule, J., Tiron, A., et al. (2010). The Arc of synaptic memory. *Experimental Brain Research* 200, 125–140.

Brightwell, J. (2004). Hippocampal CREB1 but not CREB2 is decreased in aged rats with spatial memory impairments. *Neurobiology of Learning and Memory* 81, 19–26.

Broadbent, N.J., and Clark, R.E. (2013). Remote context fear conditioning remains hippocampus-dependent irrespective of training protocol, training–surgery interval, lesion size, and lesion method. *Neurobiology of Learning and Memory* 106, 300–308.

Broadbent, N.J., Squire, L.R., and Clark, R.E. (2006). Reversible hippocampal lesions disrupt water maze performance during both recent and remote memory tests. *Learn Mem* 13, 187–191.

Brod, G., and Shing, Y.L. (2018). Specifying the role of the ventromedial prefrontal cortex in memory formation. *Neuropsychologia* 111, 8–15.

Bunge, S.A., Burrows, B., and Wagner, A.D. (2004). Prefrontal and hippocampal contributions to visual associative recognition: Interactions between cognitive control and episodic retrieval. *Brain and Cognition* 56, 141–152.

Bunsey, M., and Eichenbaum, H. (1995). Selective damage to the hippocampal region blocks long-term retention of a natural and nonspatial stimulus-stimulus association. *Hippocampus* 5, 546–556.

Burger, L., Uittenhove, K., Lemaire, P., and Tacconat, L. (2017). Strategy difficulty effects in young and older adults' episodic memory are modulated by inter-stimulus intervals and executive control processes. *Acta Psychologica* 175, 50–59.

Bussolino, D.F., Guido, M.E., Gil, G.A., Borioli, G.A., Renner, M.L., Grabois, V.R., Conde, C.B., and Caputto, B.L. (2001). c-Fos associates with the endoplasmic reticulum and activates phospholipid metabolism. *The FASEB Journal* 15, 556–558.

Buzsáki, G. (2010). Neural Syntax: Cell Assemblies, Synapsesembles, and Readers. *Neuron* 68, 362–385.

y Cajal, R. (1889). Conexión general de los elementos nerviosos. *La Medicina Practica* 2, 341–346.

y Cajal, R. (1894). *Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l’homme et chez les vertébrés*, traduit par Azoulay, Léon (Paris: C. Reinwald & Cie).

Caporale, N., and Dan, Y. (2008). Spike Timing–Dependent Plasticity: A Hebbian Learning Rule. *Annu. Rev. Neurosci.* 31, 25–46.

Caputto, B.L., Cardozo Gizzi, A.M., and Gil, G.A. (2014). c-Fos: An AP-1 transcription factor with an additional cytoplasmic, non-genomic lipid synthesis activation capacity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1841, 1241–1246.

Carmichael, S.T., and Price, J.L. (1994). Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. *J. Comp. Neurol.* 346, 366–402.

Carmichael, S.T., and Price, J.L. (1995a). Sensory and premotor connections of the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.* 363, 642–664.

Carmichael, S.T., and Price, J.L. (1995b). Limbic connections of the orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.* 363, 615–641.

Carroll, R.C., Beattie, E.C., von Zastrow, M., and Malenka, R.C. (2001). Role of ampa receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2, 315–324.

Cavada, C. (2000). The Anatomical Connections of the Macaque Monkey Orbitofrontal Cortex. A Review. *Cerebral Cortex* 10, 220–242.

Chiang, M.-C., Huang, A.J.Y., Wintzer, M.E., Ohshima, T., and McHugh, T.J. (2018). A role for CA3 in social recognition memory. *Behavioural Brain Research* 354, 22–30.

Chklovskii, D. (2004). Synaptic Connectivity and Neuronal Morphology Two Sides of the Same Coin. *Neuron* 43, 609–617.

Chklovskii, D.B., Mel, B.W., and Svoboda, K. (2004). Cortical rewiring and information storage. *Nature* 431, 782–788.

Cho, Y.H., and Jaffard, R. (1995). Spatial Location Learning in Mice with Ibotenate Lesions of Entorhinal Cortex or Subiculum. *Neurobiology of Learning and Memory* 64, 285–290.

Cho, H., Beracochea, D., and Jaffard, R. (1993). Extended Temporal Gradient for the Retrograde and Anterograde Amnesia Produced by Ibotenate Entorhinal Cortex Lesions in Mice. *The Journal of Neuroscience* 13, 8.

Chowdhury, S., Shepherd, J.D., Okuno, H., Lyford, G., Petralia, R.S., Plath, N., Kuhl, D., Huganir, R.L., and Worley, P.F. (2006). Arc/Arg3.1 Interacts with the Endocytic Machinery to Regulate AMPA Receptor Trafficking. *Neuron* 52, 445–459.

Chudasama, Y. (2011). Animal models of prefrontal-executive function. *Behavioral Neuroscience* 125, 327–343.

Cipolotti, L., Shallice, T., Chan, D., Fox, N., Scahill, R., Harrison, G., Stevens, J., and Rudge, P. (2001). Long-term retrograde amnesia... the crucial role of the hippocampus. *Neuropsychologia* 22.

Clark, R.E., Broadbent, N.J., Zola, S.M., and Squire, L.R. (2002). Anterograde Amnesia and Temporally Graded Retrograde Amnesia for a Nonspatial Memory Task after Lesions of Hippocampus and Subiculum. *J. Neurosci.* 22, 4663–4669.

Clark, R.E., Broadbent, N.J., and Squire, L.R. (2005). Hippocampus and remote spatial memory in rats. *Hippocampus* 15, 260–272.

Clarke, J.R., Cammarota, M., Gruart, A., Izquierdo, I., and Delgado-Garcia, J.M. (2010). Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 2652–2657.

Cohen, N.J., and Eichenbaum, H. (1991). The theory that wouldn’t die: A critical look at the spatial mapping theory of hippocampal function. *Hippocampus* 1, 265–268.

- Colombo, P.J., Brightwell, J.J., and Countryman, R.A. (2003). Cognitive Strategy-Specific Increases in Phosphorylated cAMP Response Element-Binding Protein and c-Fos in the Hippocampus and Dorsal Striatum. *J. Neurosci.* *23*, 3547–3554.
- Comeau, W.L., McDonald, R.J., and Kolb, B.E. (2010). Learning-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology. *Behavioural Brain Research* *214*, 91–101.
- Conte, W.L., Kamishina, H., and Reep, R.L. (2009). Multiple neuroanatomical tract-tracing using fluorescent Alexa Fluor conjugates of cholera toxin subunit B in rats. *Nat Protoc* *4*, 1157–1166.
- Cooke, S.F., and Bear, M.F. (2010). Visual Experience Induces Long-Term Potentiation in the Primary Visual Cortex. *Journal of Neuroscience* *30*, 16304–16313.
- Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nat Rev Neurosci* *3*, 153–160.
- Costa-Mattioli, M., Sossin, W.S., Klann, E., and Sonenberg, N. (2009). Translational Control of Long-Lasting Synaptic Plasticity and Memory. *Neuron* *61*, 10–26.
- Courtiol, E., Neiman, M., Fleming, G., Teixeira, C.M., and Wilson, D.A. (2019). A specific olfactory cortico-thalamic pathway contributing to sampling performance during odor reversal learning. *Brain Struct Funct* *224*, 961–971.
- Cowansage, K.K., Shuman, T., Dillingham, B.C., Chang, A., Golshani, P., and Mayford, M. (2014). Direct Reactivation of a Coherent Neocortical Memory of Context. *Neuron* *84*, 432–441.
- Crook, T., Bartus, R.T., Ferris, S.H., Whitehouse, P., Cohen, G.D., and Gershon, S. (1986). Age-associated memory impairment: Proposed diagnostic criteria and measures of clinical change — report of a national institute of mental health work group. *Developmental Neuropsychology* *2*, 261–276.
- 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.
- Curran, T., and Franz, R. jr. (1988). Fos and jun The AP-1 connection.pdf. *Cell Press* *55*, 395–397.
- Curran, T., and Morgan, J.I. (1987). Memories of fos. *BioEssays* *7*, 255–258.
- Curtis, D., and Watkins, J. (1963). Acidic amino acids with strong excitatory actions on mammalian neurones. *The Journal of Physiology* *166*, 1–6.
- Dash, P.K., Hebert, A.E., and Runyan, J.D. (2004). A unified theory for systems and cellular memory consolidation. *Brain Research Reviews* *45*, 30–37.
- Davis, S., Butcher, S.P., and Morris, F.G.M. (1992). The NMDA Receptor Antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) Impairs Spatial Learning and LTP in viva at Intracerebral Concentrations Comparable to Those that Block LTP in vitro. *The Journal of Neuroscience* *12*, 21–34.
- Davis, S., Renaudineau, S., Poirier, R., Poucet, B., Save, E., and Laroche, S. (2010). The Formation and Stability of Recognition Memory: What Happens Upon Recall? *Front. Behav. Neurosci.* *4*.
- Day, J.J., and Sweatt, J.D. (2011). Epigenetic Mechanisms in Cognition. *Neuron* *70*, 813–829.
- Deacon, T.W., Eichenbaum, H., Rosenberg, P., and Eckmann, K.W. (1983). Afferent connections of the perirhinal cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* *220*, 168–190.
- Deisseroth, K., Bito, H., Schulman, H., and Tsien, R.W. (1995). Synaptic Plasticity: A molecular mechanism for metaplasticity. *Current Biology* *5*, 1334–1338.
- Deiters, O.F.K. (1865). *Untersuchungen über Gehirn und Rückenmark des Menschen und der Säugethiere* (Braunschweig: Vieweg und Sohn).
- 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.
- Demoor, J. (1896). *La plasticité morphologique des neurones cérébraux* (Liège).
- DeNardo, L.A., Liu, C.D., Allen, W.E., Adams, E.L., Friedmann, D., Fu, L., Guenther, C.J., Tessier-Lavigne, M., and Luo, L. (2019). Temporal evolution of cortical ensembles promoting remote memory retrieval. *Nat Neurosci* *22*, 460–469.

- Derkach, V., Barria, A., and Soderling, T.R. (1999). α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 6.
- Descartes, R. (1662). *De homine figuris et latininae donatus a Florentio Schuyll* (Leyde: Franciscum Moyardum and Petrum Leffen).
- Desjardins, S., Mayo, W., Vallée, M., Hancock, D., Le Moal, M., Simon, H., and Abrous, D.N. (1997). Effect of aging on the basal expression of c-fos, c-jun, and egr-1 proteins in the hippocampus. *Neurobiology of Aging* 18, 37–44.
- Devan, B.D., McDonald, R.J., and White, N.M. (1999). Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place- and cue-guided behaviors in the water maze: relation to thigmotaxis. *Behavioural Brain Research* 100, 5–14.
- Domesick, V.B. (1969). Projections from the cingulate cortex in the rat. *Brain Research* 12, 296–320.
- Dong, Z., Han, H., Li, H., Bai, Y., Wang, W., Tu, M., Peng, Y., Zhou, L., He, W., Wu, X., et al. (2015). Long-term potentiation decay and memory loss are mediated by AMPAR endocytosis. *The Journal of Clinical Investigation*.
- Drapeau, E., Montaron, M.-F., Aguerre, S., and Abrous, D.N. (2007). Learning-Induced Survival of New Neurons Depends on the Cognitive Status of Aged Rats. *Journal of Neuroscience* 27, 6037–6044.
- Drieu, C., and Zugaro, M. (2019). Hippocampal Sequences During Exploration: Mechanisms and Functions. *Front. Cell. Neurosci.* 13, 232.
- Dudai, Y. (2004). The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annu. Rev. Psychol.* 55, 51–86.
- Dudai, Y. (2012). The Restless Engram: Consolidations Never End. *Annu. Rev. Neurosci.* 35, 227–247.
- Dudai, Y., and Eisenberg, M. (2004). Rites of Passage of the Engram: Reconsolidation and the Lingering Consolidation Hypothesis. *Neuron* 44, 93–100.
- Dudai, Y., and Morris, R.G.M. (2013). Memorable Trends. *Neuron* 80, 742–750.
- Dudai, Y., Karni, A., and Born, J. (2015). The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron* 88, 20–32.
- Dumesnil, R., and Bonnet-Roy, F. (1947). *Les médecins célèbres* (Genève: Mazenot).
- Dunn, A.R., and Kaczorowski, C.C. (2019). Regulation of intrinsic excitability: Roles for learning and memory, aging and Alzheimer’s disease, and genetic diversity. *Neurobiology of Learning and Memory* 164, 107069.
- Dykiert, D., Der, G., Starr, J.M., and Deary, I.J. (2012). Age Differences in Intra-Individual Variability in Simple and Choice Reaction Time: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 7.
- Edelman, G. M. (2004). *Plus vaste que le ciel: une nouvelle théorie générale du cerveau* (Paris).
- Ehlers, M.D. (2000). Reinsertion or Degradation of AMPA Receptors Determined by Activity-Dependent Endocytic Sorting. *Neuron* 28, 511–525.
- Eichenbaum, H. (2000). A cortical–hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* 1, 41–50.
- Eichenbaum, H. (2004). Hippocampus: Cognitive Processes and Neural Representations that Underlie Declarative Memory. *Neuron* 44, 109–120.
- Eichenbaum, H. (2017). Prefrontal–hippocampal interactions in episodic memory. *Nat Rev Neurosci* 18, 547–558.
- 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. *Neuropsychopharmacol* 40, 480–487.
- Eldridge, L.L., Knowlton, B.J., Furmanski, C.S., Bookheimer, S.Y., and Engel, S.A. (2000). Remembering episodes: a selective role for the hippocampus during retrieval. *Nat Neurosci* 3, 1149–1152.
- Eslinger, P.J., and Damasio, A.R. (1985). Severe disturbance of higher cognition after bilateral frontal lobe ablation: Patient EVR. *Neurology* 35, 1731–1731.

