



HAL
open science

Rôle des noyaux réuniens (Re) et rhomboïde (Rh) du thalamus dans la plasticité structurale associée à la persistance d'un souvenir spatial chez le rat

Marie-Muguet Klein

► To cite this version:

Marie-Muguet Klein. Rôle des noyaux réuniens (Re) et rhomboïde (Rh) du thalamus dans la plasticité structurale associée à la persistance d'un souvenir spatial chez le rat. Neurosciences. Université de Strasbourg, 2018. Français. NNT : 2018STRAJ089 . tel-02918034

HAL Id: tel-02918034

<https://theses.hal.science/tel-02918034>

Submitted on 20 Aug 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.

UNIVERSITE DE STRASBOURG

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE (ED414)

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives

THESE présentée par
Marie-Muguet KLEIN

et soutenue le **14 décembre 2018**

Pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**
Discipline/S spécialité : **Neurosciences**

Rôle des noyaux reuniens (Re) et rhomboïde (Rh) du thalamus dans la plasticité structurale associée à la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat.

Dirigée par :

Anne-Laurence BOUTILLIER Directeur de recherches, Université de Strasbourg
Jean-Christophe CASSEL Professeur, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

SCHUMANN-BARD Pascale Professeur, Université de Caen
VAILLEND Cyrille Chargé de recherches, Université de Paris Sud

AUTRES MEMBRES DU JURY :

PITEL Anne-Lise Maître de conférences, Université de Caen
VEINANTE Pierre Professeur, Université de Strasbourg

MEMBRE INVITEE :

PEREIRA DE VASCONCELOS Anne Chargé de recherche, Université de Strasbourg

REMERCIEMENTS

Les remerciements ... Voilà une section qui peut sembler totalement anodine en soi et pourtant ... Écrire des remerciements ne requiert pas de connaissances pointilleuses ou encore de recherches approfondies dans la littérature scientifique, néanmoins ce n'est pas un exercice aisé. En effet, cette partie du manuscrit, souvent succincte en comparaison du reste, peut cependant en dire long. J'espère que ceux-ci seront à la hauteur de tous ceux qui ont été là pour moi un moment donné au cours de ce périple. J'espère n'oublier personne et si tel est le cas je m'en excuse d'avance.

En tout premier lieu, je souhaiterais remercier les membres de mon jury d'avoir accepté et pris le temps d'évaluer de ce travail de thèse.

J'aimerais ensuite remercier chaleureusement mes encadrants ... Jean-Christophe et Laurette. Les mots sont difficiles à trouver tant il y a de choses à dire. Mon aventure au sein du laboratoire a commencé bien avant la thèse, il y a près de 8 ans. Pour moi, les liens que nous avons créés vont au-delà de la simple relation professionnelle et je suis heureuse d'en être arrivée là. J'aimerais aussi vous remercier de m'avoir soutenue dès le début de mon parcours, mais aussi de m'avoir fait confiance pour ce projet de thèse, et d'avoir tout fait pour le financer. Merci pour les moments humains et les fous rires que nous avons pu partager au cours de nos réunions. Merci encore pour votre persévérance, car tout ne fonctionne pas toujours comme on le souhaite et ce n'est pas tous les jours simple.

J'aimerais aussi remercier, tout particulièrement, Anne. Tu n'es peut être pas présente sur le papier mais tout le monde sait à quel point ton implication fut importante. J'aimerais te remercier pour tout ... Pour ton soutien dans l'ensemble de mon travail, pour tes conseils dans les moments de doute, pour ton optimisme constant malgré les galères, mais surtout merci pour tout le temps que tu as pris à me rassurer et me faire évoluer personnellement. Presque une deuxième maman en somme ! Une thèse n'est pas seulement un diplôme, un manuscrit ou une expérience professionnelle c'est aussi une aventure humaine qui nous fait grandir et tu as su me guider tout au long du chemin sans jamais vaciller.

Bien évidemment, je souhaiterais remercier ma petite Bibi ! Merci de m'avoir formé sur le terrain, les chirurgies stéréotaxiques, les immunohistochimies et tout le reste n'ont maintenant

plus de secret pour moi. Mais surtout merci pour ton soutien au quotidien, ton écoute attentive, ta bonne humeur (même si parfois on râle mais au moins on le fait ensemble), ta gentillesse et toutes les petites attentions que tu as pu avoir. Je tiens aussi à remercier Karinette ... Comme je vous l'ai déjà dit vous êtes les petites mamans du laboratoire, les petites fées aux pouvoirs magiques qui font que malgré vent et marée les expériences sont tout de même possibles ... des vrais piliers !

Merci aussi à Olivier, mon collègue de bureau. Je te remercie pour toutes les discussions que nous avons pu avoir tant professionnelles que personnelles. Je te remercie pour l'écoute, la compréhension et le soutien dont tu as fait preuve tout au long de ces 3 ans ... Des bons conseils mais aussi de bons fous rires ! Tu fais et tu feras un très bon encadrant pour Estelle et les suivant(e)s. P.S : désolée pour toutes les fois où je t'ai peut-être empêché de travailler pipelette comme je suis (même si des fois c'était quand même bien pratique).

Je remercie aussi Chrystelle ! Une rencontre faite au détour d'une collaboration qui m'a permis de découvrir quelqu'un de formidable ! Merci pour ton implication dans toute cette partie IRM pour laquelle j'étais totalement novice. Mais aussi pour tes conseils et ces petits moments en terrasse pour tenter de relativiser sur tout ça.

J'aimerais aussi remercier tous ceux qui ont apporté leur pierre à l'édifice comme Thibault pour ton accompagnement lors de mes premières lésions, mais aussi les différents stagiaires que j'ai eu le plaisir d'encadrer en partie ou entièrement ... Mathilde, Julia, Manon, Lola, Martin.

J'aimerais aussi avoir une petite pensée à ceux que j'ai croisé avant et pendant cette thèse et qui ont aussi participé à faire de moi ce que je suis aujourd'hui : Romain N, Anne A, Julien, Thibault, Raphaëlle, Jyoti, Valentine, Victor et tous les autres.

Merci à mes camarades de galère ... Étienne, David, Romain B, Aurélie B, Laurie-Anne, Estelle, Caroline et Amélie pour leur soutien dans les moments de déprime et les discussions autour des em***** techniques et autres !

Un merci particulier à vous les filles ... Je suis arrivée en thèse avec un objectif professionnel et je repars avec un cadeau personnel qui n'a pas de prix : des amies de cœur. J'ai adoré vivre ce quotidien à vos côtés tant dans les moments de joies et de réussites que dans les moments

les plus difficiles. J'ai adoré nos discussions « update des potins », nos soirées entre filles, et tant d'autres choses encore. Plein de petites « trucs » qui ont donné un goût particulier à ma vie de thésarde et qui font de cette expérience une expérience unique !

Un énorme merci à tous les gens du laboratoire ... Le LNCA est une grande famille où il est tellement facile de s'intégrer et de se sentir comme chez soi. Le départ n'en sera que plus difficile croyez-moi ! Merci pour vos paroles rassurantes, merci pour votre sourire, merci pour votre présence ... Juste MERCI.

Merci maman pour tous les sacrifices que tu as faits pour me porter à bout de bras jusqu'ici, tu peux être tellement fière de toi. Merci papa d'avoir cru en moi à chaque instant. Je remercie aussi tous les autres membres de ma famille pour leur soutien et leur présence. Merci aussi à mes amis de m'avoir soutenue sans parfois comprendre grand-chose à mon quotidien ou à mes expériences (n'est-ce pas Valène ??).

Enfin, je souhaiterais remercier, Cédric, l'homme qui partage ma vie depuis un peu plus de 3 ans (on peut dire que tu es tombé à pic ... Juste à l'heure pour le début des festivités). Merci de m'avoir supportée au cours de cette thèse ... D'avoir supporté les coups de blues, les coups de paniques, les mauvaises humeurs, les absences. Merci de m'avoir soutenue sans cesse, d'avoir cru en moi et d'y croire encore, de m'avoir toujours fait relever la tête quand je n'y croyais plus, d'avoir séché mes larmes et d'avoir posé un sourire sur mon visage à la place ! Merci d'être toi, d'être là tout simplement.

Pour clôturer ces remerciements, j'ai une pensée particulière pour ceux partis trop tôt ... Loli, Dada, Hélène ... Votre départ m'a arraché le cœur mais je sais que vous avez été présents auprès de moi malgré tout ... L'achèvement de ce travail, malgré toutes les difficultés et tous les doutes, c'est aussi pour vous.

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| 1. Cadre générale de la thèse | 1 |
| 2. Objectifs de la thèse | 3 |
| 3. Structure de la thèse | 3 |
| CONTEXTE SCIENTIFIQUE | 5 |
| CHAPITRE 1 : LA MEMOIRE | 5 |
| 1. La mémoire : classification du souvenir..... | 5 |
| 1.1. Définition générale | 5 |
| 1.2. Classification et sous-systèmes | 6 |
| 1.2.1. <i>Décours temporel</i> | 6 |
| 1.2.2. <i>Sous-systèmes de mémoire à long terme</i> | 8 |
| 1.3. Cas particulier de la mémoire spatiale..... | 10 |
| 1.3.1. <i>Définition générale</i> | 10 |
| 1.3.2. <i>La représentation égocentrée</i> | 11 |
| 1.3.3. <i>La représentation allocentrée</i> | 11 |
| 2. L'engramme : représentation physique du souvenir..... | 12 |
| 2.1. Théorie de Semon..... | 12 |
| 2.2. Evolution de la théorie de l'engramme..... | 14 |
| 2.3. Manipuler l'engramme | 15 |
| 2.3.1. <i>Technologie</i> | 15 |
| 2.3.2. <i>Données expérimentales</i> | 17 |
| 3. La consolidation mnésique : stockage du souvenir | 18 |
| 3.1. Historique | 18 |
| 3.2. Consolidation synaptique | 20 |
| 3.2.1. <i>Différents types de plasticité fonctionnelle</i> | 21 |
| 3.2.2. <i>Mécanismes moléculaires</i> | 22 |
| 3.2.3. <i>Théorie de l'étiquetage et de la capture synaptique</i> | 25 |
| 3.3. Consolidation systémique..... | 28 |
| 3.3.1. <i>Théorie standard de la consolidation systémique</i> | 28 |
| 3.3.2. <i>Théorie des traces multiples</i> | 30 |
| 3.3.3. <i>Théorie de la transformation</i> | 32 |