- Euston, D.R., Gruber, A.J., and McNaughton, B.L. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron* 76, 1057–1070.
- Farovik, A., Place, R.J., McKenzie, S., Porter, B., Munro, C.E., and Eichenbaum, H. (2015). Orbitofrontal Cortex Encodes Memories within Value-Based Schemas and Represents Contexts That Guide Memory Retrieval. *Journal of Neuroscience* 35, 8333–8344.
- Ferrara, P., Andermarcher, E., Bossis, G., Acquaviva, C., Brockly, F., Jariel-Encontre, I., and Piechaczyk, M. (2003). The structural determinants responsible for c-Fos protein proteasomal degradation differ according to the conditions of expression. *Oncogene* 22, 1461–1474.
- Finch, D.M., Derian, E.L., and Babb, T.L. (1984). Afferent fibers to rat cingulate cortex. *Experimental Neurology* 83, 468–485.
- Finger, S. (2000). *Minds behind the brain* (New-York).
- Flavell, S.W., and Greenberg, M.E. (2008). Signaling Mechanisms Linking Neuronal Activity to Gene Expression and Plasticity of the Nervous System. *Annu. Rev. Neurosci.* 31, 563–590.
- Foster, D.J. (2017). Replay Comes of Age. *Annu. Rev. Neurosci.* 40, 581–602.
- Frankland, P.W., and Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6, 119–130.
- Frankland, P.W., O’Brien, C., Ohno, M., Kirkwood, A., and Silva, A.J. (2001). a-CaMKII-dependent plasticity in the cortex is required for permanent memory. *Nature* 411, 5.
- 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.
- Frey, S., and Petrides, M. (2002). Orbitofrontal Cortex and Memory Formation. *Neuron* 36, 171–176.
- Frey, U., and Morris, R.G.M. (1997). Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature* 385, 533–536.
- Frey, U., and Morris, R.G.M. (1998). Weak before strong: dissociating synaptic tagging and plasticity-factor accounts of late-LTP. *Neuropharmacology* 37, 545–552.
- Friston, K.J. (2011). Functional and Effective Connectivity: A Review. *Brain Connectivity* 1, 13–36.
- Furman, O., Mendelsohn, A., and Dudai, Y. (2012). The episodic engram transformed: Time reduces retrieval-related brain activity but correlates it with memory accuracy. *Learning & Memory* 19, 575–587.
- Fusi, S., Drew, P.J., and Abbott, L.F. (2005). Cascade Models of Synaptically Stored Memories. *Neuron* 45, 599–611.
- Fuster, J. (2001). The Prefrontal Cortex—An Update: Time is for the essence. *Neuron* 30.
- Gabriel, M., Kubota, Y., Sparenborg, S., Straube, K., and Vogt, B.A. (1991). Effects of cingulate cortical lesions on avoidance learning and training-induced unit activity in rabbits. *Exp Brain Res* 86.
- Gage, F.H., Chen, K.S., Buzsaki, G., and Armstrong, D. (1988). Experimental approaches to age-related cognitive impairments. *Neurobiology of Aging* 9, 645–655.
- Galef, B.G. (2002). Social influences on food choices of Norway rats and mate choices of Japanese quail. *Appetite* 39, 179–180.
- Galef, B.G. (2003). Social Learning of Food Preferences in Rodents: Rapid Appetitive Learning. In *Current Protocols in Neuroscience*, J.N. Crawley, C.R. Gerfen, M.A. Rogawski, D.R. Sibley, P. Skolnick, and S. Wray, eds. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.), p. ns0805ds21.
- Galef, B.G., and Beck, M. (1985). Aversive and attractive marking of toxic and safe foods by Norway rats. *Behavioral and Neural Biology* 43, 298–310.
- Galef, B.G., and Stein, M. (1985). Demonstrator influence on observer diet preference: Analyses of critical social interactions and olfactory signals. *Animal Learning & Behavior* 13, 31–38.
- Galef, B.G., and Whiskin, E.E. (1998). Limits on social influence on food choices of Norway rats. *Animal Behaviour* 56, 1015–1020.
- Galef, B.G., and Whiskin, E.E. (2008). ‘Conformity’ in Norway rats? *Animal Behaviour* 75, 2035–2039.
- Galef, B.G., Wigmore, S.W., and Kennett, D.J. (1983). A failure to find socially mediated taste aversion learning in Norway rats (*R norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology* 97, 358–363.

- Galef, B.G., Mason, J.R., Preti, G., and Bean, N.J. (1988). Carbon disulfide: A semiochemical mediating socially-induced diet choice in rats. *Physiology & Behavior* *42*, 119–124.
- Gallagher, M., and Rapp, P.R. (1997). The Use Of Animal Models To Study The Effects Of Aging On Cognition. *Annu. Rev. Psychol.* *48*, 339–370.
- Gallagher, M., Burwell, R., and Burchinal, M. (1993). Severity of Spatial Learning Impairment in Aging: Development of a Learning Index for Performance in the Morris Water Maze. *Behavioral Neuroscience* *107*, 618–626.
- Gallo, F.T., Katche, C., Morici, J.F., Medina, J.H., and Weisstaub, N.V. (2018). Immediate Early Genes, Memory and Psychiatric Disorders: Focus on c-Fos, Egr1 and Arc. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* *12*.
- Gandolfi, D., Cerri, S., Mapelli, J., Polimeni, M., Tritto, S., Fuzzati-Armentero, M.-T., Bigiani, A., Blandini, F., Mapelli, L., and D'Angelo, E. (2017). Activation of the CREB/c-Fos Pathway during Long-Term Synaptic Plasticity in the Cerebellum Granular Layer. *Front Cell Neurosci* *11*.
- García-Cabezas, M.Á., and Barbas, H. (2016). Anterior Cingulate Pathways May Affect Emotions Through Orbitofrontal Cortex. *Cereb. Cortex* *cercor*;bhw284v1.
- Gentz, R., Rauscher, F., Abate, C., and Curran, T. (1989). Parallel association of Fos and Jun leucine zippers juxtaposes DNA binding domains. *Science* *243*, 1695–1699.
- Genzel, L., Rossato, J.I., Jacobse, J., Grieves, R.M., Spooner, P.A., Battaglia, F.P., Fernández, G., and Morris, R.G.M. (2017). The Yin and Yang of Memory Consolidation: Hippocampal and Neocortical. *PLoS Biol* *15*, e2000531.
- Ghosh, V.E., and Gilboa, A. (2014). What is a memory schema? A historical perspective on current neuroscience literature. *Neuropsychologia* *53*, 104–114.
- Giannotti, G., Heinsbroek, J.A., Yue, A.J., Deisseroth, K., and Peters, J. (2019). Prefrontal cortex neuronal ensembles encoding fear drive fear expression during long-term memory retrieval. *Sci Rep* *9*, 10709.
- Giese, K.P., Fedorov, N., Filipkowski, R.K., and Silva, A.J. (1998). Autophosphorylation at Thr286 of the a Calcium-Calmodulin Kinase II in LTP and Learning. *Science* *279*.
- Gilbert, P.E., and Brushfield, A.M. (2009). The role of the CA3 hippocampal subregion in spatial memory: A process oriented behavioral assessment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* *33*, 774–781.
- Gilboa, A., Winocur, G., Rosenbaum, R.S., Poreh, A., Gao, F., Black, S.E., Westmacott, R., and Moscovitch, M. (2006). Hippocampal contributions to recollection in retrograde and anterograde amnesia. *Hippocampus* *16*, 966–980.
- Gisquet-Verrier, P., and Riccio, D. (2019). Comparing integration and contextual binding accounts of memory impairment. *Nat Rev Neurosci*.
- Gisquet-Verrier, P., and Riccio, D.C. (2018). Memory integration: An alternative to the consolidation/reconsolidation hypothesis. *Progress in Neurobiology* *171*, 15–31.
- Goldstein, N.S., Hewitt, S.M., Taylor, C.R., Yaziji, H., and Hicks, D.G. (2007). Recommendations for Improved Standardization of Immunohistochemistry: Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology *15*, 124–133.
- Golgi, C. (1873). Sulla struttura della grigia del cervello. *Gazzetta Medica Italiana Lombardia* *6*, 244–246.
- Gonzalez, C.L.R., Wishaw, I.Q., and Kolb, B. (2003). Complete sparing of spatial learning following posterior and posterior plus anterior cingulate cortex lesions at 10 days of age in the rat. *Neuroscience* *122*, 563–571.
- 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.
- Gouty-Colomer, L.A., Hosseini, B., Marcelo, I.M., Schreiber, J., Slump, D.E., Yamaguchi, S., Houweling, A.R., Jaarsma, D., Elgersma, Y., and Kushner, S.A. (2016). Arc expression identifies the lateral amygdala fear memory trace. *Molecular Psychiatry* *21*, 364–375.

- Gray, S.J., Foti, S.B., Schwartz, J.W., Bachaboina, L., Taylor-Blake, B., Coleman, J., Ehlers, M.D., Zylka, M.J., McCown, T.J., and Samulski, R.J. (2011). Optimizing Promoters for Recombinant Adeno-Associated Virus-Mediated Gene Expression in the Peripheral and Central Nervous System Using Self-Complementary Vectors. *Hum Gene Ther* 22, 1143–1153.
- Griffiths, G., and Lucocq, J.M. (2014). Antibodies for immunolabeling by light and electron microscopy: not for the faint hearted. *Histochemistry and Cell Biology* 142, 347–360.
- Gruart, A., Munoz, M.D., and Delgado-Gracia, J.M. (2006). Involvement of the CA3-CA1 Synapse in the Acquisition of Associative Learning in Behaving Mice. *Journal of Neuroscience* 26, 1077–1087.
- Guerrero Sastoque, L., Bouazzaoui, B., Burger, L., Froger, C., Isingrini, M., and Tacconat, L. (2019). Optimizing memory strategy use in young and older adults: The role of metamemory and internal strategy use. *Acta Psychologica* 192, 73–86.
- Guzowski, J.F., McNaughton, B.L., Barnes, C.A., and Worley, P.F. (1999). Environment-specific expression of the immediate-early gene *Arc* in hippocampal neuronal ensembles. *Nat Neurosci* 2, 1120–1124.
- Guzowski, J.F., Lyford, G.L., Stevenson, G.D., Houston, F.P., McGaugh, J.L., Worley, P.F., and Barnes, C.A. (2000). Inhibition of Activity-Dependent *Arc* Protein Expression in the Rat Hippocampus Impairs the Maintenance of Long-Term Potentiation and the Consolidation of Long-Term Memory. *The Journal of Neuroscience* 20, 3993–4001.
- Guzowski, J.F., Setlow, B., Wagner, E.K., and McGaugh, J.L. (2001). Experience-Dependent Gene Expression in the Rat Hippocampus after Spatial Learning: A Comparison of the Immediate-Early Genes *Arc*, *c-fos*, and *zif268*. *The Journal of Neuroscience* 21, 5089–5098.
- Haber, S., Kunishio, K., Mizobuchi, M., and Lynd-Balta, E. (1995). The orbital and medial prefrontal circuit through the primate basal ganglia. *J. Neurosci.* 15, 4851–4867.
- Haist, F., Gore, J.B., and Mao, H. (2001). Consolidation of human memory over decades revealed by functional magnetic resonance imaging. *Nat Neurosci* 4, 1139–1145.
- Hall, J., Thomas, K.L., and Everitt, B.J. (2001). Cellular Imaging of *zif268* Expression in the Hippocampus and Amygdala during Contextual and Cued Fear Memory Retrieval: Selective Activation of Hippocampal CA1 Neurons during the Recall of Contextual Memories. *J. Neurosci.* 21, 2186–2193.
- Halt, A.R., Dallapiazza, R.F., Zhou, Y., Stein, I.S., Qian, H., Juntti, S., Wojcik, S., Brose, N., Silva, A.J., and Hell, J.W. (2012). CaMKII binding to GluN2B is critical during memory consolidation. *The EMBO Journal* 31, 1203–1216.
- Han, J.-H., Kushner, S.A., Yiu, A.P., Cole, C.J., Matynia, A., Brown, R.A., Neve, R.L., Guzowski, J.F., Silva, A.J., and Josselyn, S.A. (2007). Neuronal Competition and Selection During Memory Formation. *Science* 316, 457–460.
- Han, J.-H., Kushner, S.A., Yiu, A.P., Buch, T., Waisman, A., Bontempi, B., Neve, R.L., Frankland, P.W., and Josselyn, S.A. (2009). Selective Erasure of a Fear Memory. *Science* 323, 6.
- Hardt, O., Miguez, P.V., Hastings, M., Wong, J., and Nader, K. (2010). PKM ζ maintains 1-day- and 6-day-old long-term object location but not object identity memory in dorsal hippocampus. *Hippocampus NA-NA*.
- Hardt, O., Nader, K., and Nadel, L. (2013). Decay happens: the role of active forgetting in memory. *Trends in Cognitive Sciences* 17, 111–120.
- Harvey, C.D., and Svoboda, K. (2007). Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. *Nature* 450, 1195–1200.
- Hayashi, M.L., Choi, S.-Y., Rao, B.S.S., Jung, H.-Y., Lee, H.-K., Zhang, D., Chattarji, S., Kirkwood, A., and Tonegawa, S. (2004). Altered Cortical Synaptic Morphology and Impaired Memory Consolidation in Forebrain-Specific Dominant-Negative PAK Transgenic Mice. *Neuron* 42, 773–787.
- He, Y., Chen, Z.J., and Evans, A.C. (2007). Small-World Anatomical Networks in the Human Brain Revealed by Cortical Thickness from MRI. *Cerebral Cortex* 17, 2407–2419.
- Hebb, D. (1949). *The Organization of Behavior; a Neuropsychological Theory* (New-York: Wiley).

- Herdegen, T., and Leah, J.D. (1998). Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREBrATF proteins. *Brain Research Reviews* 121.
- Hertzog, C., Lövdén, M., Lindenberger, U., and Schmiedek, F. (2017). Age differences in coupling of intraindividual variability in mnemonic strategies and practice-related associative recall improvements. *Psychology and Aging* 32, 557–571.
- Hilgetag, C., Burns, G.A.P.C., O’Neill, M.A., Scannell, J.W., and Young, M.P. (2000). Anatomical connectivity defines the organization of clusters of cortical areas in the macaque and the cat. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 355, 91–110.
- Hinault, T., Lemaire, P., and Touron, D. (2017a). Aging effects in sequential modulations of poorer-strategy effects during execution of memory strategies. *Memory* 25, 176–186.
- Hinault, T., Lemaire, P., and Touron, D. (2017b). Strategy combination during execution of memory strategies in young and older adults. *Memory* 25, 619–625.
- Hitti, F.L., and Siegelbaum, S.A. (2014). The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature* 508, 88–92.
- Hoffman, G.E., Smith, M.S., and Verbalis, J.G. (1993). c-Fos and related IEG products as markers of acT in neuroendocrine systems.pdf. *Frontiers in Neuroendocrinology* 14, 173–213.
- Holtmaat, A., and Svoboda, K. (2009). Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat Rev Neurosci* 10, 647–658.
- Hooke, R. (1667). *Micrographia: or some physiological descriptions of minute body made by magnifying glasses* (Londres: J. Martyn and J. Allestry).
- 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.
- Hoover, W.B., and Vertes, R.P. (2011). Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 519, 3766–3801.
- Horwitz, B., McIntosh, A.R., Haxby, J.V., and Grady, C.L. (1995). Network analysis of brain cognitive function using metabolic and blood flow data. *Behavioural Brain Research* 66, 187–193.
- Huerta, P.T., Sun, L.D., Wilson, M.A., and Tonegawa, S. (2000). Formation of Temporal Memory Requires NMDA Receptors within CA1 Pyramidal Neurons. *Neuron* 25, 473–480.
- Jaffard, R., and Meunier, M. (1993). Role of the hippocampal formation in learning and memory. *Hippocampus* 3, 203–218.
- Jay, T.M., and Witter, M.P. (1991). Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport ofPhaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J. Comp. Neurol.* 313, 574–586.
- Jeffery, K.J., Abraham, W.C., Dragunow, M., and Mason, S.E. (1990). Induction of Fos-like immunoreactivity and the maintenance of long-term potentiation in the dentate gyrus of unanesthetized rats. *Molecular Brain Research* 8, 267–274.
- Ji, D., and Wilson, M.A. (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 10, 100–107.
- Jones, E.G. (2000). Plasticity and Neuroplasticity. *Journal of the History of the Neurosciences* 9, 37–39.
- Jones, E.G. (2004). Plasticity and neuroplasticity. *Journal Of The History Of The Neurosciences* 13, 293–293.
- Jones, B.F., and Witter, M.P. (2007). Cingulate cortex projections to the parahippocampal region and hippocampal formation in the rat. *Hippocampus* 17, 957–976.
- Jones, M.W., Errington, M.L., French, P.J., Fine, A., Bliss, T.V.P., Garel, S., Charnay, P., Bozon, B., Laroche, S., and Davis, S. (2001). A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci* 4, 289–296.

- Jones, R.N., Rosenberg, A.L., Morris, J.N., Allaire, J.C., McCoy, K.J.M., Marsiske, M., Kleinman, K.P., Rebok, G.W., and Malloy, P.F. (2005). A Growth Curve Model Of Learning Acquisition Among Cognitively Normal Older Adults. *Exp Aging Res* 31, 291–312.
- Josselyn, S.A., Shi, C., Carlezon, W.A., Neve, R.L., Nestler, E.J., and Davis, M. (2001). Long-Term Memory Is Facilitated by cAMP Response Element-Binding Protein Overexpression in the Amygdala. *The Journal of Neuroscience* 21, 2404–2412.
- Josselyn, S.A., Köhler, S., and Frankland, P.W. (2015). Finding the engram. *Nature Reviews Neuroscience* 16, 521–534.
- Josselyn, S.A., Köhler, S., and Frankland, P.W. (2017). Heroes of the Engram. *J. Neurosci.* 37, 4647–4657.
- Kaczmarek, L. (1999). Sensory Regulation of Immediate-early Genes c-fos and zif268 in Monkey Visual Cortex at Birth and Throughout the Critical Period. *Cerebral Cortex* 9, 179–187.
- Kádár, E., Vico-Varela, E., Aldavert-Vera, L., Huguet, G., Morgado-Bernal, I., and Segura-Torres, P. (2016). Increase in c-Fos and Arc protein in retrosplenial cortex after memory-improving lateral hypothalamic electrical stimulation treatment. *Neurobiology of Learning and Memory* 128, 117–124.
- Kandel, E.R. (2001). The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses. *Science* 294, 1030–1038.
- Kang, H., Sun, L.D., Atkins, C.M., Soderling, T.R., Wilson, M.A., and Tonegawa, S. (2001). An Important Role of Neural Activity-Dependent CaMKIV Signaling in the Consolidation of Long-Term Memory. *Cell* 106, 771–783.
- Kasai, N., Ramanujan, C.S., Fujimoto, I., Shimada, A., Ryan, J.F., and Torimitsu, K. (2010). AFM observation of single, functioning ionotropic glutamate receptors reconstituted in lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1800, 655–661.
- Katche, C., and Medina, J.H. (2017). Requirement of an Early Activation of BDNF/c-Fos Cascade in the Retrosplenial Cortex for the Persistence of a Long-Lasting Aversive Memory. *Cerebral Cortex* 27, 1060–1067.
- Katche, C., Bekinschtein, P., Slipczuk, L., Goldin, A., Izquierdo, I.A., Cammarota, M., and Medina, J.H. (2010). Delayed wave of c-Fos expression in the dorsal hippocampus involved specifically in persistence of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 349–354.
- Kentros, C. (2006). Hippocampal place cells: The “where” of episodic memory? *Hippocampus* 16, 743–754.
- Kentros, C., Hargreaves, E., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., Shapiro, M., and Muller, R.V. (1998). Abolition of Long-Term Stability of New Hippocampal Place Cell Maps by NMDA Receptor Blockade. *Science* 280, 2121–2126.
- Kim, J., and Fanselow, M. (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 675–677.
- Kim, J., and Ragozzino, M. (2005). The involvement of the orbitofrontal cortex in learning under changing task contingencies. *Neurobiology of Learning and Memory* 83, 125–133.
- Kim, J.J., and Baxter, M.G. (2001). Multiple brain-memory systems: the whole does not equal the sum of its parts. *Trends in Neurosciences* 24, 324–330.
- Kim, J., Wasserman, E.A., Castro, L., and Freeman, J.H. (2016). Anterior cingulate cortex inactivation impairs rodent visual selective attention and prospective memory. *Behav Neurosci* 130, 75–90.
- Kirwan, C.B., Bayley, P.J., Galvan, V.V., and Squire, L.R. (2008). Detailed recollection of remote autobiographical memory after damage to the medial temporal lobe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 2676–2680.
- Kitamura, T., Ogawa, S.K., Roy, D.S., Okuyama, T., Morrissey, M.D., Smith, L.M., Redondo, R.L., and Tonegawa, S. (2017). Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science* 356, 73–78.
- Kondo, H., and Witter, M.P. (2014). Topographic organization of orbitofrontal projections to the parahippocampal region in rats: Orbitofrontal Projections to the Rat Parahippocampal Region. *J. Comp. Neurol.* 522, 772–793.