| | |
|--|----|
| CHAPITRE 2 : LE CIRCUIT HIPPOCAMPO-CORTICO-THALAMIQUE | 35 |
| 1. L'hippocampe..... | 35 |
| 1.1. Description anatomique..... | 35 |
| 1.2. Connexions..... | 36 |
| 1.2.1. <i>Connexions intrinsèques</i> | 36 |
| 1.2.2. <i>Connexions extrinsèques</i> | 37 |
| 1.3. Codage de l'environnement..... | 38 |
| 2. Le cortex préfrontal médian | 41 |
| 2.1. Description anatomique..... | 41 |
| 2.2. Connexions..... | 42 |
| 2.3. Fonctions | 43 |
| 3. Les noyaux reuniens et rhomboïde..... | 44 |
| 3.1. Description anatomique..... | 45 |
| 3.2. Connexions..... | 46 |
| 3.2.1. <i>Afférences</i> | 46 |
| 3.2.2. <i>Efférences</i> | 48 |
| 3.4. Modulations électrophysiologiques dans la boucle hippocampo-cortico-thalamique..... | 51 |
| 3.4.1. <i>Modulation corticale</i> | 51 |
| 3.4.2. <i>Modulation hippocampique</i> | 51 |
| 3.4.3. <i>Modulation hippocampo-corticale</i> | 53 |
| 3.5. Processus cognitifs | 54 |
| 3.5.1. <i>Mémoire associative</i> | 54 |
| 3.5.2. <i>Mémoire de reconnaissance d'objets</i> | 56 |
| 3.5.3. <i>Mémoire de travail</i> | 58 |
| 3.5.4. <i>Mémoire à long terme et persistance d'un souvenir</i> | 60 |
| CHAPITRE 3 : LA PLASTICITE STRUCTURALE | 63 |
| 1. Histoire | 63 |
| 1.1. Ramon y Cajal | 63 |
| 1.2. Du neurone à la synapse..... | 64 |
| 2. Morphogénèse des épines dendritiques | 66 |
| 2.1. Description morphologique | 66 |
| 2.2. Spinogénèse..... | 68 |
| 2.2.1. <i>Le modèle filopodial</i> | 68 |
| 2.2.2. <i>Le modèle de Miller et Peters</i> | 69 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.3. <i>Le modèle de Sotelo</i> | 70 |
| 2.2.4. <i>Spinogénèse à l'âge adulte</i> | 71 |
| 2.2.5. <i>Vers un modèle unique</i> | 72 |
| 3. Ultrastructure des épines dendritiques..... | 73 |
| 3.1. Organites | 73 |
| 3.2. Spinosquelette d'actine et ses régulateurs | 75 |
| 3.3. Densité postsynaptique..... | 78 |
| 4. Épines dendritiques comme support de la plasticité et de nos souvenirs | 80 |
| 4.1. Premiers pas de la plasticité | 81 |
| 4.2. De la plasticité fonctionnelle à la plasticité structurale | 82 |
| 4.3. Plasticité structurale support de la trace mnésique | 84 |
| MATRIELS ET METHODES | 88 |
| 1. Animaux | 88 |
| 2. Lésion excitotoxique par chirurgie stéréotaxique..... | 89 |
| 2.1. Historique | 89 |
| 2.2. Principe..... | 89 |
| 2.3. Dispositif | 91 |
| 2.4. Protocole..... | 91 |
| 3. Evaluation de la mémoire spatiale : Piscine de Morris | 93 |
| 3.1. Principe..... | 94 |
| 3.2. Dispositif | 94 |
| 3.3. Protocole..... | 95 |
| 4. Histologie | 97 |
| 4.1. Mise à mort..... | 97 |
| 4.2. Evaluation de la lésion par immunohistochimie NeuN | 98 |
| 4.2.1. <i>Principe</i> | 98 |
| 4.2.2. <i>Protocole</i> | 99 |
| 4.2.3. <i>Quantification des lésions des noyaux ReRh</i> | 100 |
| 4.3. Evaluation de la plasticité structurale par imprégnation de Golgi..... | 100 |
| 4.3.1. <i>Principe</i> | 100 |
| 4.3.2. <i>Historique</i> | 101 |
| 4.3.3. <i>Protocole</i> | 102 |
| 4.3.4. <i>Quantification des épines dendritiques</i> | 102 |

| | |
|---|------------|
| CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES | 105 |
| PARTIE 1 : LESION RERH ET EPINES DENDRITIQUES..... | 105 |
| 1. Localisation et étendue des lésions..... | 105 |
| 2. Tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris | 106 |
| 2.1. Habituation | 106 |
| 2.2. Acquisition | 108 |
| 2.3. Test de rétention | 109 |
| 3. Plasticité structurale dans le cortex préfrontal médian..... | 111 |
| 3.1. Cortex cingulaire antérieur (CCA) | 111 |
| 3.1.1. <i>Dendrites apicales</i> | 111 |
| 3.1.2. <i>Dendrites basales</i> | 114 |
| 3.2. Cortex prélimbique (PL)..... | 115 |
| 3.2.1. <i>Dendrites apicales</i> | 115 |
| 3.2.2. <i>Dendrites basales</i> | 118 |
| 3.3. Cortex infralimbique (IL)..... | 119 |
| 3.3.1. <i>Dendrites apicales</i> | 119 |
| 3.3.2. <i>Dendrites basales</i> | 121 |
| 4. Plasticité structurale dans l'hippocampe dorsal..... | 122 |
| 4.1. Corne d'Ammon 1 (CA1)..... | 122 |
| 4.1.1. <i>Dendrites apicales</i> | 122 |
| 4.1.2. <i>Dendrites basales</i> | 125 |
| 4.2. Corne d'Ammon 3 (CA3)..... | 126 |
| 4.2.1. <i>Dendrites apicales</i> | 126 |
| 4.2.2. <i>Dendrites basales</i> | 128 |
| 4.3. Gyrus Denté (DG) | 128 |
| 4.3.1. <i>Dendrites apicales</i> | 128 |
| PARTIE 2 : EXPERIENCES COMPLEMENTAIRES | 131 |
| 1. Lésion ReRh et marqueurs de plasticité | 131 |
| 1.1. Localisation et étendue des lésions..... | 132 |
| 1.2. Tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris | 132 |
| 1.2.1. <i>Habituation</i> | 132 |
| 1.2.2. <i>Acquisition</i> | 132 |
| 1.2.3. <i>Test de rétention</i> | 134 |
| 2. Lésion ReRh et évaluation par IRM anatomique | 136 |

| | |
|--|-----|
| 2.1. Principe de l'IRM | 137 |
| 2.2. Résultats | 140 |
| DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES | 143 |
| DISCUSSION | 143 |
| 1. Plasticité structurale | 143 |
| 1.1. Plasticité structurale et mémoire | 144 |
| 1.2. Implication de l'HIPd dans le stockage d'un souvenir spatial | 147 |
| 1.3. Implication du CPFm dans le stockage d'un souvenir spatial | 150 |
| 2. Impact de la lésion ReRh sur la plasticité structurale nécessaire à la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat | 153 |
| 2.1. Approche comportementale : tâche de mémoire spatiale | 153 |
| 2.2. Approche histologique : analyse des épines dendritiques | 154 |
| 3. Rôle des différentes sous régions de l'HIP et du CPFm dans la mémoire | 157 |
| 3.1. Les sous-régions de l'HIP : CA3 et DG | 157 |
| 3.2. Les sous-régions du CPFm : PL et IL | 158 |
| 4. Rôle des noyaux ReRh dans l'encodage et le rappel ? | 160 |
| CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES | 165 |
| 1. Conclusions | 165 |
| 2. Perspectives | 165 |
| 2.1. Etudier, au sein du circuit hippocampo-cortico-thalamique, les mécanismes en lien avec la plasticité structurale intervenant dans la consolidation systémique d'un souvenir spatial | 165 |
| 2.2. Etudier l'implication des noyaux ReRh dans les différentes phases du processus de mémorisation (encodage, consolidation, rappel) | 166 |
| 2.3. Etudier les neurones impliqués spécifiquement dans l'engramme | 168 |
| 2.4. Evaluer la possibilité d'une récupération fonctionnelle de la lésion à l'aide d'un traitement pharmacologique | 169 |
| ANNEXES | 171 |
| BIBLIOGRAPHIE | 211 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| FIGURE 1 : MODELE MODALE DE ATKINSON ET SHIFFRIN | 7 |
| FIGURE 2 : MODELE D'ORGANISATION HIERARCHIQUE DES SOUS-SYSTEMES DE MEMOIRE A LONG TERME | 8 |
| FIGURE 3 : SCHEMATISATION DU CODAGE EGOCENTRIQUE DE L'ENVIRONNEMENT SPATIAL | 11 |
| FIGURE 4 : SCHEMATISATION DU CODAGE ALLOCENTRIQUE DE L'ENVIRONNEMENT SPATIAL | 12 |
| FIGURE 5 : MANIPULATION OPTOGENETIQUE DES CELLULES DE L'ENGRAMME | 17 |
| FIGURE 6 : MECANISMES MOLECULAIRES DE LA LTP | 24 |
| FIGURE 7 : THEORIE DE L'ETIQUETAGE ET DE LA CAPTURE SYNAPTIQUE | 27 |
| FIGURE 8 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA THEORIE STANDARD DE LA CONSOLIDATION SYSTEMIQUE | 29 |
| FIGURE 9 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA THEORIE DES TRACES MULTIPLES | 32 |
| FIGURE 10 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES CONNEXIONS INTRINSEQUES DE L'HIPPOCAMPE | 37 |
| FIGURE 11 : CELLULES PARTICIPANT AU CODAGE SPATIAL DE L'ENVIRONNEMENT | 39 |
| FIGURE 12 : ORGANISATION ANATOMIQUE DES NOYAUX REUNIENS ET RHOMBOÏDE DU THALAMUS | 45 |
| FIGURE 13 : AFFERENCES DU NOYAU REUNIENS (RE) | 47 |
| FIGURE 14 : AFFERENCES DU NOYAU RHOMBOÏDE (RH) | 48 |
| FIGURE 15 : EFFERENCES DU NOYAU REUNIENS (RE) | 49 |
| FIGURE 16 : EFFERENCES DU NOYAU RHOMBOÏDE (RH) | 50 |
| FIGURE 17 : SANTIAGO RAMON Y CAJAL EN 1933 | 63 |
| FIGURE 18 : DESSIN ORIGINAL D'UNE CELLULE DE PURKINJE | 64 |
| FIGURE 19 : DESSIN ORIGINAL D'UN CONTACT SYNAPTIQUE | 65 |
| FIGURE 20 : SCHEMA DES DIFFERENTS TYPES D'EPINES DENDRITIQUES ET DE LEURS CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES | 68 |
| FIGURE 21 : MODELE DU FILOPODE DE DAILEY ET SMITH | 68 |
| FIGURE 22 : MODELE DE MILLER ET PETERS | 69 |
| FIGURE 23 : MODELE DE SOTELO | 70 |
| FIGURE 24 : SCHEMA REPRESENTATIF DE LA POLYMERISATION - DEPOLYMERISATION DE L'ACTINE | 76 |
| FIGURE 25 : CYCLE D'ACTIVATION DES RHO GTPASES | 77 |
| FIGURE 26 : SCHEMA REPRESENTATIF D'UNE SYNAPSE MONTRANT L'ULTRASTRUCTURE DE LA PSD | 79 |
| FIGURE 27 : PHOTOGRAPHIE D'UN RAT LONG EVANS | 88 |