- Kovary, K., and Bravo, R. (1991). Expression of different Jun and Fos proteins during the G0-to-G1 transition in mouse fibroblasts: in vitro and in vivo associations. *Mol Cell Biol* *11*, 2451–2459.
- Kovary, K., and Bravo, R. (1992). Existence of Different Fos/Jun Complexes during the Go-to-G1 Transition and during Exponential Growth in Mouse Fibroblasts: Differential Role of Fos Proteins. *MOL. CELL. BIOL.* *12*, 9.
- Lamprecht, R., and LeDoux, J. (2004). Structural plasticity and memory. *Nat Rev Neurosci* *5*, 45–54.
- Lanahan, A., and Worley, P. (1998). Immediate-Early Genes and Synaptic Function. *Neurobiology of Learning and Memory* *70*, 37–43.
- Lantéri-Laura, G. (1970). Histoire de la phrénologie. L’homme et son cerveau selon F. J. Gall. (Paris).
- Lashley, K. (1950). In search of the engram. (Cambridge: Cambridge England University Press), pp. 454–482.
- Lavenex, P., and Amaral, D.G. (2000). Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity. *Hippocampus* *10*, 420–430.
- Lavenex, P., Suzuki, W.A., and Amaral, D.G. (2002). Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: Projections to the neocortex. *J. Comp. Neurol.* *447*, 394–420.
- 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.
- Lazzouni, L., and Lepore, F. (2014). Compensatory plasticity: time matters. *Front Hum Neurosci* *8*.
- Lechner, H.A., Squire, L.R., and Byrne, J.H. (1999). 100 Years of Consolidation— Remembering Müller and Pilzecker. *Learn. Mem.* *6*, 77–87.
- Lee, A.M., Kanter, B.R., Wang, D., Lim, J.P., Zou, M.E., Qiu, C., McMahon, T., Dadgar, J., Fischbach-Weiss, S.C., and Messing, R.O. (2013). Prkcz null mice show normal learning and memory. *Nature* *493*, 416–419.
- Lee, J.L.C., Everitt, B.J., and Thomas, K.L. (2004). Independent Cellular Processes for Hippocampal Memory Consolidation and Reconsolidation. *Science* *304*, 839–843.
- Lee, K., Jung, J., Arii, T., Imoto, K., and Rhyu, I. (2007). Morphological changes in dendritic spines of Purkinje cells associated with motor learning. *Neurobiology of Learning and Memory* *88*, 445–450.
- Lee, W., Mitchell, P., and Tjian, R. (1987). Purified transcription factor AP-1 interacts with TPA-inducible enhancer elements. *Cell* *49*, 741–752.
- Lehmann, H., Lacanilao, S., and Sutherland, R.J. (2007). Complete or partial hippocampal damage produces equivalent retrograde amnesia for remote contextual fear memories: Retrograde amnesia for contextual fear memories. *European Journal of Neuroscience* *25*, 1278–1286.
- Lehmann, J., Colpaert, F., and Canton, H. (1991). Glutamate and glycine co-activate while polyamines merely modulate the NMDA receptor complex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* *15*, 183–190.
- Lemaire, V., Arousseau, C., Le Moal, M., and Abrous, D.N. (1999). Behavioural trait of reactivity to novelty is related to hippocampal neurogenesis: Inter-individual differences in neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* *11*, 4006–4014.
- Leroy, F., Park, J., Asok, A., Brann, D.H., Meira, T., Boyle, L.M., Buss, E.W., Kandel, E.R., and Siegelbaum, S.A. (2018). A circuit from hippocampal CA2 to lateral septum disinhibits social aggression. *Nature* *564*, 213–218.
- Lesburgueres, E., Gobbo, O.L., Alaux-Cantin, S., Hambucken, A., Trifilieff, P., and Bontempi, B. (2011). Early Tagging of Cortical Networks Is Required for the Formation of Enduring Associative Memory. *Science* *331*, 924–928.
- Levine, B., Svoboda, E., Hay, J.F., Winocur, G., and Moscovitch, M. (2002). Aging and autobiographical memory: Dissociating episodic from semantic retrieval. *Psychology and Aging* *17*, 677–689.
- Levy, W.B., and Steward, O. (1983). Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience* *8*, 791–797.

- Levy, D.A., Manns, J.R., Hopkins, R.O., Gold, J.J., and Squire, L.R. (2003). Impaired Visual and Odor Recognition Memory Span in Patients With Hippocampal Lesions. *Learn Mem* 10, 531–536.
- Li, Z., Jo, J., Jia, J.-M., Lo, S.-C., Whitcomb, D.J., Jiao, S., Cho, K., and Sheng, M. (2010). Caspase-3 Activation via Mitochondria Is Required for Long-Term Depression and AMPA Receptor Internalization. *Cell* 141, 859–871.
- Lieury, A., Brion, S., and Dupont, J.-C. Mémoire.
- Ling, D.S.F., Benardo, L.S., Serrano, P.A., Blace, N., Kelly, M.T., Crary, J.F., and Sacktor, T.C. (2002). Protein kinase M ζ is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat Neurosci* 5, 295–296.
- Ling, D.S.F., Benardo, L.S., and Sacktor, T.C. (2006). Protein kinase M ζ enhances excitatory synaptic transmission by increasing the number of active postsynaptic AMPA receptors. *Hippocampus* 16, 443–452.
- Link, W., Konietzko, U., Kauselmann, G., Krug, M., Schwanke, B., Frey, U., and Kuhl, D. (1995). Somatodendritic expression of an immediate early gene is regulated by synaptic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92, 5734–5738.
- Lisman, J. (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86, 9574–9578.
- Lisman, J., Yasuda, R., and Raghavachari, S. (2012). Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nat Rev Neurosci* 13, 169–182.
- Lisman, J., Cooper, K., Sehgal, M., and Silva, A.J. (2018). Memory formation depends on both synapse-specific modifications of synaptic strength and cell-specific increases in excitability. *Nature Neuroscience* 21, 309–314.
- Liu, F., Zheng, X.-L., and Li, B.-M. (2009). The anterior cingulate cortex is involved in retrieval of long-term/long-lasting but not short-term memory for step-through inhibitory avoidance in rats. *Neuroscience Letters* 460, 175–179.
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P.T., Puryear, C.B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., and Tonegawa, S. (2012). Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* 484, 381–385.
- Loeblich, S., and Nedivi, E. (2009). The Function of Activity-Regulated Genes in the Nervous System. *Physiol Rev* 89, 1079–1103.
- Long, C.J., Puschel, K., and Hunter, S.E. (1978). Assessment of the effects of cingulate gyrus lesions by neuropsychological techniques. *Journal of Neurosurgery* 49, 264–271.
- Loureiro, M., Achargui, R., Flakowski, J., Van Zessen, R., Stefanelli, T., Pascoli, V., and Lüscher, C. (2019). Social transmission of food safety depends on synaptic plasticity in the prefrontal cortex. *Science* 364, 991–995.
- Lowe, D. (2016). Trouble at Santa Cruz Biotechnology.
- Lund, P.K., Hoyt, E.C., Bizon, J., Smith, D.R., Haberman, R., Helm, K., and Gallagher, M. (2004). Transcriptional mechanisms of hippocampal aging. *Experimental Gerontology* 39, 1613–1622.
- Lyford, G.L., Yamagata, K., Kaufmann, W.E., Sanders, L.K., Copeland, N.G., Gilbert, D.J., Jenkins, I.N.A., Lanahan, A.A., and Worley, P.F. (1995). Arc, a Growth Factor and Activity-Regulated Gene, Encodes a Novel C oskeleton-Associated Protein That Is Enriched in Neuronal Dendrites. *Neuron* 14, 433–445.
- Magee, J.C., and Johnston, D. (1997). A Synaptically Controlled, Associative Signal for Hebbian Plasticity in Hippocampal Neurons. *Science* 275, 209–213.
- Maharjan, D.M., Dai, Y.Y., Glantz, E.H., and Jadhav, S.P. (2018). Disruption of dorsal hippocampal – prefrontal interactions using chemogenetic inactivation impairs spatial learning. *Neurobiology of Learning and Memory* 155, 351–360.
- Malenka, R.C., and Bear, M.F. (2004). LTP and LTD : An Embarrassment of Riches. *Neuron* 44, 5–21.
- Mansuy, I.M., and Shenolikar, S. (2006). Protein serine/threonine phosphatases in neuronal plasticity and disorders of learning and memory. *Trends in Neurosciences* 29, 679–686.
- Marinesco, G. (1906). Etudes sur le mécanisme de la régénérescence des fibres nerveuses des nerfs périphériques. *J. Psychol. Neurol* 7, 140–171.

- Marinesco, G. (1907). Plasticité et amiboïsme des cellules des ganglions sensitifs. *Revue Neurologique* 21, 1109.
- Markowska, A.L., Stone, W.S., Ingram, D.K., Reynolds, J., Gold, P.E., Conti, L.H., Pontecorvo, M.J., Wenk, G.L., and Olton, D.S. (1989). Individual differences in aging: Behavioral and neurobiological correlates. *Neurobiology of Aging* 10, 31–43.
- Marr, D. (1971). Simple memory: a theory for archicortex. *Biological Sciences* 262, 23–81.
- Marshall, J.F., Henry, B.L., Billings, L.M., and Hoover, B.R. (2001). The role of the globus pallidus D2 subfamily of dopamine receptors in pallidal immediate early gene expression. *Neuroscience* 105, 365–378.
- Martin, S.J., Grimwood, P.D., and Morris, R.G.M. (2000). Synaptic Plasticity and Memory: An Evaluation of the Hypothesis. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 649–711.
- Martin, S.J., de Hoz, L., and Morris, R.G.M. (2005). Retrograde amnesia: neither partial nor complete hippocampal lesions in rats result in preferential sparing of remote spatial memory, even after reminding. *Neuropsychologia* 43, 609–624.
- Matsuo, N. (2015). Irreplaceability of Neuronal Ensembles after Memory Allocation. *Cell Reports* 11, 351–357.
- Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G.C.R., and Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 429, 761–766.
- Maviel, T., Durkin, T., Menzaghi, F., and Bontempi, B. (2004). Sites of Neocortical Reorganization Critical for Remote Spatial Memory. *Science* 305, 96–99.
- Mayford, M., Wang, J., Kandel, E.R., and O’Dell, T.J. (1995). CaMKII regulates the frequency-response function of hippocampal synapses for the production of both LTD and LTP. *Cell* 81, 891–904.
- Mayford, M., Baranes, D., Podsypanina, K., and Kandel, E.R. (1996). The 3’-untranslated region of CaMKII is a cis-acting signal for the localization and translation of mRNA in dendrites. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93, 13250–13255.
- McClelland, J.L., McNaughton, B.L., and O’Reilly, R.C. (1995). Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: Insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological Review* 102, 419–457.
- McDonald, R.J., and White, N.M. (1994). Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behavioral and Neural Biology* 61, 260–270.
- McDonald, R.J., Devan, B.D., and Hong, N.S. (2004a). Multiple memory systems: The power of interactions. *Neurobiology of Learning and Memory* 82, 333–346.
- McDonald, R.J., Hong, N.S., and Devan, B.D. (2004b). The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: an interactive learning and memory systems approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 28, 719–745.
- McHugh, T.J., Blum, K.I., Tsien, J.Z., Tonegawa, S., and Wilson, M.A. (1996). Impaired Hippocampal Representation of Space in CA1-Specific NMDAR1 Knockout Mice. *Cell* 87, 1339–1349.
- McIntosh, A.R. (1999). Mapping Cognition to the Brain Through Neural Interactions. *Memory* 7, 523–548.
- Meira, T., Leroy, F., Buss, E.W., Oliva, A., Park, J., and Siegelbaum, S.A. (2018). A hippocampal circuit linking dorsal CA2 to ventral CA1 critical for social memory dynamics. *Nat Commun* 9, 4163.
- Mello, C.V., and Ribeiro, S. (1998). ZENK protein regulation by song in the brain of songbirds. *The Journal of Comparative Neurology* 13.
- Melnikova, T., Fromholt, S., Kim, H., Lee, D., Xu, G., Price, A., Moore, B.D., Golde, T.E., Felsenstein, K.M., Savonenko, A., et al. (2013). Reversible Pathologic and Cognitive Phenotypes in an Inducible Model of Alzheimer-Amyloidosis. *J Neurosci* 33, 3765–3779.
- Meunier, M., and Destrade, C. (1988). Electrolytic but not ibotenic acid lesions of the posterior cingulate cortex produce transitory facilitation of learning in mice. *Behavioural Brain Research* 27, 161–172.

- Migaud, M., Charlesworth, P., Dempster, M., Webster, L.C., Watabe, A.M., Makhinson, M., He, Y., Ramsay, M.F., Morris, R.G.M., Morrison, J.H., et al. (1998). Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein. *Nature* 396, 433–439.
- Migues, P.V., Hardt, O., Wu, D.C., Gamache, K., Sacktor, T.C., Wang, Y.T., and Nader, K. (2010). PKM ζ maintains memories by regulating GluR2-dependent AMPA receptor trafficking. *Nat Neurosci* 13, 630–634.
- Miller, E.A., and Weissert, W.G. (2003). Models, measures, and methods: variability in aging research. *Home Health Care Serv Q* 22, 43–67.
- Millet, R., Rossi, A., Ploquin, A., Epstein, A.L., Greco, A., and Salvetti, A. (2013). Les vecteurs AAV pour le transfert de gène in vivo ou comment un petit virus devient grand. *Virologie* 17, 11.
- Minatohara, K., Akiyoshi, M., and Okuno, H. (2016). Role of Immediate-Early Genes in Synaptic Plasticity and Neuronal Ensembles Underlying the Memory Trace. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 8.
- Minea, I. (1909). Cercetări experimentale asupra variațiilor morfologice ale neuronului sensitiv (studiul ‘reacțiunii plastice’). Brozer and Parzer.
- Miyashita, T., Kikuchi, E., Horiuchi, J., and Saitoe, M. (2018). Long-Term Memory Engram Cells Are Established by c-Fos/CREB Transcriptional Cycling. *Cell Reports* 25, 2716–2728.e3.
- Morgan, J.I., and Curran, T. (1989). Stimulus-transcription coupling in neurons: role of cellular immediate-early genes. *Trends in Neurosciences* 12, 459–462.
- Morris, R.G.M. (2006). Elements of a neurobiological theory of hippocampal function: the role of synaptic plasticity, synaptic tagging and schemas. *European Journal of Neuroscience* 23, 2829–2846.
- Morris, R.G.M. (2013). NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology* 74, 32–40.
- Morris, K.A., and Gold, P.E. (2012). Age-related impairments in memory and in CREB and pCREB expression in hippocampus and amygdala following inhibitory avoidance training. *Mechanisms of Ageing and Development* 133, 291–299.
- Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P., and O’Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297, 681–683.
- Morris, R.G.M., Anderson, E., Lynch, G.S., and Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319, 774–776.
- Moscovitch, M., and Nadel, L. (1998). Consolidation and the hippocampal complex revisited: in defense of the multiple-trace model. *Current Opinion in Neurobiology* 8, 297–300.
- Moscovitch, M., Rosenbaum, R.S., Gilboa, A., Addis, D.R., Westmacott, R., Grady, C., McAndrews, M.P., Levine, B., Black, S., Winocur, G., et al. (2005). Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J Anat* 207, 35–66.
- 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.
- Mugnaini, E., Berrebi, A.S., Morgan, J.I., and Curran, T. (1989). Fos-Like Immunoreactivity Induced by Seizure in Mice Is Specifically Associated With Euchromatin in Neurons. *European Journal of Neuroscience* 1, 46–52.
- Mulkey, R., Herron, C., and Malenka, R. (1993). An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 261, 1051–1055.
- Mulkey, R.M., Endo, S., Shenolikar, S., and Malenka, R.C. (1994). Involvement of a calcineurin/ inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 369, 486–488.
- Müller, G.E., and Pilzecker, A. (1900). Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtniss (Leipzig: J.A. Barth).
- Mumby, D.G., and Glenn, M.J. (2000). Anterograde and retrograde memory for object discriminations and places in rats with perirhinal cortex lesions. *Behavioural Brain Research* 114, 119–134.

- Murphy, L.O., and Blenis, J. (2006). MAPK signal specificity: the right place at the right time. *Trends in Biochemical Sciences* 31, 268–275.
- Nadel, L., and Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Cognitive Neuroscience* 7, 217–227.
- Nadel, L., Winocur, G., Ryan, L., and Moscovitch, M. (2007). Systems consolidation and hippocampus: two views. *Debates in Neuroscience* 1, 55–66.
- Nägerl, U.V., Eberhorn, N., Cambridge, S.B., and Bonhoeffer, T. (2004). Bidirectional Activity-Dependent Morphological Plasticity in Hippocampal Neurons. *Neuron* 44, 759–767.
- Naseem, M., Tabassum, H., and Parvez, S. (2019). PKM- ζ Expression Is Important in Consolidation of Memory in Prelimbic Cortex Formed by the Process of Behavioral Tagging. *Neuroscience* 410, 305–315.
- Nevian, T., and Sakmann, B. (2006). Spine Ca²⁺ Signaling in Spike-Timing-Dependent Plasticity. *Journal of Neuroscience* 26, 11001–11013.
- Newman, M.C., and Kaszniak, A.W. (2000). Spatial Memory and Aging: Performance on a Human Analog of the Morris Water Maze. *Aging, Neuropsychology, and Cognition* 7, 86–93.
- Nicoll, R.A., and Malenka, R.C. (1999a). Expression Mechanisms Underlying NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation. *Annals NY Acad Sci* 868, 515–525.
- Nicoll, R.A., and Malenka, R.C. (1999b). Leaky Synapses. *Neuron* 197–198.
- O’Doherty, J., Kringelbach, M.L., Rolls, E.T., Hornak, J., and Andrews, C. (2001). Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nat Neurosci* 4, 95–102.
- O’Donovan, K.J., Tourtellotte, W.G., Millbrandt, J., and Baraban, J.M. (1999). The EGR family of transcription-regulatory factors: progress at the interface of molecular and systems neuroscience. *Trends in Neurosciences* 22, 167–173.
- Oh, M.M., Kuo, A.G., Wu, W.W., Sametsky, E.A., and Disterhoft, J.F. (2003). Watermaze Learning Enhances Excitability of CA1 Pyramidal Neurons. *Journal of Neurophysiology* 90, 2171–2179.
- Ohkawa, N., Saitoh, Y., Suzuki, A., Tsujimura, S., Murayama, E., Kosugi, S., Nishizono, H., Matsuo, M., Takahashi, Y., Nagase, M., et al. (2015). Artificial Association of Pre-stored Information to Generate a Qualitatively New Memory. *Cell Reports* 11, 261–269.
- Okamoto, K., Bosch, M., and Hayashi, Y. (2009). The Roles of CaMKII and F-Actin in the Structural Plasticity of Dendritic Spines: A Potential Molecular Identity of a Synaptic Tag? *Physiology* 24, 357–366.
- O’Keefe, J., and Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research* 34, 171–175.
- O’Keefe, J., and Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map* (Oxford : New York: Clarendon Press ; Oxford University Press).
- Okuno, H. (2011). Regulation and function of immediate-early genes in the brain: Beyond neuronal activity markers. *Neuroscience Research* 69, 175–186.
- Okuno, H., Akashi, K., Ishii, Y., Yagishita-Kyo, N., Suzuki, K., Nonaka, M., Kawashima, T., Fujii, H., Takemoto-Kimura, S., Abe, M., et al. (2012). Inverse Synaptic Tagging of Inactive Synapses via Dynamic Interaction of Arc/Arg3.1 with CaMKII β . *Cell* 149, 886–898.
- Ólafsdóttir, H.F., Bush, D., and Barry, C. (2018). The Role of Hippocampal Replay in Memory and Planning. *Current Biology* 28, R37–R50.
- Oliveira, M.G.M., Bueno, O.F.A., Pomarico, A.C., and Gugliano, E.B. (1997). Strategies Used by Hippocampal- and Caudate-Putamen-Lesioned Rats in a Learning Task. *Neurobiology of Learning and Memory* 68, 32–41.
- Olton, D.S. (1991). Experimental strategies to identify the neurobiological bases of memory: lesions. In *Learning and Memory: A Biological View*. (Martinez J. L., Jr and Kesner, R.P.).
- O’Neill, J., Pleydell-Bouverie, B., Dupret, D., and Csicsvari, J. (2010). Play it again: reactivation of waking experience and memory. *Trends in Neurosciences* 33, 220–229.

- Packard, M.G. (1999). Glutamate infused posttraining into the hippocampus or caudate-putamen differentially strengthens place and response learning. *Proc Natl Acad Sci U S A* *96*, 12881–12886.
- Packard, M.G., and McGaugh, J.L. (1996). Inactivation of Hippocampus or Caudate Nucleus with Lidocaine Differentially Affects Expression of Place and Response Learning. *Neurobiology of Learning and Memory* *65*, 65–72.
- Pan, X., and Sakagami, M. (2012). Category representation and generalization in the prefrontal cortex: Category representation and generalization in the prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience* *35*, 1083–1091.
- Parent, A. (2009). Histoire du cerveau, de l'Antiquité aux neurosciences (Chroniques Sociales).
- Park, S., Kramer, E.E., Mercaldo, V., Rashid, A.J., Insel, N., Frankland, P.W., and Josselyn, S.A. (2016). Neuronal Allocation to a Hippocampal Engram. *Neuropsychopharmacology* *41*, 2987–2993.
- Passino, E., Middei, S., Restivo, L., Bertaina-Anglade, V., and Ammassari-Teule, M. (2002). Genetic approach to variability of memory systems: Analysis of place vs. response learning and Fos-related expression in hippocampal and striatal areas of C57BL/6 and DBA/2 mice. *Hippocampus* *12*, 63–75.
- Pastalkova, E. (2006). Storage of Spatial Information by the Maintenance Mechanism of LTP. *Science* *313*, 1141–1144.
- Paxinos, G., and Watson, C. (1998). The rat brain, in stereotaxic coordinates.
- Peng, Y., Zhao, J., Gu, Q.-H., Chen, R.-Q., Xu, Z., Yan, J.-Z., Wang, S.-H., Liu, S.-Y., Chen, Z., and Lu, W. (2010). Distinct trafficking and expression mechanisms underlie LTP and LTD of NMDA receptor-mediated synaptic responses. *Hippocampus* NA-NA.
- Pezze, M.A., Marshall, H.J., Fone, K.C., and Cassaday, H.J. (2017). Role of the anterior cingulate cortex in the retrieval of novel object recognition memory after a long delay. *Learn. Mem.* *24*, 310–317.
- Phillips, M.L., Robinson, H.A., and Pozzo-Miller, L. (2019). Ventral hippocampal projections to the medial prefrontal cortex regulate social memory. *ELife* *8*.
- Piazza, P., Deminiere, J., Le Moal, M., and Simon, H. (1989). Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* *245*, 1511–1513.
- Pignatelli, M., Ryan, T.J., Roy, D.S., Lovett, C., Smith, L.M., Muralidhar, S., and Tonegawa, S. (2019). Engram Cell Excitability State Determines the Efficacy of Memory Retrieval. *Neuron* *101*, 274–284.e5.
- Pinaud, R. (2004). Experience-dependent immediate early gene expression in the adult central nervous system: evidence from enriched-environment studies. *International Journal of Neuroscience* *114*, 321–333.
- Piskorowski, R.A., and Chevaleyre, V. (2018). Memory circuits: CA2. *Current Opinion in Neurobiology* *52*, 54–59.
- Plath, N., Ohana, O., Dammermann, B., Errington, M.L., Schmitz, D., Gross, C., Mao, X., Engelsberg, A., Mahlke, C., Welzl, H., et al. (2006). *Arc/Arg3.1* Is Essential for the Consolidation of Synaptic Plasticity and Memories. *Neuron* *52*, 437–444.
- Poldrack, R.A., and Packard, M.G. (2003). Competition among multiple memory systems: converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia* *41*, 245–251.
- Poo, M., Pignatelli, M., Ryan, T.J., Tonegawa, S., Bonhoeffer, T., Martin, K.C., Rudenko, A., Tsai, L.-H., Tsien, R.W., Fishell, G., et al. (2016). What is memory? The present state of the engram. *BMC Biology* *14*.
- Portal, M.M., Ferrero, G.O., and Caputto, B.L. (2007). N-Terminal c-Fos tyrosine phosphorylation regulates c-Fos/ER association and c-Fos-dependent phospholipid synthesis activation. *Oncogene* *26*, 3551–3558.
- Posadas-Andrews, A., and Roper, T.J. (1983). Social transmission of food-preferences in adult rats. *Animal Behaviour* *31*, 265–271.
- Preston, A.R., and Eichenbaum, H. (2013). Interplay of Hippocampus and Prefrontal Cortex in Memory. *Current Biology* *23*, R764–R773.
- Purkyne, J.E. (1838). Bericht über die Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Prague im September 1838 (Prague: Anatomisch-Physiologisch Verhandlungen).