| | |
|---|------------|
| FIGURE 28 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES EVENEMENTS CONDUISANT A LA MORT DES CELLULES LORS DE LA LESION EXCITOTOXIQUE..... | 90 |
| FIGURE 29 : PHOTOGRAPHIE DE L'APPAREIL STEREOTAXIQUE UTILISE LORS DES CHIRURGIES | 91 |
| FIGURE 30 : CHIRURGIE STEREOTAXIQUE : LESION EXCITOTOXIQUE DES NOYAUX RE RH DU THALAMUS | 93 |
| FIGURE 31 : DISPOSITIF DE LA PISCINE DE MORRIS..... | 95 |
| FIGURE 32 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES DIFFERENTS POINTS DE LACHER AU COURS DU PROTOCOLE EN PISCINE DE MORRIS | 96 |
| FIGURE 33 : MICRODISSECTION DU PARENCHYME CEREBRAL..... | 98 |
| FIGURE 34 : MAQUETTE DE COMPTAGE EFFECTUEE A L'AIDE DU LOGICIEL MERCATOR. | 103 |
| FIGURE 35 : STATION D'IMAGERIE EXPLORA NOVA UTILISEE AU LNCA..... | 104 |
| FIGURE 36 : EVALUATION DE L'EMPLACEMENT ET DE L'ETENDUE DES LESIONS..... | 106 |
| FIGURE 37 : PERFORMANCES MOYENNES DES ANIMAUX DURANT LA PHASE D'ACQUISITION ET DE RETENTION DU TEST DE MEMOIRE SPATIALE EN PISCINE DE MORRIS (MWM) POUR L'EXPERIENCE 1 | 107 |
| FIGURE 38 : PLASTICITE STRUCTURALE DANS LE CORTEX CINGULAIRE ANTERIEURE (CCA)..... | 112 |
| FIGURE 39 : PLASTICITE STRUCTURALE DANS LE CORTEX PRELIMBIQUE (PL) | 116 |
| FIGURE 40 : PLASTICITE STRUCTURALE DANS LE CORTEX INFRALIMBIQUE (IL) | 120 |
| FIGURE 41 : PLASTICITE STRUCTURALE DANS LA CORNE D'AMMON 1 (CA1) | 124 |
| FIGURE 42 : PLASTICITE STRUCTURALE DANS LA CORNE D'AMMON 3 (CA3) | 127 |
| FIGURE 43 : PLASTICITE STRUCTURALE DANS LE GYRUS DENTE (DG)..... | 129 |
| FIGURE 44 : PERFORMANCES DES ANIMAUX DURANT LA PHASE D'ACQUISITION ET DE RETENTION DU TEST DE MEMOIRE SPATIALE DANS LA PISCINE DE MORRIS (MWM) POUR L'EXPERIENCE 2 | 134 |
| FIGURE 45 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN ELEMENT CHARGE..... | 137 |
| FIGURE 46 : APPAREIL IRM 7 TESLA BIOSPEC DE CHEZ BRUKER BIOSPIN..... | 139 |
| FIGURE 47 : SCHEMA EXPLICATIF DU PRINCIPE DE LA SEQUENCE D'ACQUISITION DWI. | 139 |
| FIGURE 48 : SCHEMA EXPLICATIF DU PRINCIPE DE LA SEQUENCE D'ACQUISITION T2WI. | 140 |
| FIGURE 49 : COMPARAISON HYPERSIGNAL VISUALISE EN IRM VS LESION VISUALISEE PAR IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE NEU N..... | 142 |

LISTE DES ABREVIATIONS

3D : Trois dimensions

3V : Troisième ventricule

ABP : Actin binding protein

ADF : Actin-depolymerizing factor

Adj D : Adjacent droit

Adj G : Adjacent gauche

AGm : Cortex agrulaire médian

AMPA : Amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate

AP : Antéropostérieur

AP5 : Acide 2-amino-5-phosphonoalérique

Arc : Activity-regulated cytoskeleton-associated protein

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

Arp : Actin related protein

ATP : Adénosine triphosphate

BHE : Barrière hémato-encéphalique

BrdU : Bromodésoxyuridine

CA : Corne d'Ammon

CamKII : Calcium calmodulin-dependent kinase II

CCA : Cortex cingulaire antérieur

Cdc 42 : Cell division cycle 42

CEM : Noyau centromédian

ChR2 : Channelrhodopsine 2

CNQX : 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione

CPFm : Cortex préfrontal médian

DAB : 3,3'-diaminobenzidine

DG : Gyrus denté

DiO : 3, 3'-dioctadecyloxycarbocyanine perchlorate

DNMTP : Delayed nonmatching to position

DREADD : Designer receptors exclusively activated by designer drugs

DV : Dorsoventral

DWI : Diffusion weighted imaging

EGTA : Ethylene glycol tetraacetic acid

E-LTP : Early LTP

FM4-64 : N-(3-Triethylammoniumpropyl)-4-(6-(4-(Diethylamino)-Phenyl)-Hexatrienyl) Pyridinium Dibromide

FrA : Région médio dorsal du cortex

GABA : Acide γ -aminobutyrique

GAP : GTPases activating protein

GDP : Guanosine diphosphate

GEF : Guanine nucleotide exchange factor

GFP : Green fluorescent protein

GTP : Guanosine triphosphate

HC : Home cage

HIP : Hippocampe

IAM : Noyau interoanterioromédian

IEG : Immediate early gene

IL : Cortex infralimbique

IMD : Noyau intero médiodorsal

IP3 : Inositol triphosphate

IRM : Imagerie par résonance magnétique

LIMK : LIM-Kinase

L-LTP : Late - LTP

LTD : Long term depression

LTP : Long term potentiation

MAPK : Mitogen-activated protein kinases

MD : Noyau médiodorsal

ME : Microscope électronique

MEF2 : Myocyte enhancer factor 2

mGluR : Metabotropic glutamate receptor

ML : Médiolatéral

MWM : Morris water maze

NE : Nord-Est

NeuN : Neuronal nuclei

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NO : Nord-Ouest

NpHR : Halrhodopsine
OFC : Cortex orbito frontal
Opp : Opposé
PBS : Phosphate buffer salin
PIP5k : Phosphatidylinositol 5 phosphate kinase
PKA : Protéine kinase A
PKC : Protéine kinase C
PKM ζ : Protéine kinase C de type zeta
PL : Cortex prélimbique
PPI : Analyse d'interaction psychophysique
PPSE : Potential post-synaptique excitateur
pRe : Péri reuniens
PRH : Cortex périrhinal
PRP : Plasticity related protein
PSD95 : Post synaptic density 95
PT : Noyau paraténial
PV : Noyau paraventriculaire
Rac1 : Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
RE : Reticulum endoplasmique
Re : Noyau reuniens
RF : Radiofréquence
Rh : Noyau rhomboïde
RhoA : Ras homologous member A
RMN : Résonance magnétique nucléaire
ROCK : Rho associated kinase
SAP90 : Synapse associated protein 90
SE : Sud-Est
SO : Sud-Ouest
STC : Synaptic tagging and capture theory
T1 : Temps de relaxation longitudinal
T2 : Temps de relaxation transversal
T2WI : T2 weighted imaging
TetTag : Tetracyclin tagging
TRE : élément de réponse à la tétracycline

tTA : Protéine transactivatrice de la tétracycline

YFP : Yellow fluorescent protein

INTRODUCTION

GENERALE

1. Cadre générale de la thèse

Lors de notre vie, nous traversons une multitude d'évènements. Les souvenirs, récents ou anciens, que nous gardons de ces moments définissent notre identité, notre personnalité, mais aussi nos connaissances. Dans de nombreuses pathologies neurologiques (Alzheimer, Parkinson, etc.) ainsi qu'au cours du vieillissement, nos fonctions cognitives peuvent être affectées et nos souvenirs dégradés, voire effacés. Actuellement, il n'existe aucun traitement préventif ou curatif satisfaisant. Il est donc indispensable d'approfondir notre savoir théorique des fonctions cognitives et de leurs mécanismes neuronaux. Ceci peut être encore plus vrai pour la mémoire épisodique, une mémoire de type déclaratif (rappel conscient et verbalisable des faits) permettant de stocker les événements personnellement vécus ainsi que le contexte qui leur est associé (date, lieux, individus présents, etc) ; c'est la mémoire de nos souvenirs. Ces derniers ne se forment pas instantanément de façon durable. En effet, nos souvenirs subissent un processus graduel de consolidation permettant leur réorganisation au sein des structures cérébrales (ou systèmes) : c'est la consolidation systémique. Pour un souvenir de type déclaratif, les structures cérébrales principalement impliquées sont l'hippocampe (HIP) et le cortex préfrontal médian (CPFm). D'après la théorie standard de la consolidation ([Marr, 1970](#)), les informations sont encodées dans des réseaux hippocampo-corticaux aboutissant rapidement à la création d'une trace mnésique dans l'HIP. Avec le temps, par la répétition d'un dialogue fonctionnel entre l'HIP et le CPFm, tout ou une partie de la trace mnésique est déplacée au sein de sites corticaux. Ce second lieu de stockage résulte de la formation et du renforcement de liens cortico-corticaux, s'accompagnant du désengagement progressif de l'HIP. Ainsi, une mémoire récente (heures/jours) dépendrait de l'HIP, tandis qu'une mémoire ancienne (semaines/mois/années) dépendrait du CPFm (rev. [Frankland et Bontempi, 2005](#)).

Cependant, au niveau anatomique, si l'HIP projette sur le CPFm par une voie monosynaptique directe, la réciproque n'est pas vraie ([Jay et Witter, 1991](#)). Pour que le dialogue hippocampo-cortical puisse s'effectuer il y a nécessité d'au moins une structure relais. Deux noyaux thalamiques, les noyaux reuniens (Re) et rhomboïde (Rh), ont une position idéale pour assurer ce rôle. En effet, ils sont fortement et réciproquement connectés à ces deux structures et possèdent des neurones projetant simultanément sur les deux régions



(Vertes et al., 2006 ; Hoover et Vertes, 2012). De plus, ces noyaux sont capables de grandement moduler l'activité de l'HIP et du CPFm (Dolleman-Van der Weel et al., 1997 ; DiPrisco et Vertes, 2006). Au laboratoire, Loureiro et collaborateurs ont démontré qu'une lésion des noyaux ReRh affectait spécifiquement la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat, évaluée 25 jours après l'apprentissage alors qu'elle n'affecte ni l'apprentissage, ni le rappel du souvenir récent évalué à 5 jours (Loureiro et al., 2012). De plus, toujours au laboratoire, il a été montré que le rappel d'un souvenir spatial ancien (25 jours), induit l'activation du CPFm (augmentation de l'expression de la protéine cFOS) chez les rats témoins (Sham), en particulier dans le cortex cingulaire antérieur (CCA), et non chez les rats lésés (ReRh) montrant un rôle central des noyaux ReRh dans la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat (Klein, Cholvin et al., soumis).

La consolidation d'un souvenir implique une réorganisation au sein des réseaux neuronaux : c'est la consolidation synaptique qui engage l'ensemble des processus (cascades intracellulaires, activation de gènes, synthèse protéique, etc.) intervenant à l'échelle de la synapse. Ces dernières sont plastiques, tant fonctionnellement (plasticité fonctionnelle) que morphologiquement (plasticité structurale). La formation de nouvelles synapses en réponse à un stimulus s'accompagne de la formation de nouvelles épines dendritiques. Ces dernières sont le marqueur majeur de la plasticité structurale et considérées comme le substrat anatomique de la formation et du stockage d'un souvenir (Engert et Bonhoeffer, 1999 ; Moser, 1999). Par exemple, Leuner et collaborateurs ont mis en évidence une augmentation de la densité des épines dendritiques dans la région CA1 de l'HIP 24 h après un apprentissage associatif chez le Rat (Leuner et al., 2003). Il a aussi été observé, dans un conditionnement de peur au contexte chez la Souris, une forte augmentation de la densité des épines dendritiques, mais uniquement dans CA1 1 jour post acquisition (souvenir récent) en comparaison aux rats contrôles. Cependant, après un délai de 36 jours post acquisition (souvenir ancien), la densité des épines dendritiques se trouve augmentée dans le CCA et non dans CA1 (Restivo et al., 2009). Ainsi, la réorganisation au sein des réseaux neuronaux suit la réorganisation au sein des structures cérébrales. La modification du nombre d'épines dendritiques apparaît donc comme est un bon indicateur de cette plasticité structurale séquentielle intervenant au niveau du CPFm et de le HIP.

2. Objectifs de la thèse

Mes travaux doctoraux ont consisté à étudier le rôle des noyaux ReRh dans la plasticité structurale – densité des épines dendritiques – qui se met en place au sein du circuit hippocampo-cortical au cours de la consolidation systémique d'un souvenir spatial chez le Rat. Pour cela, nous avons effectué, chez le Rat, une chirurgie stéréotaxique permettant d'établir une lésion excitotoxique des noyaux ReRh (i.e. instillation de NMDA : ReRh), ou une chirurgie de contrôle (i.e. instillation de PBS : Sham). Ces rats ont été entraînés durant 8 jours consécutifs à une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris afin de tester la rétention du souvenir spatial soit 5 jours (souvenir récent), soit 25 jours (souvenir ancien) après l'entraînement. Nous nous sommes focalisés sur l'évaluation de la plasticité structurale par l'étude de la densité des épines dendritiques au sein de l'HIP dorsal et du CPFm. Cela a permis d'approfondir l'impact d'une lésion des noyaux ReRh dans la formation des souvenirs et d'apporter de nouveaux éléments de réponse quant à l'absence de rappel d'un souvenir spatial ancien.

3. Structure de la thèse

La première partie de cette thèse intitulée « Contexte scientifique » aborde les différents concepts essentiels sur lesquels repose ce projet. Ainsi, cette introduction scientifique comporte trois chapitres dont un dédié à la mémoire, un second centré sur le circuit hippocampo-cortico-thalamique et un dernier portant sur les épines dendritiques. Dans le premier chapitre, je présenterai les différents systèmes de mémoire, la théorie de l'engramme qui refait surface aujourd'hui ainsi que la consolidation synaptique et systémique. Le deuxième chapitre s'attachera à décrire l'organisation anatomique des trois structures étudiées au cours de ce projet à savoir l'HIP, le CPFm et les noyaux ReRh, ainsi que les relations anatomo-fonctionnelles qui les relient. Enfin, je terminerai sur une description globale des épines dendritiques tant sur le plan morphologique que fonctionnel. Dans la deuxième partie de ce manuscrit intitulée « Matériels et Méthodes », j'exposerai les outils méthodologiques ainsi que les protocoles expérimentaux que nous avons employés pour vérifier notre hypothèse. Puis, j'aborderai la troisième partie intitulée « Contributions expérimentales ». Celle-ci portera sur les résultats obtenus pour l'analyse de la plasticité structurale et les expériences complémentaires. Ce manuscrit sera clôturé par la partie

« Discussion générale et perspectives» qui consistera à synthétiser et analyser les principaux résultats obtenus à la lumière de la littérature actuelle, avant de conclure et proposer quelques perspectives.

CONTEXTE
SCIENTIFIQUE

CHAPITRE 1 :

La mémoire

1. La mémoire : classification du souvenir

1.1. Définition générale

L'origine du mot **mémoire** nous vient de la mythologie Grecque avec la déesse **Mnémosyne**. Cette femme Titan (i.e. Titanide), unie à Zeus, lui conta les victoires des Dieux contre les Titans. Elle pouvait se souvenir de tous les poèmes et chansons que Zeus lui réclamait. C'est ainsi qu'elle personnifiait la mémoire. Ainsi, celle-ci est décrite non pas sous le sens d'une mémoire « par cœur », mais plutôt sous le sens du savoir et de la connaissance. D'après Platon, Mnémosyne représenterait un bloc de cire fournissant la cire mentale sur laquelle nos expériences s'inscrivent : « ... *C'est un présent de la mère des Muses, Mnémosyne ... toutes les fois que nous voulons nous souvenir de quelque chose ... nous tenons ce bloc sous nos sensations et nos conceptions et les y imprimons, comme nous gravons le sceau d'un anneau, et que ce qui a été imprimé ainsi, nous nous le rappelons et le savons ... tandis que ce qui s'est effacé ou qu'il a été impossible de graver, nous l'oublions et ne le savons pas* » (Paveau MA, 2013). Ainsi, c'est du nom Mnémosyne que sont dérivés les mots relatifs à la mémoire (e.g. mémoire, mnésique, amnésie, mnémotechnique, etc.).

La **mémoire** est une aptitude intellectuelle de certains êtres vivants leur permettant, par un ensemble des processus mentaux, d'**acquérir**, de **conserver** et de **restituer** des informations du passé. Ce terme englobe, à la fois, le contenu de celles-ci ainsi que les mécanismes impliqués dans leur manipulation. La majorité de nos connaissances et savoir-faire ne sont pas innés mais acquis. Aussi, ce processus cognitif liant Passé, Présent et Futur est un élément essentiel de la survie d'une espèce, lui permettant, entre autres, de s'adapter à son environnement. Elle permet aussi d'assurer la construction de notre vie mentale et de notre identité profonde : nous sommes l'addition de ce que nous retenons, consciemment ou non, de toutes les expériences que nous vivons.

Le **processus de mémorisation** suit un déroulement chronologique comprenant trois étapes élémentaires et successives : l'**encodage**, la **consolidation** et le **rappel**. L'**encodage** représente la capacité d'enregistrer des informations, c'est-à-dire l'**acquisition** et la

transformation de diverses composantes de l'évènement à mémoriser en une représentation mentale ou **trace mnésique**. Cette trace est ensuite **organisée** et **stabilisée** afin d'être maintenue dans le temps : c'est la **consolidation mnésique**. On distingue deux types de consolidation qui sont interconnectés : la **consolidation synaptique** et la **consolidation systémique**. Nous nous attarderons plus en détails sur ces phénomènes dans la section 3 de ce chapitre. Enfin, le **rappel** est la capacité à **restituer**, partiellement ou intégralement, l'information acquise précédemment et ce à tout moment.

Cette définition élémentaire pourrait laisser penser que la mémoire est un système constitué d'une seule entité à l'organisation simpliste. Cependant, derrière le terme unique de « mémoire » se cachent en réalité plusieurs sous-systèmes classifiés et hiérarchisés selon divers critères, comme par exemple la nature du souvenir ou encore les réseaux neuro-anatomiques impliqués dans son expression.

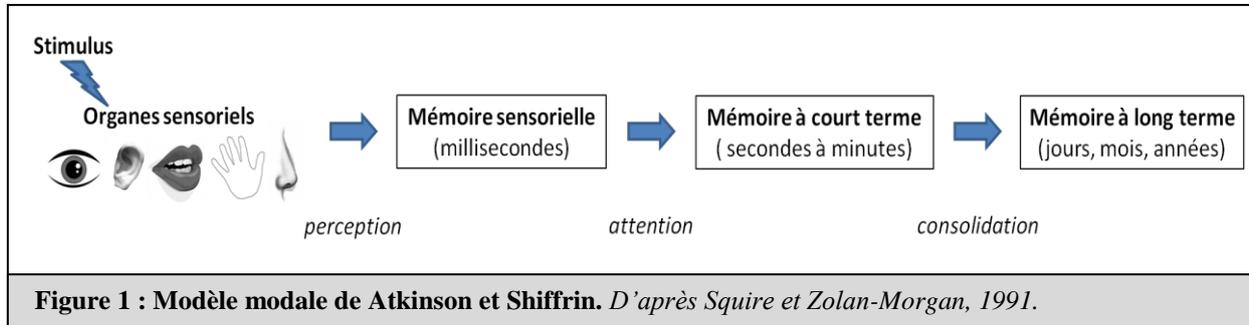
1.2. Classification et sous-systèmes

Il existe **différentes caractéristiques** permettant d'établir une classification des sous-systèmes de la mémoire : le registre **sensoriel** (visuel, auditif, tactile, etc.), le **décours temporel** (mémoire à court-terme ou mémoire à long-terme), le **format des représentations** mnésiques (mémoire déclarative ou non déclarative) ou encore le **mode de récupération** de l'information (explicite ou implicite ; [Tulving, 1972](#)).

1.2.1. Décours temporel

La première classification, toujours utilisée aujourd'hui, fût proposée par le philosophe américain William James en 1890. Elle se base sur le décours temporel et distingue la **mémoire dite primaire** (ou mémoire à court terme), correspondant aux événements conscients **proches**, de la **mémoire dite secondaire** (ou mémoire à long terme), permettant le **stockage** du souvenir de ces évènements. Près d'un siècle plus tard, Atkinson et Shiffrin proposèrent le modèle modal, *Figure 1*. Ce dernier décrit 3 registres différents de stockage de l'information : la mémoire sensorielle, la mémoire à court terme et la mémoire à long terme.

La **mémoire sensorielle** permet le traitement des informations en provenance de l'ensemble des sens (e.g. ouïe, vue, etc.). Ces informations sensorielles forment un registre permettant le maintien éphémère de l'information durant quelques dizaines ou centaines de millisecondes (Atkinson et Shiffrin, 1971).

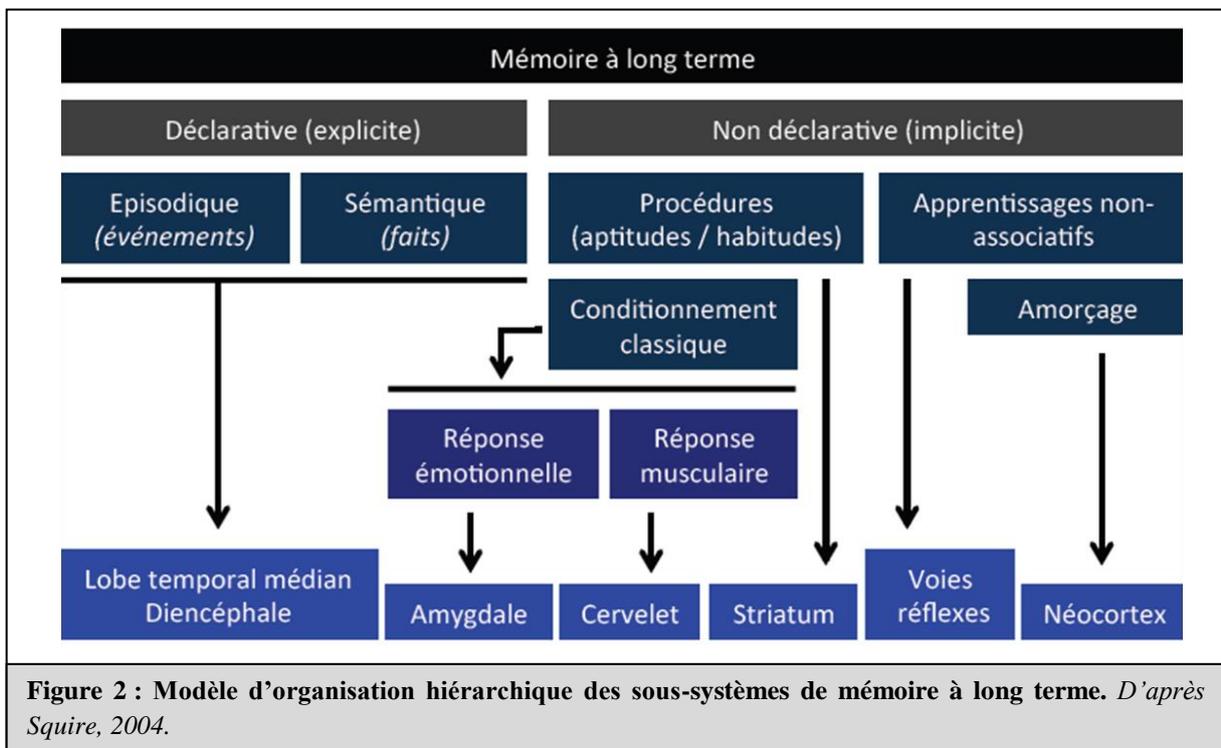


Par une attention particulière, ces informations peuvent ensuite passer du registre sensoriel à la deuxième composante du modèle : le registre de la **mémoire à court terme**. Celle-ci autorise le maintien d'un nombre limité d'informations (7 ± 2 items ; Miller, 1994) pendant quelques secondes, voire quelques minutes. Un exemple concret, illustrant parfaitement la mémoire à court terme, est celui d'un numéro que l'on retient juste le temps de son utilisation (e.g. numéro de téléphone avant de le composer, numéro de compte avant de le reporter sur un formulaire, etc.). Cependant, Watkins a démontré que les informations déjà stockées en mémoire à long terme peuvent influencer l'acquisition de nouvelles informations en mémoire à court terme. En effet, lorsque les items à rappeler sont connus et employés régulièrement, les performances (nombre d'items pouvant être stockés) sont augmentées (Watkins et Tulving, 1975). Si, l'information maintenue dans le registre de la mémoire à court terme est sujette à une manipulation mentale (e.g. opérations mathématiques ou logiques, comme lors d'un calcul mental), on parle de **mémoire de travail**.