- Quintilianus, M.F., and traduit par Ouizille, C.V. (1829). *Institution oratoire de Quintilien*, traduit par C.V. Ouizille (Paris: C. F. Panckoucke).
- Racine, R.J., Milgram, N.W., and Hafner, S. (1983). Long-term potentiation phenomena in the rat limbic forebrain. *Brain Research* 260, 217–231.
- Racine, R.J., Andrew Chapman, C., Trepel, C., Campbell Teskey, G., and Milgram, N.W. (1995). Post-activation potentiation in the neocortex. IV. Multiple sessions required for induction of long-term potentiation in the chronic preparation. *Brain Research* 702, 87–93.
- Raisman, G. (1969). Neuronal plasticity in the septal nuclei of the adult rat. *Brain Research* 14, 25–48.
- Rajasethupathy, P., Sankaran, S., Marshel, J.H., Kim, C.K., Ferenczi, E., Lee, S.Y., Berndt, A., Ramakrishnan, C., Jaffe, A., Lo, M., et al. (2015). Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature* 526, 653–659.
- Ramirez, S., Liu, X., Lin, P.-A., Suh, J., Pignatelli, M., Redondo, R.L., Ryan, T.J., and Tonegawa, S. (2013). Creating a False Memory in the Hippocampus. *Science* 341, 387–391.
- Ramirez-Amaya, V. (2005). Spatial Exploration-Induced Arc mRNA and Protein Expression: Evidence for Selective, Network-Specific Reactivation. *Journal of Neuroscience* 25, 1761–1768.
- Rampon, C., Tang, Y.-P., Goodhouse, J., Shimizu, E., Kyin, M., and Tsien, J.Z. (2000). Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat Neurosci* 3, 238–244.
- Reagh, Z.M., Ho, H.D., Leal, S.L., Noche, J.A., Chun, A., Murray, E.A., and Yassa, M.A. (2016). Greater loss of object than spatial mnemonic discrimination in aged adults: SELECTIVE OBJECT MEMORY DEFICITS IN AGING. *Hippocampus* 26, 417–422.
- Rebola, N., Carta, M., and Mulle, C. (2017). Operation and plasticity of hippocampal CA3 circuits: implications for memory encoding. *Nat Rev Neurosci* 18, 208–220.
- Redondo, R.L., and Morris, R.G.M. (2011). Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nat Rev Neurosci* 12, 17–30.
- Redondo, R.L., Kim, J., Arons, A.L., Ramirez, S., Liu, X., and Tonegawa, S. (2014). Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram. *Nature* 513, 426–430.
- Reijmers, L.G., Perkins, B.L., Matsuo, N., and Mayford, M. (2007). Localization of a Stable Neural Correlate of Associative Memory. *Science* 317, 1230–1233.
- Renier, N., Adams, E.L., Kirst, C., Wu, Z., Azevedo, R., Kohl, J., Autry, A.E., Kadiri, L., Umadevi Venkataraju, K., Zhou, Y., et al. (2016). Mapping of Brain Activity by Automated Volume Analysis of Immediate Early Genes. *Cell* 165, 1789–1802.
- Restivo, L., Vetere, G., Bontempi, B., and Ammassari-Teule, M. (2009). The Formation of Recent and Remote Memory Is Associated with Time-Dependent Formation of Dendritic Spines in the Hippocampus and Anterior Cingulate Cortex. *Journal of Neuroscience* 29, 8206–8214.
- Reuter-Lorenz, P.A., and Cappell, K.A. (2008). Neurocognitive Aging and the Compensation Hypothesis. *Curr Dir Psychol Sci* 17, 177–182.
- Ribot, T. (1881). *Les maladies de la mémoire*.
- Riout-Pedotti, M.-S. (2000). Learning-Induced LTP in Neocortex. *Science* 290, 533–536.
- Rizzo, V., Touzani, K., Raveendra, B.L., Swarnkar, S., Lora, J., Kadakkuzha, B.M., Liu, X.-A., Zhang, C., Betel, D., Stackman, R.W., et al. (2017). Encoding of contextual fear memory requires de novo proteins in the prelimbic cortex. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging* 2, 158–169.
- Rogan, M.T., Stäubli, U.V., and LeDoux, J.E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390, 604–607.
- Rogan, M.T., Leon, K.S., Perez, D.L., and Kandel, E.R. (2005). Distinct Neural Signatures for Safety and Danger in the Amygdala and Striatum of the Mouse. *Neuron* 46, 309–320.
- Rolls, E.T. (1996). A theory of hippocampal function in memory. *Hippocampus* 6, 601–620.
- Rolls, E.T. (2000). The Orbitofrontal Cortex and Reward. *Cerebral Cortex* 10, 284–294.

- Rolls, E.T. (2009). Functional neuroimaging of umami taste: what makes umami pleasant? *The American Journal of Clinical Nutrition* *90*, 804S-813S.
- Rolls, E.T., and Kesner, R.P. (2006). A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Progress in Neurobiology* *79*, 1–48.
- Rosenbaum, R.S., Priselac, S., Köhler, S., Black, S.E., Gao, F., Nadel, L., and Moscovitch, M. (2000). Remote spatial memory in an amnesic person with extensive bilateral hippocampal lesions. *Nat Neurosci* *3*, 1044–1048.
- Rosenbaum, R.S., Winocur, G., and Moscovitch, M. (2001). New views on old memories: re-evaluating the role of the hippocampal complex. *Behavioural Brain Research* *127*, 183–197.
- Rosenbaum, R.S., Köhler, S., Schacter, D.L., Moscovitch, M., Westmacott, R., Black, S.E., Gao, F., and Tulving, E. (2005). The case of K.C.: contributions of a memory-impaired person to memory theory. *Neuropsychologia* *43*, 989–1021.
- Rosenzweig, E.S., and Barnes, C.A. (2003). Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Progress in Neurobiology* *69*, 143–179.
- Ross, R.S., and Eichenbaum, H. (2006). Dynamics of Hippocampal and Cortical Activation during Consolidation of a Nonspatial Memory. *Journal of Neuroscience* *26*, 4852–4859.
- Roux, P., Blanchard, J.-M., Fernandez, A., Lamb, N., Jeanteur, P., and Piechaczyk, M. (1990). Nuclear localization of c-Fos, but not v-Fos proteins, is controlled by extracellular signals. *Cell* *63*, 341–351.
- Roy, D.S., Arons, A., Mitchell, T.I., Pignatelli, M., Ryan, T.J., and Tonegawa, S. (2016). Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer’s disease. *Nature* *531*, 508–512.
- Roy, D.S., Muralidhar, S., Smith, L.M., and Tonegawa, S. (2017). Silent memory engrams as the basis for retrograde amnesia. *Proc Natl Acad Sci USA* *114*, E9972–E9979.
- Roy, D.S., Park, Y.-G., Ogawa, S.K., Cho, J.H., Choi, H., Kamensky, L., Martin, J., Chung, K., and Tonegawa, S. (2019). Brain-wide mapping of contextual fear memory engram ensembles supports the dispersed engram complex hypothesis (Neuroscience).
- Royet, J.-P., Koenig, O., Gregoire, M.-C., Cinotti, L., Lavenne, F., Bars, D.L., Costes, N., Vigouroux, M., Farget, V., Sicard, G., et al. (1999). Functional Anatomy of Perceptual and Semantic Processing for Odors. *Journal of Cognitive Neuroscience* *11*, 94–109.
- Royet, J.P., Hudry, J., Zald, D.H., Godinot, D., Grégoire, M.C., Lavenne, F., Costes, N., and Holley, A. (2001). Functional Neuroanatomy of Different Olfactory Judgments. *NeuroImage* *13*, 506–519.
- Rudy, J.W., Biedenkapp, J.C., and O’Reilly, R.C. (2005). Prefrontal cortex and the organization of recent and remote memories: An alternative view. *Learning & Memory* *12*, 445–446.
- Rumpel, S., LeDoux, J., Zador, A., and Malinow, R. (2005). Postsynaptic Receptor Trafficking Underlying a Form of Associative Learning. *Science* *308*, 83–88.
- Runyan, J.D., Moore, A.N., and Dash, P.K. (2019). Coordinating what we’ve learned about memory consolidation: Revisiting a unified theory. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *100*, 77–84.
- Ryan, T.J., Roy, D.S., Pignatelli, M., Arons, A., and Tonegawa, S. (2015). Engram cells retain memory under retrograde amnesia. *Science* *348*, 1007–1013.
- Sacchetti, B., Baldi, E., Ambrogio Lorenzini, C., and Bucherelli, C. (2002). Differential contribution of some cortical sites to the formation of memory traces supporting fear conditioning. *Exp Brain Res* *146*, 223–232.
- Sacktor, T.C. (2011). How does PKM ζ maintain long-term memory? *Nat Rev Neurosci* *12*, 9–15.
- Sanhueza, M., Fernandez-Villalobos, G., Stein, I.S., Kasumova, G., Zhang, P., Bayer, K.U., Otmakhov, N., Hell, J.W., and Lisman, J. (2011). Role of the CaMKII/NMDA Receptor Complex in the Maintenance of Synaptic Strength. *J Neurosci* *31*, 9170–9178.
- Sanyal, S., Sandstrom, D.J., Hoeffler, C.A., and Ramaswami, M. (2002). AP-1 functions upstream of CREB to control synaptic plasticity in *Drosophila*. *Nature* *416*, 870–874.
- Schacter, D.L., Eich, J.E., and Tulving, E. (1978). Richard Semon’s theory of memory. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* *17*, 721–743.

- Schoenbaum, G., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A., and Takahashi, Y.K. (2009). A new perspective on the role of the orbitofrontal cortex in adaptive behaviour. *Nat Rev Neurosci* 10, 885–892.
- Scoville, W.B., and Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20, 11–21.
- Segal, M. (2017). Dendritic spines: Morphological building blocks of memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 138, 3–9.
- Semon, R. (1904). *Die Mneme als erhaltendes Prinzip im Wechsel des organischen Geschehens* (Leipzig: Wilhelm Engelmann).
- Semon, R. (1923). *Mnemic Philosophy* (Allen & Unwin).
- Serge, N. (2003). *La mémoire et ses maladies selon Théodule Ribot* (1881).
- Serrano, P., Friedman, E.L., Kenney, J., Taubenfeld, S.M., Zimmerman, J.M., Hanna, J., Alberini, C., Kelley, A.E., Maren, S., Rudy, J.W., et al. (2008). PKM ζ Maintains Spatial, Instrumental, and Classically Conditioned Long-Term Memories. *PLoS Biol* 6.
- Shema, R., Sacktor, T.C., and Dudai, Y. (2007). Rapid Erasure of Long-Term Memory Associations in the Cortex by an Inhibitor of PKMz. *Science* 317, 4.
- Shema, R., Haramati, S., Ron, S., Hazvi, S., Chen, A., Sacktor, T.C., and Dudai, Y. (2011). Enhancement of Consolidated Long-Term Memory by Overexpression of Protein Kinase Mz in the Neocortex. *Science* 331, 5.
- Sheng, M., and Greenberg, M.E. (1990). The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. *Neuron* 4, 477–485.
- Shimizu, E. (2000). NMDA Receptor-Dependent Synaptic Reinforcement as a Crucial Process for Memory Consolidation. *Science* 290, 1170–1174.
- Shivarama Shetty, M., and Sajikumar, S. (2017). ‘Tagging’ along memories in aging: Synaptic tagging and capture mechanisms in the aged hippocampus. *Ageing Research Reviews* 35, 22–35.
- Sif, J., Meunier, M., Messier, C., Calas, A., and Destrade, C. (1989). Quantitative [14C]2-deoxyglucose study of a functional dissociation between anterior and posterior cingulate cortices in mice. *Neuroscience Letters* 101, 223–228.
- Silva, A.J., Stevens, C.F., Tonegawa, S., and Wang, Y. (1992a). Deficient Hippocampal Long-Term Potentiation in o-Calcium-Calmodulin Kinase Mutant Mice. *Science* 257, 7.
- Silva, A.J., Paylor, R., Wehner, J.M., and Tonegawa, S. (1992b). Impaired Spatial Learning in L-Calcium-Calmodulin Kinase Mutant Mice. *Science* 257, 7.
- Silva, A.J., Kogan, J., and Frankland, P.W. (1998). CREB and memory.pdf. *Annual Review of Neuroscience* 21, 127–148.
- Skaggs, W.E., and McNaughton, B.L. (1996). Replay of Neuronal Firing Sequences in Rat Hippocampus During Sleep Following Spatial Experience. *Science* 271, 1870–1873.
- Smith, C.N., and Squire, L.R. (2009). Medial Temporal Lobe Activity during Retrieval of Semantic Memory Is Related to the Age of the Memory. *Journal of Neuroscience* 29, 930–938.
- Smith, C.A., Countryman, R.A., Sahuque, L.L., and Colombo, P.J. (2007). Time-courses of Fos expression in rat hippocampus and neocortex following acquisition and recall of a socially transmitted food preference. *Neurobiology of Learning and Memory* 88, 65–74.
- Smith, C.A., East, B.S., and Colombo, P.J. (2010). The orbitofrontal cortex is not necessary for acquisition or remote recall of socially transmitted food preferences. *Behavioural Brain Research* 208, 243–249.
- Smith, T.D., Adams, M.M., Gallagher, M., Morrison, J.H., and Rapp, P.R. (2000). Circuit-Specific Alterations in Hippocampal Synaptophysin Immunoreactivity Predict Spatial Learning Impairment in Aged Rats. *J. Neurosci.* 20, 6587–6593.
- Sonnenberg, J.L., Mitchelmore, C., Macgregor-Leon, P.F., Hempstead, J., Morgan, J.I., and Curran, T. (1989). Glutamate receptor agonists increase the expression of Fos, Fra, and AP-1 DNA binding activity in the mammalian brain. *Journal of Neuroscience Research* 24, 72–80.