L'information stockée en mémoire à court terme peut être transférée en **mémoire à long terme** (pour de plus longues périodes : jours, mois, années) à condition qu'elle soit pertinente, associée à une charge émotionnelle importante et/ou répétée régulièrement. Dans le cas contraire, elle sera tout simplement oubliée. Le registre de la mémoire à long terme est lui-même subdivisé en deux sous-systèmes: la **mémoire à long terme récente** (quelques jours/semaines chez l'Homme, généralement évaluée à quelques jours chez le Rat) et la **mémoire à long terme ancienne** (plusieurs mois/années chez l'Homme, évaluée à quelques semaines chez le Rat). Au cours de ce travail de thèse, c'est à ce dernier registre que nous nous sommes intéressés.

1.2.2. Sous-systèmes de mémoire à long terme

À l'heure actuelle, la classification des sous-systèmes de mémoire n'est pas figée. En effet, il subsiste encore quelques incertitudes sur le nombre exact de sous-systèmes mnésiques, leurs critères d'identification ou encore l'ensemble des liens qui peuvent les unir. En revanche, dans le domaine des neurosciences cognitives, il existe tout de même un consensus sur les systèmes de mémoire prédominants et les réseaux neuro-anatomiques impliqués. Ce consensus provient de la classification proposée par Squire en 2004. Ainsi, de par la nature de l'information mémorisée, la mémoire à long terme est divisée en deux catégories qui sont la **mémoire non-déclarative** et la **mémoire déclarative**, *Figure 2 (Squire, 2004)*.



La **mémoire non-déclarative** (ou implicite) concerne le stockage d'informations dont la récupération s'effectue de façon **non consciente** et **non verbalisable**. Elle est, elle aussi, constituée de plusieurs sous-groupes de mémoire. La **mémoire procédurale** (aussi appelée habiletés motrices ou automatismes) permet, comme son nom l'indique, le rappel d'habiletés motrices, de séquences de mouvements, ou de savoir-faire (e.g. conduire une moto, s'habiller, etc.). Le **conditionnement classique** (ou Pavlovien) correspond à l'association d'un stimulus neutre à un autre (dit inconditionnel) ayant une valence particulière (par exemple émotionnelle), permettant ainsi au stimulus neutre d'engendrer une réponse identique à celle associée au stimulus inconditionnel. Le **phénomène d'amorçage** correspond à la

modification de la perception d'un stimulus en fonction d'un autre présenté précédemment ou simultanément. Enfin, on retrouve aussi des **phénomènes d'habituation** (diminution de l'intensité ou de la fréquence d'une réponse lors de la présentation répétée ou prolongée d'un stimulus), ou encore de **sensibilisation** (phénomène contraire à l'habituation).

À l'inverse, la **mémoire déclarative** concerne le stockage d'informations dont le rappel est **conscient** et **verbalisable**. Elle est subdivisée en deux types de mémoire (Tulving 1972). D'une part, la **mémoire sémantique** concerne les **faits généraux**, les **connaissances** sur le monde, les **concepts**, les **règles de vie** (e.g. Paris est la capitale de la France). C'est une mémoire **schématique**, pauvre en détails contextuels et sans représentation spatio-temporelle. En effet, on est capable de restituer l'information et non pas le moment et/ou le lieu où nous étions lors de l'acquisition de cette information. D'autre part, la **mémoire épisodique** concerne l'ensemble des **événements personnellement vécus** par un individu. Cette mémoire **riche en détails contextuels** est associée à une représentation spatio-temporelle de l'évènement qui comprend trois composantes : le « où », le « quoi » et le « quand » de l'expérience à mémoriser (ex : initiation à la plongée le jour de mon anniversaire en Martinique). De plus, ce sous-système comprend une composante « auto-noétique » (i.e. état de conscience de soi) qui permet à chaque individu de prendre conscience de sa propre identité, de créer des liens entre les éléments d'un souvenir, de visualiser les événements passés et d'en tirer des informations pouvant servir dans le Futur (Wheeler et al., 1997). Ainsi, les souvenirs de type épisodique permettent de voyager mentalement dans le temps (Lepage et al., 2000) et de nous construire notre propre identité.

Il est tout de même important de souligner que ses classifications ne sont pas totalement indépendantes les unes des autres. Elles peuvent co-exister et présenter, bien entendu, des interactions entre elles. Par exemple, une mémoire épisodique est une mémoire de type déclaratif (ou explicite) mais aussi une mémoire à long terme. De plus, avant d'être stockée à long terme, une mémoire passera forcément par l'état de mémoire à court terme. Ainsi, la mémoire épisodique présente aussi une forme à court terme avant sa consolidation.

1.3. Cas particulier de la mémoire spatiale

1.3.1. Définition générale

La **mémoire spatiale** est une mémoire de type **épisodique** qui concerne les **informations de l'environnement** et permet la création d'une représentation spatiale du monde entourant l'individu. C'est donc la **mémoire de l'espace** dans lequel nous évoluons, ainsi que des chemins que nous empruntons pour naviguer au sein de ce dernier. Tout comme la mémoire de type épisodique permet de voyager mentalement dans le temps, elle nous permet de voyager mentalement dans l'espace. Chaque individu est ainsi capable de se souvenir de l'emplacement et du parcours nécessaire pour atteindre un objectif donné. En effet, au sein du règne animal, elle donne la localisation du lieu de vie, des ressources alimentaires, ou encore des prédateurs. Ce sous-système de mémoire représente donc un mécanisme puissant de survie des espèces, ce qui explique, qu'en dépit de la diversité de celles-ci, elle soit phylogénétiquement hautement conservée. De plus, ce processus cognitif fournit un bon modèle animal de la mémoire épisodique humaine. En effet, il est possible de tester, simultanément ou non, au moins deux des trois critères de cette dernière : le « où » et le « quoi », par exemple. La mémoire spatiale allocentrique implique d'ailleurs la création de liens entre les différents éléments de l'environnement (Aggleton et Pearce 2001), phénomène existant dans la mémoire épisodique. L'aspect conscient et verbalisable n'étant pas évaluable chez l'animal, on parlera alors de **mémoire de type épisodique** ou « *episodic-like* » (Clayton et al., 2007).

C'est Tolman qui proposa, pour la première fois, que les rats étaient capables de se créer une représentation mentale de leur environnement (Tolman, 1948). Trente ans plus tard, O'Keefe et Nadel, postulèrent, dans un ouvrage fondamental intitulé « *The Hippocampus as a Cognitive Map* », que la navigation spatiale chez le Rat pouvait s'organiser en deux stratégies distinctes : une dite de **cartes** (ou **allocentrée**) et une seconde dite de **routes** (ou **égocentrée**) (O'Keefe et Nadel, 1978). Ces deux systèmes existent parallèlement et l'utilisation préférentielle de l'un ou de l'autre permet à l'animal de s'adapter efficacement à la situation (Burgess, 2006). Lors de ce travail de thèse, je me suis concentrée sur cette mémoire spatiale chez le Rat afin de comprendre comment le souvenir qui en découle persiste dans le temps.

1.3.2. La représentation égocentrée

La **représentation égocentrée**, *Figure 3*, est relative à la **perception directe que l'individu a de son corps** (via les informations vestibulaires et kinesthésiques) et de l'emplacement de celui-ci au sein de son environnement. Le **point de repère central** de cette représentation est donc **l'individu lui-même**, c'est pourquoi les indices visuels perçus sont rapportés à sa propre position. Ainsi, l'individu effectuant une

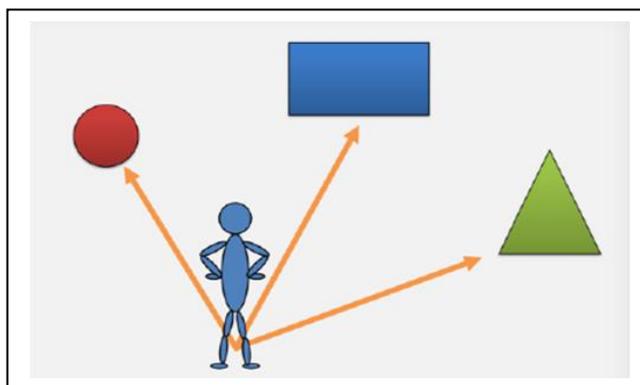


Figure 3 : Schématisation du codage égocentrique de l'environnement spatial. Ce système de codage permet la représentation de l'espace avec pour point central le corps de l'individu. Réalisé par Dr Thibault Cholvin.

succession de mouvements pour atteindre son objectif emploie une **stratégie dite égocentrique**. Un exemple illustratif est le touriste demandant son chemin dans une nouvelle ville et qui suivra les instructions qu'on lui a données pour atteindre le lieu désiré (e.g. tourner à la première à droite, puis tout droit puis tourner à la deuxième à gauche). Ce touriste devra se concentrer sur ce qu'il fait, mais s'il avait répété ce trajet plusieurs fois, l'exécution de ce dernier serait devenue automatique. Plus besoin de penser à ce qu'on fait ! Ce type de **stratégie est économique** en termes de quantités d'informations à traiter et mémoriser, mais **peu flexible**. Le moindre obstacle rencontré sur le trajet (obligeant à modifier son itinéraire) rendrait le parcours initial caduc et engendrerait une désorientation.

1.3.3. La représentation allocentrée

La **représentation allocentrée**, *Figure 4*, (aussi appelée exocentrée) est relative à la **perception des indices**, notamment visuels, au sein de l'espace extracorporel, à celle de leur **configuration dans cet espace**, ainsi qu'à celle des liens qui les unissent. Le point de repère n'est plus l'individu lui-même. Ce type de représentation permet alors de former une représentation globale de l'environnement qui correspond à la **carte mentale** ou **carte cognitive** décrite par O'Keefe et Nadel. Celle-ci permet à l'individu ou à l'animal de naviguer dans son environnement et de réfléchir à l'itinéraire le plus adéquat sans même y être présent physiquement. Ainsi, ce système est beaucoup plus **flexible** que le précédent puisqu'il autorise l'intégration de nouveaux éléments dans la représentation existante (e.g. présence



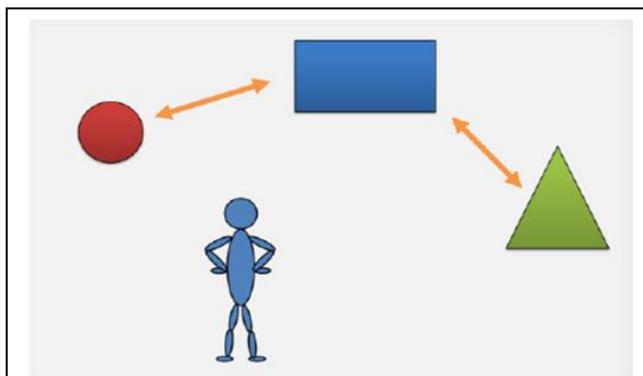


Figure 4 : Schématisation du codage allocentrique de l'environnement spatial. Ce système de codage permet une représentation de l'espace basée sur les liens entre les différents objets. Réalisé par Dr Thibault Cholvin.

d'un obstacle), et la planification de plusieurs trajectoires possibles pour un même objectif. C'est pourquoi l'individu est en capacité d'ajuster son itinéraire sans être désorienté. Cependant, la formation de cette carte cognitive nécessiterait tout de même un passage sous la forme d'une représentation égocentrée (O'Keefe et Nadel, 1978). En effet, seule la répétition du déplacement dans l'environnement (permettant de

découvrir les indices, leurs liens, et les chemins possibles) permettrait de constituer une représentation allocentrée. Ce type de **stratégie** nécessite donc un **traitement** et un **stockage** d'un nombre **important** d'informations, représentant une **charge de travail** plus conséquente que la précédente, expliquant qu'elle ne soit que **peu économique** du point de vue cognitif (Poucet et Benhamou, 1997).

2. L'engramme : représentation physique du souvenir

2.1. Théorie de Semon

Où et comment le cerveau stocke-t-il nos souvenirs? Cette question, qui peut sembler pourtant simple en apparence, fut fortement débattue et étudiée par les spécialistes de la mémoire au cours du siècle dernier. À cette époque, certains pensaient que la mémoire était stockée de façon psychique au sein de l'esprit, alors que d'autres argumentaient que le contenu de celle-ci était conservé physiquement au sein du cerveau (Bergson, 1911 ; McDougall, 1911). Le zoologiste allemand Richard Semon, auteur de deux livres décrivant la psychologie de la mémoire humaine, soutenait cette notion de mémoire organique qu'il appela la Mneme (Semon, 1904 ; Semon, 1909). Selon lui, la **Mneme** serait la **plasticité organique nécessaire** aux effets de l'expérience pour leur **maintien durable** dans le temps. Ainsi, il fut le premier à proposer la **théorie de l'engramme** pour tenter d'élucider le fonctionnement du stockage de la mémoire. Cette théorie permet de distinguer deux processus mnésiques principaux : l'**engraphie**, qui fait référence aux **processus de codage**, de **stockage** de

l'information dans la mémoire, et l'**ecphorie** qui fait référence aux **processus de récupération** permettant le rappel de cette information (Semon, 1923). Il définit aussi le terme d'**engramme** qui se réfère aux modifications propres du système nerveux, visualisables par des **changements physiques durables** distribués au sein de l'encéphale. À l'heure actuelle, ce terme est relativement semblable au terme de trace mnésique employé dans les neurosciences modernes. Selon Semon, l'ecphorie (i.e. réactivation de l'engramme) ne nécessite la présence que d'une partie des informations de l'expérience initiale pour permettre le rappel de l'évènement dans son intégralité (Schacter et al., 1978) : c'est l'exemple de la madeleine de Proust. Ce phénomène fait écho au concept de « *pattern completion* » décrit par Marr (Marr, 1970). Cette théorie postule aussi que l'engramme pourrait exister dans un état dormant entre deux processus actifs d'encodage et/ou de rappel (Josselyn et al., 2015). De plus, Semon propose que chaque évènement vécu crée son propre engramme, et chaque réexposition aux stimuli entraîne la formation de nouveaux engrammes non fusionnés avec le préexistant. Ces engrammes multiples sont, cependant, interconnectés et peuvent entrer en résonance permettant le renforcement du souvenir initial. Cette idée peut être interprétée comme initiatrice de la théorie de la trace multiple proposée par Nadel et Moscovitch en 1997 (Josselyn et al., 2017).

Malheureusement, dans son premier ouvrage, Semon propose d'étendre ses hypothèses, des cellules nerveuses aux autres cellules du corps ; c'est-à-dire d'étendre ses propositions de la mémoire à l'hérédité. Aussi, les changements physiques durables des cellules qu'il nomme Mneme seraient transmis à travers les générations. Ainsi, chaque cellule posséderait la totalité des engrammes hérités - engrammes concernant, entre autre, les caractéristiques morphologiques et l'ensemble des expériences vécues au cours des générations précédentes. Cette extension de la théorie de l'engramme à l'hérédité, qui n'est pas sans rappeler les propositions lamarckistes, posa une hypothèse qui peut sembler invraisemblable : l'hérédité de l'acquis. Cette idée allait à l'encontre des théories de l'époque et suscita une vive opposition au sein de la génétique naissante. Ainsi, malgré son caractère novateur et prédictif des concepts actuels, la théorie de l'engramme tomba dans l'oubli.

2.2. Evolution de la théorie de l'engramme

Près d'un demi-siècle après les propositions de Semon, le psychologue américain Karl Lashley se lança à la recherche des zones cérébrales de l'engramme et de leur localisation au sein du cerveau de Rat. Pour cela, il entraîna les animaux à une tâche assez simple et répétitive de navigation dans un labyrinthe, puis il fit des lésions de tailles variables dans différentes aires corticales afin d'en observer les conséquences sur les performances des animaux. Lashley observa un déficit de mémoire chez les animaux lésés, dont la gravité était proportionnelle à la taille de la lésion, mais indépendante de leur localisation. Il en conclut alors que les **cellules de l'engramme** ne sont pas localisées dans une partie spécifique du cortex, mais seraient **dispersées de manière aléatoire** dans l'ensemble du cerveau : « l'engramme est insaisissable » (Lashley, 1950). La mémoire ne serait donc pas localisée dans une région cérébrale unique et spécifique. Cette conclusion appelle des nuances. En effet, nous savons aujourd'hui que l'**HIP** est une **structure-clé** de la **mémoire** (notamment épisodique). Cependant, la conclusion de Lashley n'est pas entièrement fautive non plus, puisqu'il a été démontré que **plusieurs régions cérébrales** sont capables d'**interagir** ensemble lors des processus de mémorisation, de consolidation et de rappel. C'est par ces études que Lashley popularisa le terme d'engramme.

À la même période, les neurochirurgiens canadiens Wilder Penfield et Theodore Rasmussen firent des observations contradictoires. Dans le but de localiser la région cérébrale à l'origine de convulsions chez des patients épileptiques conscients, ils appliquèrent de petites décharges électriques dans leur cerveau. À la stimulation du lobe temporal, environ 8% des patients revivaient des souvenirs épisodiques aléatoires (Penfield et Rasmussen, 1950). Un patient dit : « *Ma mère est en train d'appeler mon frère, il avait son manteau à l'envers. Je peux juste les entendre.* » (Penfield et Perot, 1963). Un autre s'exclama : « *Oui docteur, oui docteur ! Maintenant j'entends les gens rire, mes amis du Sud de l'Afrique ... Oui il y a mes deux cousins Bessie et Ann Wheliaw* ». Ces phénomènes de rappel présentaient de fortes ressemblances à ce qui se passe réellement lorsqu'un indice externe de l'environnement naturel réactive tout ou partie d'un engramme. Ce fut la première étude indiquant un possible **rôle de stockage** de la **mémoire épisodique** pour le **lobe temporal**. Plus tard, l'étude menée sur le patient Henry Molaison (H.M) par le neurochirurgien William Scoville et la neuropsychologue Brenda Milner confirma cette hypothèse (Scoville et Milner, 1957).

Depuis, d'autres études ont été menées afin de tenter d'identifier et de localiser l'engramme aussi bien chez l'Homme que chez l'animal grâce aux mêmes types de méthodes. Cependant, ces techniques sont en partie limitées quant au marquage spécifique et à la manipulation de l'engramme.

2.3. Manipuler l'engramme

2.3.1. Technologie

Afin de progresser dans les recherches sur la mémoire, il semble donc essentiel d'**identifier l'engramme** et **les cellules** qui le composent pour une expérience donnée. Le challenge de cette identification, au sein de la complexité de l'encéphale, devient moins impressionnant si l'on s'appuie sur l'activité cérébrale naturelle présente au moment d'un apprentissage donné, notamment de l'encodage d'une information (Tonegawa et al., 2015b). La visualisation des cellules de l'engramme a été obtenue par l'utilisation de stratégies de capture neuronale tirant partie de l'**étude de l'expression de gènes immédiats précoces** ou « *immediate early gene* » (IEG). L'expression de ces derniers, comme *c-fos*, *zif268* ou *arc*, est un marqueur de l'**activité neuronale** (Greenberg et Ziff, 1984) permettant d'identifier les neurones activés lors d'une expérience. Cependant, ces gènes présentent un retour au niveau basal (ARNm et protéine) en quelques minutes ou quelques heures. Afin d'outrepasser cette limitation technique, la séquence promotrice de ces IEG peut être utilisée pour conduire la transcription d'une **protéine exogène détectable**, comme la protéine fluorescente verte (GFP) ou la β -galactosidase (i.e. système LacZ). Ceci permet aux **neurones activés** par l'expérience d'être **étiquetés** de manière permanente ou au moins assez longtemps pour pouvoir être observés au terme d'une démarche expérimentale (e.g. Denny et al., 2014; Reijmers et al., 2007).

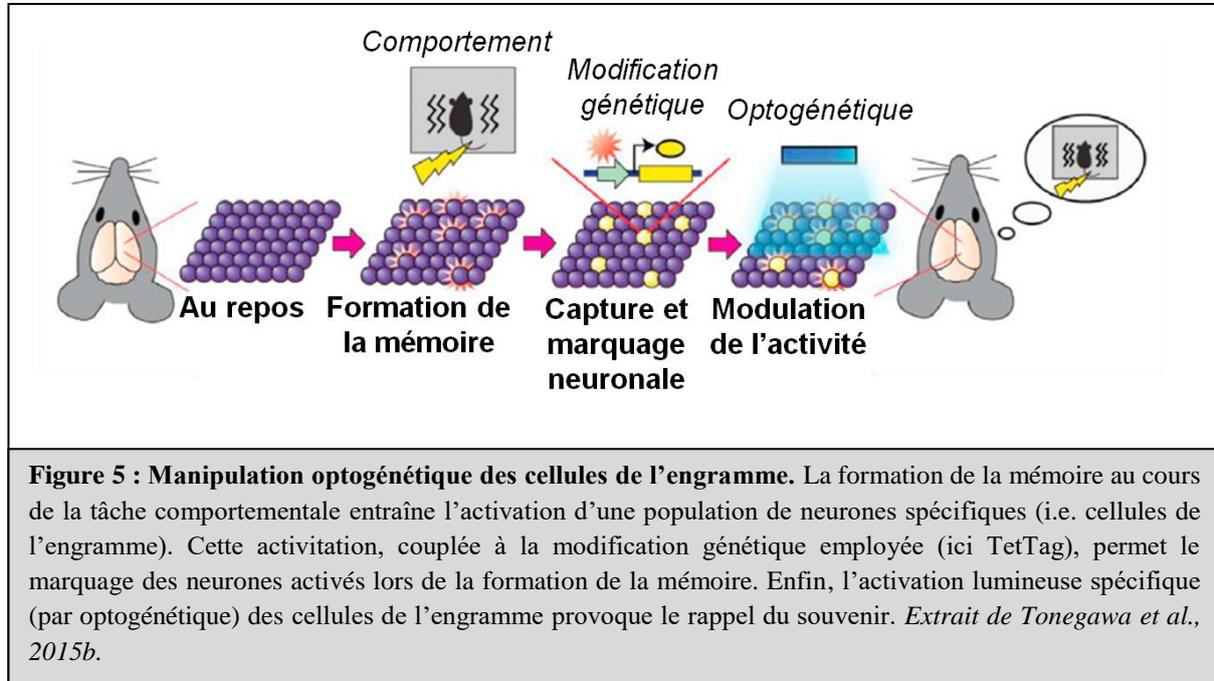
Afin de **restreindre** cet étiquetage à une **fenêtre de temps** particulière (i.e. spécificité temporelle), il est possible d'employer diverses stratégies. Par exemple, la **méthode TetTag** utilise des souris transgéniques contenant **deux transgènes**. Le premier présente la séquence codante pour la **protéine transactivatrice de la tétracycline** (tTA) sous l'action du **promoteur fos**. Le second contient l'**élément de réponse à la tétracycline** (TRE) ainsi que la séquence codante pour la **protéine exogène** voulue. Ainsi, lors d'une tâche effectuée par un

animal, l'activité neuronale entraînera l'activation du promoteur *fos* qui permettra l'expression de la protéine tTA. Celle-ci va se fixer sur TRE, qui permettra à son tour l'expression de la protéine exogène voulue. En présence de tétracycline ou de l'un de ses dérivés (comme la **doxycycline**), l'expression de la protéine tTA (et donc de la protéine exogène) est **bloquée**. Ainsi, pour moduler la fenêtre de temps voulue, il suffit de laisser les animaux sous une diète comprenant de la doxycycline, par exemple, et de retirer cette alimentation quelques temps avant la tâche comportementale (e.g. [Reijmers et al., 2007](#)). Sur le principe, d'autres stratégies existent comme l'utilisation d'un **système Cre-recombinase inducible** par le tamoxifène, dans lequel la fenêtre de temps est alors ouverte par l'injection systémique de tamoxifène (e.g. [Denny et al., 2014](#)). Ces études de capture neuronale ont notamment permis de montrer qu'**une partie** au moins des **neurones activés** lors de l'**encodage** d'une information sont aussi **actifs** au moment du **rappel**, suggérant leur implication dans l'engramme supportant la mémoire ([Josselyn et al., 2015](#)).