- Sparks, F.T., Lehmann, H., Hernandez, K., and Sutherland, R.J. (2011). Suppression of Neurotoxic Lesion-Induced Seizure Activity: Evidence for a Permanent Role for the Hippocampus in Contextual Memory. *PLoS ONE* 6, e27426.
- Sporns, O., Tononi, G., and Edelman, G.M. (2000). Connectivity and complexity: the relationship between neuroanatomy and brain dynamics. *Neural Networks* 13, 909–922.
- Squire, L.R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review* 99, 195–231.
- Squire, L.R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory* 82, 171–177.
- Squire, L.R. (2009). The Legacy of Patient H.M. for Neuroscience. *Neuron* 61, 6–9.
- Squire, L.R., and Alvarez, P. (1995). Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Current Opinion in Neurobiology* 5, 169–177.
- Squire, L.R., and Bayley, P.J. (2007). The neuroscience of remote memory. *Current Opinion in Neurobiology* 17, 185–196.
- Squire, L.R., and Kandel, E.R. (1999). Memory: from mind to molecule.
- Squire, L.R., and Zola, S.M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93, 13515–13522.
- Squire, L., Haist, F., and Shimamura, A. (1989). The neurology of memory: quantitative assessment of retrograde amnesia in two groups of amnesic patients. *J. Neurosci.* 9, 828–839.
- Squire, L.R., Clark, R.E., and Knowlton, B.J. (2001). Retrograde amnesia. *Hippocampus* 11, 50–55.
- Squire, L.R., Genzel, L., Wixted, J.T., and Morris, R.G. (2015). Memory Consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7, a021766.
- Stark, C.E.L., and Squire, L.R. (2000). fMRI activity in the medial temporal lobe during recognition memory as a function of study-test interval. *Hippocampus* 10, 9.
- Staubli, U., and Lynch, G. (1987). Stable hippocampal long-term potentiation elicited by ‘theta’ pattern stimulation. *Brain Research* 435, 227–234.
- Stefanacci, L., Buffalo, E.A., Schmolck, H., and Squire, L.R. (2000). Profound Amnesia After Damage to the Medial Temporal Lobe: A Neuroanatomical and Neuropsychological Profile of Patient E. P. *J. Neurosci.* 20, 7024–7036.
- Stein, I.S., Donaldson, M.S., and Hell, J.W. (2014). CaMKII binding to GluN2B is important for massed spatial learning in the Morris water maze. *F1000Res* 3, 193.
- Stevenson, E.L., and Caldwell, H.K. (2014). Lesions to the CA2 region of the hippocampus impair social memory in mice. *Eur J Neurosci* 40, 3294–3301.
- Steward, O., Farris, S., Pirbhoy, P.S., Darnell, J., and Driesche, S.J.V. (2015). Localization and local translation of Arc/Arg3.1 mRNA at synapses: some observations and paradoxes. *Front Mol Neurosci* 7.
- Stoeckel, K., Schwab, M., and Thoenen, H. (1977). Role of gangliosides in the uptake and retrograde axonal transport of cholera and tetanus toxin as compared to nerve growth factor and wheat germ agglutinin. *Brain Research* 132, 273–285.
- Stone, S.S.D., Teixeira, C.M., Zaslavsky, K., Wheeler, A.L., Martinez-Canabal, A., Wang, A.H., Sakaguchi, M., Lozano, A.M., and Frankland, P.W. (2011). Functional convergence of developmentally and adult-generated granule cells in dentate gyrus circuits supporting hippocampus-dependent memory. *Hippocampus* 21, 1348–1362.
- Strupp, B.J., and Levitsky, D.A. (1984). Social transmission of food preferences in adult hooded rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology* 98, 257–266.
- Sutherland, R., and Lehmann, H. (2011). Alternative conceptions of memory consolidation and the role of the hippocampus at the systems level in rodents. *Current Opinion in Neurobiology* 21, 446–451.

Sutherland, R.J., Weisend, M.P., Mumby, D., Astur, R.S., Hanlon, F.M., Koerner, A., Thomas, M.J., Wu, Y., Moses, S.N., Cole, C., et al. (2001). Retrograde amnesia after hippocampal damage: Recent vs. remote memories in two tasks. *Hippocampus* *11*, 16.

Sutherland, R.J., O'Brien, J., and Lehmann, H. (2008). Absence of systems consolidation of fear memories after dorsal, ventral, or complete hippocampal damage. *Hippocampus* *18*, 710–718.

Suzuki, W.L., and Amaral, D.G. (1994). Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: Cortical afferents. *J. Comp. Neurol.* *350*, 497–533.

Swanson, L.W. (1981). A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain Research* *217*, 150–154.

Sweatt, J.D. (2001). Protooncogenes Subserve Memory Formation in the Adult CNS. *Neuron* *31*, 671–674.

Tabuchi, E., Furusawa, A.A., Hori, E., Umeno, K., Ono, T., and Nishijo, H. (2005). Neural correlates to action and rewards in the rat posterior cingulate cortex: *NeuroReport* *16*, 949–953.

Takashima, A., Petersson, K.M., Rutters, F., Tendolkar, I., Jensen, O., Zwarts, M.J., McNaughton, B.L., and Fernandez, G. (2006). Declarative memory consolidation in humans: A prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *103*, 756–761.

Takashima, A., Nieuwenhuis, I.L.C., Jensen, O., Talamini, L.M., Rijpkema, M., and Fernandez, G. (2009). Shift from Hippocampal to Neocortical Centered Retrieval Network with Consolidation. *Journal of Neuroscience* *29*, 10087–10093.

Takehara, K., Kawahara, S., and Kirino, Y. (2003). Time-Dependent Reorganization of the Brain Components Underlying Memory Retention in Trace Eyeblink Conditioning. *J. Neurosci.* *23*, 9897–9905.

Takehara-Nishiuchi, K. (2006). Systems Consolidation Requires Postlearning Activation of NMDA Receptors in the Medial Prefrontal Cortex in Trace Eyeblink Conditioning. *Journal of Neuroscience* *26*, 5049–5058.

Takehara-Nishiuchi, K., and McNaughton, B.L. (2008). Spontaneous Changes of Neocortical Code for Associative Memory During Consolidation. *Science* *322*, 960–963.

Takeuchi, T., Duzskiewicz, A.J., and Morris, R.G.M. (2014). The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* *369*, 20130288–20130288.

Tanimizu, T., Kenney, J.W., Okano, E., Kadoma, K., Frankland, P.W., and Kida, S. (2017). Functional Connectivity of Multiple Brain Regions Required for the Consolidation of Social Recognition Memory. *J. Neurosci.* *37*, 4103–4116.

Taylor, K.K., Tanaka, K.Z., Reijmers, L.G., and Wiltgen, B.J. (2013). Reactivation of Neural Ensembles during the Retrieval of Recent and Remote Memory. *Current Biology* *23*, 99–106.

Taylor, T.J., and DiScenna, P. (1986). The hippocampal memory indexing theory. *Behavioral Neuroscience* *100*, 147–154.

Taylor, T.J., and Rudy, J.W. (2007). The hippocampal indexing theory and episodic memory: Updating the index. *Hippocampus* *17*, 1158–1169.

Thierry, A.-M., Gioanni, Y., Degenetais, E., and Glowinski, J. (2000). Hippocampo-prefrontal cortex pathway: Anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* *10*, 9.

Thomas, G.M., and Huganir, R.L. (2004). MAPK cascade signalling and synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* *5*, 173–183.

Thompson, R.F., and Kim, J.J. (1996). Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *93*, 13438–13444.

Thompson, K.J., Khajehali, E., Bradley, S.J., Navarrete, J.S., Huang, X.P., Slocum, S., Jin, J., Liu, J., Xiong, Y., Olsen, R.H.J., et al. (2018). DREADD Agonist 21 Is an Effective Agonist for Muscarinic-Based DREADDs in Vitro and in Vivo. *ACS Pharmacol Transl Sci* *1*, 61–72.

Tischmeyer, W., and Grimm, R. (1999). Activation of immediate early genes and memory formation. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* *55*, 564–574.

- Tonegawa, S., Liu, X., Ramirez, S., and Redondo, R. (2015). Memory Engram Cells Have Come of Age. *Neuron* 87, 918–931.
- Tonegawa, S., Morrissey, M.D., and Kitamura, T. (2018). The role of engram cells in the systems consolidation of memory. *Nat Rev Neurosci* 19, 485–498.
- Toni, N., Buchs, P.-A., Nikonenko, I., Bron, C.R., and Muller, D. (1999). LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402, 421–425.
- Traynelis, S.F., Wollmuth, L.P., McBain, C.J., Menniti, F.S., Vance, K.M., Ogden, K.K., Hansen, K.B., Yuan, H., Myers, S.J., and Dingledine, R. (2010). Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacol Rev* 62, 405–496.
- Trojanowski, J.Q. (1983). Native and derivatized lectins for in vivo studies of neuronal connectivity and neuronal cell biology. *Journal of Neuroscience Methods* 9, 185–204.
- Tse, D., Langston, R.F., Takekuma, M., Bethus, I., Spooner, P.A., Wood, E.R., Witter, M.P., and Morris, R.G.M. (2007). Schemas and Memory Consolidation. *Science* 316, 76–82.
- Tse, D., Takeuchi, T., Takekuma, M., Kajii, Y., Okuno, H., Tohyama, C., Bitto, H., and Morris, R.G.M. (2011). Schema-Dependent Gene Activation and Memory Encoding in Neocortex. *Science* 333, 891–895.
- Tsien, J.Z., Huerta, P.T., and Tonegawa, S. (1996). The Essential Role of Hippocampal CA1 NMDA Receptor-Dependent Synaptic Plasticity in Spatial Memory. *Cell* 87, 1327–1338.
- Tulving, E. (1972). *Episodic and Semantic Memory*. Academic Press 382–402.
- Tulving, E. (1985). Memory and consciousness. *Canadian Psychology/Psychologie Canadienne* 26, 1–12.
- Valenstein, E., Bowers, D., Verfaellie, M., Heilman, K.M., Day, A., and Watson, R.T. (1987). Retrosplenial amnesia. *Brain* 110, 1631–1646.
- Van Leeuwenhoek, A. (1675). Microscopical observations of Mr. Van Leeuwenhoek concerning the optic nerve. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 10, 378–380.
- Vetere, G., Kenney, J.W., Tran, L.M., Xia, F., Steadman, P.E., Parkinson, J., Josselyn, S.A., and Frankland, P.W. (2017). Chemogenetic Interrogation of a Brain-wide Fear Memory Network in Mice. *Neuron* 94, 363–374.e4.
- Viskontas, I.V., McAndrews, M.P., and Moscovitch, M. (2000). Remote Episodic Memory Deficits in Patients with Unilateral Temporal Lobe Epilepsy and Excisions. *J. Neurosci.* 20, 5853–5857.
- Vogt, B.A. (2016). Midcingulate cortex: Structure, connections, homologies, functions and diseases. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 74, 28–46.
- Vogt, B.A., and Paxinos, G. (2014). Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Struct Funct* 219, 185–192.
- Vogt, B.A., Finch, D.M., and Olson, C.R. (1992). Functional Heterogeneity in Cingulate Cortex: The Anterior Executive and Posterior Evaluative Regions. *Cereb Cortex* 2, 435–443.
- Volk, L.J., Bachman, J.L., Johnson, R., Yu, Y., and Huganir, R.L. (2013). PKM- ζ is not required for hippocampal synaptic plasticity, learning and memory. *Nature* 493, 420–423.
- von Waldeyer, W. (1891). Über einige neuere Forschungen im Gebiete der Anatomie des Centralnervensystems. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 17, 1213–1218, 1244–1246, 1267–1269, 1287–1289, 1331–1332, 1352–1356.
- Wallis, J.D. (2007). Orbitofrontal Cortex and Its Contribution to Decision-Making. *Annu. Rev. Neurosci.* 30, 31–56.
- Waltereit, R., and Weller, M. (2003). Signaling from cAMP/PKA to MAPK and Synaptic Plasticity. *MN* 27, 99–106.
- Wan, X., Cheng, K., and Tanaka, K. (2015). Neural encoding of opposing strategy values in anterior and posterior cingulate cortex. *Nat Neurosci* 18, 752–759.
- Wang, H., Hu, Y., and Tsien, J.Z. (2006). Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Progress in Neurobiology* 79, 123–135.