Néanmoins, tous les neurones ainsi marqués à l'encodage ne sont pas forcément réactivés lors du rappel, ce qui signifie que le simple étiquetage des neurones par ces stratégies ne permet pas d'identifier les neurones activés essentiels à l'expression de la mémoire. Or, dans la théorie de l'engramme, les cellules de l'engramme présentent une caractéristique essentielle appelée l'ecphorie (i.e. récupération de la mémoire). Pour évaluer cela, il ne faut pas seulement marquer les neurones, mais aussi contrôler (génétiquement, par exemple) leur activité. Cette manière de voir les choses a conduit au développement de nouveaux outils, comme le DREADD ou « *designer receptors exclusively activated by designer drugs* » ou encore l'optogénétique. L'**optogénétique** est une technique reposant sur deux domaines qui sont, comme son nom l'indique, la génétique et l'optique. Grâce à la génétique, cette méthode permet l'insertion dans le génome de gène codant pour une **protéine photo-activable** appelée opsine. Cette insertion peut se faire par l'instillation de vecteur viral directement au niveau de la zone ciblée ou par la génération d'animaux transgéniques. Une fois l'insertion effective, les animaux expriment des opsines qu'il sera possible d'activer à l'aide d'une fibre optique. Ainsi, l'**application de lumière** à une longueur d'onde donnée permettra d'**activer** ou d'**inhiber** les neurones transfectés selon l'opsine employée. Les opsines les plus couramment utilisées sont la **channelrhodopsine 2** (ChR2) et l'**halorhodopsine** (NpHR). La ChR2 est un canal ionique qui, lorsqu'il est exposé à la lumière bleue, s'ouvre et permet l'entrée d'ions Na^+ dans les neurones (activation). La NpHR est un **canal ionique** qui, lorsqu'il est exposé à la lumière jaune, s'ouvre et permet l'entrée



d'ions **Cl** dans les neurones (**inhibition**). Ainsi, par l'utilisation combinée du système TetTag et de l'optogénétique, Liu et collaborateurs ont été les premiers à montrer que l'**activation des cellules marquées** (par la lumière bleue) est suffisante pour **produire le rappel** d'une mémoire de peur conditionnée chez la Souris, *Figure 5* (Liu et al., 2012).



2.3.2. Données expérimentales

Ces avancées technologiques ont permis d'apporter récemment des résultats importants, notamment chez le rongeur, nous permettant de mieux comprendre les propriétés de l'engramme, entre autres dans l'HIP, l'amygdale et le cortex suite à une tâche de conditionnement de peur. Une partie de ces résultats est résumée ici.

La **formation d'un souvenir** conduit au **recrutement** d'une **population spécifique** de neurones lors de l'encodage. Cette assemblée est **réactivée** au moment du rappel, notamment dans l'amygdale (e.g. Han et al., 2007; Reijmers et al., 2007), l'HIP (e.g. Deng et al., 2013; Tayler et al., 2013) et le cortex (e.g. Tayler et al., 2013; Xie et al., 2014). Ces études suggèrent que l'engramme associé à un souvenir n'est donc pas dispersé dans l'ensemble de l'encéphale, comme l'avait proposé Lashley (Lashley, 1950). Cependant, il est tout de même possible d'observer l'intervention conjointe de plusieurs régions cérébrales. Ces études ont aussi permis de montrer que le **rappel de la mémoire** acquise lors de la tâche comportementale est **perturbé** si les **cellules de l'engramme** sont **inhibées** dans l'amygdale

(e.g. Han et al., 2009; Zhou et al., 2009) ou l'HI (e.g. Denny et al., 2014; Tanaka et al., 2014 ; Matsuo, 2015). Des résultats semblables ont été montrés dans le cortex rétrosplénial suite à une tâche de mémoire spatiale (Czajkowski et al., 2014). À l'inverse, **réactiver** de manière artificielle ces **cellules** peut s'avérer suffisant à **provoquer l'expression comportementale** du souvenir (e.g. Liu et al., 2012 ; Cowansage et al., 2014; Ryan et al., 2015). Ces résultats tendent à confirmer les propositions faites par Richard Semon il y a de cela plus d'un siècle. Il est important de souligner que ces réactivations artificielles provoquent une déstabilisation de la mémoire : elle redevient labile et malléable. Ainsi, ces **réactivations** peuvent permettre **l'incorporation de nouvelles informations** et la mise à jour de ces souvenirs (e.g. Choi et al., 2011 ; Ramirez et al., 2013 ; Kwon et al., 2014 ; Redondo et al., 2014). Ces résultats pourraient expliquer les possibles mécanismes intervenant dans la formation de faux souvenirs. De plus, ils laissent entrevoir une solution thérapeutique pour certaines maladies psychiatriques comme la dépression, le stress post-traumatique ou encore l'addiction (e.g. Hsiang et al., 2014 ; Ohkawa et al., 2015). Le sujet de cette thèse ne portant pas sur la manipulation de l'engramme, nous n'irons pas plus loin dans ce paragraphe (e.g. rev. Tonegawa et al., 2015a et b ; Josselyn et al., 2015 ; Poo et al., 2016 ; Josselyn et al., 2018).

Malgré l'émerveillement qu'il est possible de ressentir face à de telles découvertes, il faut tout de même garder à l'esprit que ces études nous informent principalement sur l'engramme et non pas sur les mécanismes qui sous-tendent la formation, le stockage ou encore le rappel d'un souvenir. La route est encore longue avant de pouvoir comprendre, dans toute sa complexité, ce processus cognitif qui étaye ce que nous sommes et nous construit.

3. La consolidation mnésique : stockage du souvenir

3.1. Historique

Comment nos souvenirs évoluent-ils au cours du temps ? Restent-ils les mêmes ? Ou bien sont-ils modifiés pour permettre leur conservation dans le temps ? Sont-ils stockés pour toujours dans les mêmes systèmes neuro-anatomiques ou impliquent-ils de nouvelles structures ou de nouveaux circuits au cours de leur maturation ? Voilà plusieurs questions auxquelles les neurosciences cognitives tentent de répondre depuis quelques décennies.



Si nous nous attardons sur les références historiques connues du concept de consolidation mnésique, tout pourrait avoir commencé un siècle après J.C lorsque Marcus Fabius Quintilianus (pédagogue romain) pointa du doigt « *le fait curieux ... que l'intervalle d'une nuit augmente la force de la mémoire* » et proposa que « *le pouvoir de restitution ... subit un processus de maturation durant cet intervalle* » (Institutio Oratoria 11.2.43). Sans pour autant proposer le terme de consolidation, ce professeur de rhétorique fit naître l'idée que la présence d'un mécanisme de stabilisation est importante pour la persistance d'une mémoire.

Bien des siècles plus tard, le philosophe français Théodule Ribot étudia le cas de patients ayant subi un traumatisme crânien accompagné de lésions cérébrales. Ces derniers présentaient des signes d'amnésie rétrograde temporellement graduée. Autrement dit, leurs souvenirs acquis récemment (considérés comme instables) étaient préférentiellement touchés par l'amnésie, alors que les souvenirs anciens (considérés comme plus stables) semblaient être relativement bien préservés. Ces observations donnèrent lieu à un modèle nommé **la loi de régression de Ribot** ou encore **le gradient de Ribot**. Il proposa que la présence de ce gradient démontre une stabilisation progressive de nos souvenirs en faisant intervenir un processus métabolique transitoire (Ribot, 1881). Il ajouta que le traumatisme crânien subi par les patients qu'il étudiait provoquerait des perturbations de ce processus, ce qui expliquerait la perte de mémoire. Pourtant, ce n'est que 20 ans plus tard que le terme de consolidation fit son apparition.

En effet, au début du 20^{ème} siècle, deux psychologues allemands Müller et Pilzecker confirmèrent les observations de Ribot par l'étude de participants sains. Ils ont montré que les capacités de rappel d'items verbaux s'amélioreraient au cours des premières minutes suivant l'acquisition. Cependant, la présentation de distracteurs au cours de ces quelques minutes (e.g. nouveaux items) altérait les capacités de rappel des premiers items acquis (Müller et Pilzecker 1900). Ils ont, ainsi, suggéré que ces résultats reflétaient l'existence d'une **période post acquisition** lors de laquelle des mécanismes de préservations transitoires sont mis en jeu afin de **stabiliser** ou **consolider** les informations acquises. Toutes perturbations, ou interférence, survenant au cours de cette période agiraient négativement sur la persistance de la mémoire.

Près de 50 ans passèrent avant que des études menées sur les vétérans militaires blessés ne ravivent cette idée. En effet, Russell et Nathan ont observé que la perte de mémoire s'étendait sur les semaines ou les mois ayant précédés l'incident, alors que les souvenirs d'enfance, par exemple, étaient préservés. Ils conclurent que « *les traumatismes du cerveau ont un effet bien plus important sur la mémoire récente que sur la mémoire ancienne.* » (Russell et Nathan, 1946)

Les propositions de Hebb apportèrent une explication biologique et physiologique plausible aux hypothèses que nous venons de décrire, permettant au concept de consolidation de gagner encore du terrain. Il suggéra que les **expériences** sont **encodées** dans des **assemblées neuronales**. Ces dernières sont définies comme des groupes de cellules nerveuses réciproquement interconnectés et activés simultanément lors d'une expérience. Il résumait son point de vue en une phrase laconique : « *What fires together, wires together* ». Si ce profil d'**activité neuronale** est suffisamment **maintenu** ou **répété** après l'évènement, cela favoriserait la **mise en place** de **changements morphologiques** et/ou **métaboliques** des synapses au cours du temps, renforçant les connexions au sein de l'assemblée neuronale (Hebb, 1949). Pour être honnête, il faudrait attribuer les premiers éléments de réflexion qui ont conduit à cette théorie à Santiago Ramon Y Cajal, d'une part, et à Eugenio Tanzi d'autre part. L'un et l'autre pensaient qu'un apprentissage reposait sur l'activation répétée de groupes de neurones qui, de ce fait, voyaient en eux s'opérer des modifications métaboliques dont le résultat allait permettre l'établissement de nouveaux contacts entre les neurones.

L'ensemble de ces résultats livra une base de travail solide aux neurosciences cognitives d'aujourd'hui. Cependant, soulignons, tout de même, que ces données font référence à deux aspects bien distincts du processus de consolidation, qui seront décrits plus en détails dans le paragraphe suivant : la consolidation synaptique et la consolidation systémique.