- Wang, S.-H., Tse, D., and Morris, R.G.M. (2012). Anterior cingulate cortex in schema assimilation and expression. *Learning & Memory* 19, 315–318.
- Wang, X.-b., Yang, Y., and Zhou, Q. (2007). Independent Expression of Synaptic and Morphological Plasticity Associated with Long-Term Depression. *Journal of Neuroscience* 27, 12419–12429.
- Westendorff, S., Kaping, D., Everling, S., and Womelsdorf, T. (2016). Prefrontal and anterior cingulate cortex neurons encode attentional targets even when they do not apparently bias behavior. *Journal of Neurophysiology* 116, 796–811.
- 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.
- Wheeler, M.A., Stuss, D.T., and Tulving, E. (1997). Toward a theory of episodic memory: The frontal lobes and auto-noetic consciousness. *Psychological Bulletin* 121, 331–354.
- Whishaw, I.Q., Mittleman, G., Bunch, S.T., and Dunnett, S.B. (1987). Impairments in the acquisition, retention and selection of spatial navigation strategies after medial caudate-putamen lesions in rats. *Behavioural Brain Research* 24, 125–138.
- White, N., and McDonald, R. (1993). Acquisition of a spatial conditioned place preference is impaired by amygdala lesions and improved by fornix lesions. *Behavioural Brain Research* 55, 269–281.
- White, N.M., and McDonald, R.J. (2002). Multiple Parallel Memory Systems in the Brain of the Rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 77, 125–184.
- Whitlock, J.R., Heynen, A.J., Shuler, M.G., and Bear, M.F. (2006). Learning Induces Long-Term Potentiation in the Hippocampus. *Science* 313, 1093–1097.
- Wikenheiser, A.M., and Schoenbaum, G. (2016). Over the river, through the woods: cognitive maps in the hippocampus and orbitofrontal cortex. *Nat Rev Neurosci* 17, 513–523.
- Wilkniss, S.M., Jones, M.G., Korol, D.L., Gold, P.E., and Manning, C.A. (1997). Age-related differences in an ecologically based study of route learning. *Psychology and Aging* 12, 372–375.
- Wilson, R.C., Takahashi, Y.K., Schoenbaum, G., and Niv, Y. (2014). Orbitofrontal cortex as a cognitive map of task space. *Neuron* 81, 267–279.
- Wiltgen, B.J., and Silva, A.J. (2007). Memory for context becomes less specific with time. *Learn. Mem.* 14, 313–317.
- Wiltgen, B.J., Brown, R.A., Talton, L.E., and Silva, A.J. (2004). New Circuits for Old Memories. *Neuron* 44, 101–108.
- Wiltgen, B.J., Zhou, M., Cai, Y., Balaji, J., Karlsson, M.G., Parivash, S.N., Li, W., and Silva, A.J. (2010). The Hippocampus Plays a Selective Role in the Retrieval of Detailed Contextual Memories. *Current Biology* 20, 1336–1344.
- Winocur, G. (1990). Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. *Behavioural Brain Research* 38, 145–154.
- Winocur, G., Moscovitch, M., Fogel, S., Rosenbaum, R.S., and Sekeres, M. (2005a). Preserved spatial memory after hippocampal lesions: effects of extensive experience in a complex environment. *Nat Neurosci* 8, 273–275.
- Winocur, G., Moscovitch, M., Caruana, D.A., and Binns, M.A. (2005b). Retrograde amnesia in rats with lesions to the hippocampus on a test of spatial memory. *Neuropsychologia* 43, 1580–1590.
- Winocur, G., Moscovitch, M., and Sekeres, M. (2007). Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nat Neurosci* 10, 555–557.
- 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.
- Wittenberg, G.M., and Tsien, J.Z. (2002). An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Cell Press* 25, 5.

- Wittenberg, G.M., Sullivan, M.R., and Tsien, J.Z. (2002). Synaptic reentry reinforcement based network model for long-term memory consolidation. *Hippocampus* *12*, 637–647.
- Xu, W. (2011). PSD-95-like membrane associated guanylate kinases (PSD-MAGUKs) and synaptic plasticity. *Current Opinion in Neurobiology* *21*, 306–312.
- Xu, W., and Südhof, T.C. (2013). A Neural Circuit for Memory Specificity and Generalization. *Science* *339*, 1290–1295.
- Xu, W., Morishita, W., Buckmaster, P.S., Pang, Z.P., Malenka, R.C., and Südhof, T.C. (2012). Distinct Neuronal Coding Schemes in Memory Revealed by Selective Erasure of Fast Synchronous Synaptic Transmission. *Neuron* *73*, 990–1001.
- Yamamoto-Sasaki, M., Ozawa, H., Saito, T., Michael Rösler, and Riederer, P. (1999). Impaired phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein in the hippocampus of dementia of the Alzheimer type. *Brain Research* *824*, 300–303.
- Ye, L., Allen, W.E., Thompson, K.R., Tian, Q., Hsueh, B., Ramakrishnan, C., Wang, A.-C., Jennings, J.H., Adhikari, A., Halpern, C.H., et al. (2016). Wiring and Molecular Features of Prefrontal Ensembles Representing Distinct Experiences. *Cell* *165*, 1776–1788.
- Yin, X., Takei, Y., Kido, M.A., and Hirokawa, N. (2011). Molecular Motor KIF17 Is Fundamental for Memory and Learning via Differential Support of Synaptic NR2A/2B Levels. *Neuron* *70*, 310–325.
- Yiu, A.P., Mercaldo, V., Yan, C., Richards, B., Rashid, A.J., Hsiang, H.-L.L., Pressey, J., Mahadevan, V., Tran, M.M., Kushner, S.A., et al. (2014). Neurons Are Recruited to a Memory Trace Based on Relative Neuronal Excitability Immediately before Training. *Neuron* *83*, 722–735.
- Yonelinas, A.P., Ranganath, C., Ekstrom, A.D., and Wiltgen, B.J. (2019). A contextual binding theory of episodic memory: systems consolidation reconsidered. *Nat Rev Neurosci* *20*, 364–375.
- Yuste, R., and Bonhoeffer, T. (2001). Morphological Changes in Dendritic Spines Associated with Long-Term Synaptic Plasticity. *Annual Review of Neuroscience* *24*, 1071–1089.
- Zangenehpour, S., and Chaudhuri, A. (2002). Differential induction and decay curves of c-fos and zif268 revealed through dual activity maps. *Molecular Brain Research* *109*, 221–225.
- Zhang, J., Zhang, D., McQuade, J.S., Behbehani, M., Tsien, J.Z., and Xu, M. (2002). c-fos regulates neuronal excitability and survival. *Nature Genetics* *30*, 416–420.
- Zhong, X., Deng, S., Ma, W., Yang, Y., Lu, D., Cheng, N., Chen, D., Wang, H., Zhang, J., Li, F., et al. (2017). Anterior cingulate cortex involved in social food-foraging decision-making strategies of rats. *Brain Behav* *7*, e00768.
- Zhou, Q., Homma, K.J., and Poo, M. (2004). Shrinkage of Dendritic Spines Associated with Long-Term Depression of Hippocampal Synapses. *Neuron* *44*, 749–757.
- Zhou, Y., Takahashi, E., Li, W., Halt, A., Wiltgen, B., Ehninger, D., Li, G.-D., Hell, J.W., Kennedy, M.B., and Silva, A.J. (2007). Interactions between the NR2B Receptor and CaMKII Modulate Synaptic Plasticity and Spatial Learning. *Journal of Neuroscience* *27*, 13843–13853.
- Zhou, Y., Won, J., Karlsson, M.G., Zhou, M., Rogerson, T., Balaji, J., Neve, R., Poirazi, P., and Silva, A.J. (2009). CREB regulates excitability and the allocation of memory to subsets of neurons in the amygdala. *Nat Neurosci* *12*, 1438–1443.
- Zola-Morgan, S., and Squire, L. (1990). The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science* *250*, 288–290.
- Zola-Morgan, S., Squire, L.R., and Ramus, S.J. (1994). Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus* *4*, 483–495.
- Zovkic, I.B., Paulukaitis, B.S., Day, J.J., Etikala, D.M., and Sweatt, J.D. (2014). Histone H2A.Z subunit exchange controls consolidation of recent and remote memory. *Nature* *515*, 582–586.

Implication de la connectivité anatomo-fonctionnelle des régions du cortex frontal dans la formation et la consolidation de la mémoire associative olfactive chez le rongeur

Initialement encodés dans l'hippocampe, les nouveaux souvenirs déclaratifs, aussi appelés engrammes, deviennent progressivement dépendants d'un réseau distribué de neurones corticaux au cours de leur maturation. Bien que le rôle du cortex dans le stockage de la mémoire ancienne (MA) ait été clairement démontré, plusieurs études montrent que certains réseaux corticaux pourraient être recrutés précocement, dès l'encodage, et participeraient après maturation, au stockage de la trace mnésique. Ceci a notamment été suggéré pour le cortex frontal, dans lequel des changements structuraux et fonctionnels précoces ont été observés, indiquant que la maturation de la trace corticale nécessiterait des renforcements dans la connectivité fonctionnelle entre les différentes structures dépositaires de la trace mnésique. Grâce au marqueur d'activité neuronale c-fos, nous avons étudié l'évolution temporelle, au cours de la consolidation mnésique, de la connectivité fonctionnelle des régions frontales : le Cortex PréFrontal médian (CPFm), les parties antérieure (CCa) et postérieure (CCp) du Cortex Cingulaire et le Cortex OrbitoFrontal (COF), lesquelles pourraient participer à la maturation de l'engramme. Nous avons comparé l'activité dans ces régions lors du rappel d'une mémoire olfactive associative récente (MR) ou ancienne à l'aide d'une tâche de transmission sociale de préférence alimentaire.

Nous avons identifié trois régions corticales clés co-activées lors du rappel de la MA, suggérant qu'elles forment un nœud critique au sein d'un réseau cortical plus vaste, nécessaire à la formation de l'engramme. L'analyse des corrélations interrégionales des activités neuronales révèle que l'activité du CPFm et du COF est corrélée dès le rappel de la MR, bien que leur recrutement soit dépendant de l'âge de la mémoire. Cette connectivité fonctionnelle s'appuie sur une connectivité anatomique unidirectionnelle entre le CPFm et le COF. Par contraste, le CCp est activé uniquement lors du rappel d'une mémoire récente. Par une approche pharmacogénétique, nous avons sélectivement inhibé le CPFm et révélé son implication lors de la phase d'encodage, mais également dans le rappel de la MR et de la MA. L'ensemble de ces résultats suggèrent que bien que le processus de maturation de la trace mnésique au niveau cortical soit spécifique à chaque région, il requiert une connectivité fonctionnelle entre plusieurs régions corticales dont les cinétiques d'activation distinctes mais coordonnées permettent le stockage et l'expression à long terme du souvenir.

Des altérations focalisées de cette connectivité, notamment lors du vieillissement, pourraient ralentir le processus d'apprentissage et/ou changer les stratégies d'apprentissage mis en place par l'animal pour résoudre une tâche complexe. À l'aide un test de discrimination spatiale, au cours de huit sessions d'apprentissage dans un labyrinthe radiaire à huit bras sur une large cohorte de souris âgées (22 mois), nous avons pu isoler deux populations : l'une avec une vitesse d'apprentissage similaire à celle d'un groupe de souris jeunes, et l'autre avec une vitesse d'apprentissage réduite. Des expériences futures permettraient de déterminer dans quelle mesure la connectivité fonctionnelle cérébrale est altérée de manière différentielle dans ces deux populations de souris âgées.

Mots clés : Mémoire olfactive associative, Mémoire spatiale, Consolidation mnésique, Cortex frontal, Vieillissement

Institut des Maladies Neurodégénératives

CNRS UMR 5293, Université de Bordeaux – Case 28

Centre Broca Nouvelle-Aquitaine – 3ème étage

146 rue Léo Saignat – CS 61292

33076 Bordeaux cedex