3.2. Consolidation synaptique

La **consolidation synaptique** regroupe l'**ensemble des mécanismes** (e.g. cascades intracellulaires, activation de gènes, synthèses protéiques, etc) s'effectuant à l'échelle de la **synapse** et permettant d'y stocker les informations acquises. Ces **synapses** représentent le

contact physique entre deux neurones ou entre un neurone et un autre type de cellule (e.g. musculaire ou endocrine). La consolidation synaptique a été décrite dans plusieurs espèces animales et regroupe les processus conduisant à la **modification de l'activité** (plasticité **fonctionnelle**), de la **morphologie** ou encore du **nombre de synapses** (plasticité **structurale**). La plasticité structurale sera abordée de manière plus approfondie dans le chapitre 3 de cette introduction. Ici, nous nous concentrerons rapidement sur les phénomènes de plasticité fonctionnelle.

3.2.1. Différents types de plasticité fonctionnelle

L'une des premières mises en évidence de tels phénomènes fut apportée par la découverte de la **potentialisation à long terme** ou « *Long-Term Potentiation* » (LTP) (e.g. [Bliss et Lómo, 1973](#)). Par l'étude de la connexion monosynaptique s'opérant sur les cellules granulaires du gyrus denté (DG) via la voie perforante de l'HIP, ces auteurs ont montré qu'une stimulation tétaïque brève (15Hz, 10 secondes) engendrait une augmentation de l'amplitude des potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) dans les cellules stimulées. Cette forme de plasticité synaptique est capable de se **maintenir plusieurs heures** après son induction, d'où son nom de potentialisation à long terme. Ce phénomène est la représentation biologique de la théorie de l'apprentissage proposée par Hebb, théorie qui postule que si deux neurones sont activés simultanément, la connexion qui les unit est renforcée ([Hebb, 1949](#)). Ainsi, la LTP conduit au renforcement prolongé des synapses et s'effectuerait principalement dans les **synapses excitatrices**, expliquant la dépendance aux récepteurs postsynaptiques glutamatergiques, notamment de type **NMDA** - N-méthyl-D-aspartate - et **AMPA** - α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxasolepropionate (e.g. [Collingridge et al., 1983](#) ; [Bliss et Collingridge, 1993](#) ; [Park et al., 2004](#)).

La **LTP**, induite par une stimulation à **haute fréquence**, repose soit sur la **formation de nouvelles synapses**, soit sur le **renforcement** et la modification structurale des **synapses existantes**. Il est donc évident qu'un lien important unit plasticité fonctionnelle et plasticité structurale. Ce lien sera abordé plus tard au cours de cette introduction. Les études tentant de dévoiler les secrets de la LTP ont permis d'observer au moins deux phases distinctes : la LTP précoce ou « *early-LTP* » (E-LTP) et la LTP tardive ou « *late-LTP* » (L-LTP).

Comme son nom l'indique, la **E-LTP** intervient au cours de **l'heure** suivant la stimulation (naturelle ou induite). Elle engendre la modification des protéines **préexistantes** et, ainsi, ne

nécessite **pas de synthèse protéique** *de novo*. Ces protéines sont transportées au sein de la synapse permettant la modulation de l'activité synaptique. Ainsi, elle fait, par exemple, appel au recrutement des récepteurs glutamatergiques de types AMPA à partir des réservoirs synaptiques préexistants (récepteurs AMPA vésiculés). En effet, on constate une augmentation du nombre de récepteurs AMPA à la synapse, sur la membrane postsynaptique, ainsi qu'une augmentation de la transmission du signal par ces récepteurs (Herring and Nicoll, 2016; Lisman, 2017). Cette forme précoce de la LTP pourrait être corrélée à la **mémoire à court terme**, mémoire qui ne dure que quelques minutes à quelques heures et qui ne nécessite pas non plus de synthèse protéique.

À l'inverse, la **L-LTP** intervient entre **60 à 90 min** après la stimulation et peut se **maintenir** au-delà de 8 heures (Frey et al., 1988) voire plusieurs jours (Abraham, 2003). Elle repose sur des **changements structuraux durables** comme l'élargissement des synapses préexistantes ainsi que la formation de nouvelles synapses. Ces changements structuraux sont durables et nécessitent le recrutement de la **machinerie traductionnelle** à proximité de la synapse afin de permettre une **synthèse protéique** *de novo* rapide et localisée (Frey et al., 1993). Cette forme tardive de la LTP pourrait être corrélée à la **mémoire à long terme**, donc à une mémoire qui se maintient dans le temps et dont on sait qu'elle nécessite la synthèse de nouvelles protéines.

À l'inverse de la LTP, le processus de **dépression à long terme** ou « *Long-Term Depression* » (LTD), est dû à une stimulation **basse fréquence** qui va provoquer un **affaiblissement prolongé** des synapses. Ce phénomène ferait appel à une action sur des cibles cellulaires et moléculaires identiques à celles de la LTP, mais les mécanismes n'en impliqueraient pas les mêmes types de modulation. La LTD serait cependant dépendante aussi de la synthèse de nouvelles protéines (Manahan-Vaughan et al., 2000; Ramiro-Cortés et Israely, 2013). La LTD peut être vue comme un mécanisme de retour à l'état basal donnant la possibilité aux synapses d'apprendre à nouveau.

3.2.2. Mécanismes moléculaires

Lors d'une **activité neuronale**, *Figure 6*, les **potentiels d'action** arrivant au niveau de la terminaison **présynaptique** permettent l'**entrée de calcium** (Ca^{2+}) au sein de cette dernière, conduisant à l'**exocytose** des vésicules de **neurotransmetteurs** (e.g. libération de glutamate) dans la fente synaptique. Ce dernier va se fixer sur les récepteurs de type **AMPA**. Ainsi, l'activation de ces récepteurs ionotropiques permettra l'**entrée** massive de **sodium**

(Na⁺) dans l'élément **postsynaptique**. Si l'activité neuronale (et donc l'entrée d'ions Na⁺) est suffisante, cela provoque une **dépolarisation** marquée de la membrane postsynaptique et déclenche l'**expulsion du bouchon** magnésium (Mg²⁺) qui bloque les récepteurs NMDA. Cette dépolarisation, combinée à la fixation du glutamate déjà présent dans la fente synaptique, entraîne l'activation des récepteurs **NMDA** permettant l'entrée d'ions Ca²⁺. Il est important de souligner que dans ces conditions le récepteur NMDA est responsable de l'augmentation de l'amplitude des PPSE (potentialisation), ces derniers étant eux-mêmes provoqués par l'ouverture des récepteurs AMPA. Ainsi, le phénomène de potentialisation pourrait être causé par un mécanisme présynaptique (e.g. augmentation de la libération de glutamate), postsynaptique (augmentation du nombre et/ou de la conductance des récepteurs AMPA), extrasynaptique (diminution de la recapture de glutamate), ou encore dû à des changements structuraux internes aux synapses. Il semblerait qu'en réalité, l'ensemble des processus peuvent se produire, présentant chacun une cinétique particulière en fonction de la situation. Cependant, ici, nous nous focaliserons plutôt sur les événements se déroulant dans la partie postsynaptique.

Le Ca²⁺ entrant par le canal, désormais ouvert, des récepteurs NMDA va constituer le **second messenger** principal de l'induction de la LTP. Il semble même essentiel à ce processus. En effet, l'injection intracellulaire de chélateur d'ions divalents, comme l'EGTA, empêche l'induction de la LTP (Lynch et al., 1983). Inversement, une augmentation de la concentration en ions Ca²⁺ dans les synapses favorise la potentialisation de celles-ci. L'action des ions Ca²⁺ va se porter sur l'**activation de cascades de signalisation intracellulaire** impliquant l'activation de diverses protéines kinases ou phosphatases. Parmi les acteurs de cette cascade on comptera, entre autres, les protéines kinases A et C (PKA et PKC), qui sont fondamentales pour l'induction de la LTP (Malinow et al., 1988; Silva et al., 1992 ; Roberson et Sweatt, 1996); ainsi que la protéine kinase II calcium-calmoduline dépendante (CamKII), qui est l'une des protéines les plus abondantes dans les épines dendritiques (i.e. élément postsynaptique). Cette dernière va, par exemple, phosphoryler un type de sous unité des récepteurs AMPA (GluA1) entraînant l'augmentation de sa conductance (Derkach et al., 1999 ; Lisman et al., 2012). Ces kinases sont aussi capables de promouvoir le recrutement des récepteurs AMPA à la membrane postsynaptique (Hayashi et al., 2000). La raison de ce recrutement est très simple : plus il y a de récepteurs AMPA, plus il y a de sites potentiels de fixation du glutamate, plus l'influx de Na⁺ sera important, plus la membrane postsynaptique sera susceptible d'être dépolarisée et donc de générer un PPSE ample, cela pour la libération d'une

même quantité de glutamate. Ainsi, la synapse est **potentialisée**. Bien évidemment, ces kinases peuvent agir sur un ensemble de processus (e.g. changement structuraux, expression de gènes, synthèse protéique, etc.) en activant diverses voies de signalisation comme celle des MAPK ou « *mitogen-activated protein kinases* » (Zhu et al., 2002 ; Thomas et Huganir, 2004 ; Makino et Malinow, 2009). Ces dernières permettent ensuite l'expression de divers facteurs de transcription qui serviront à l'expression de gènes impliqués, entre autres, dans la modulation de la structure ou des fonctions de la synapse (e.g. rev. Kandel, 2001).

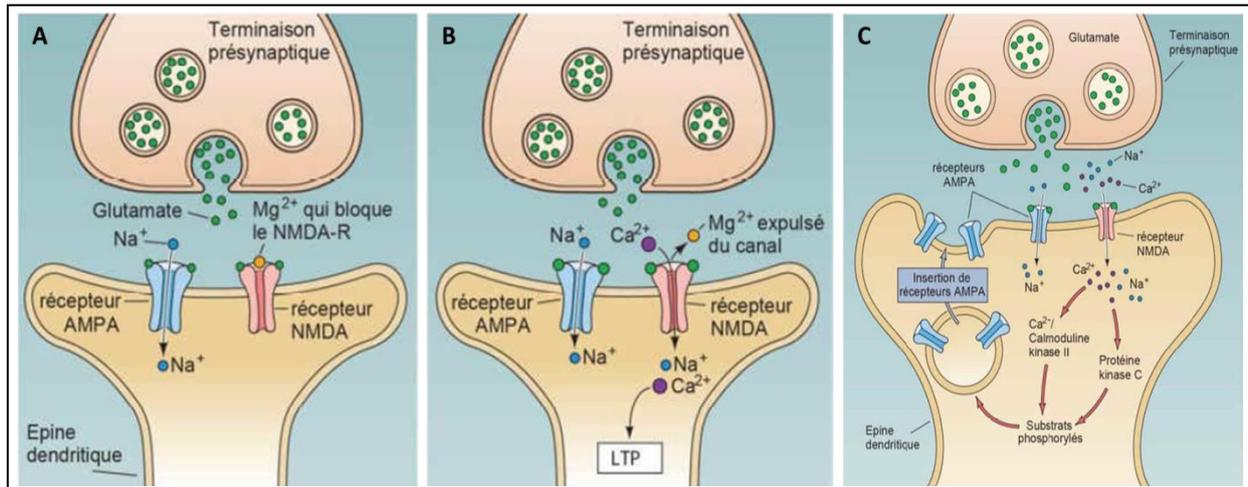


Figure 6 : Mécanismes moléculaires de la LTP. (A), (B) Représentations schématisées des mécanismes conduisant à l'entrée de calcium à travers les récepteurs NMDA. (C) Représentation schématisée des mécanismes induits (e.g. cascades intracellulaires) par l'entrée de Ca^{2+} qui aboutissent à la potentialisation de la synapse (et donc de l'épine dendritique). D'après Purves, 2004.

À l'inverse de la LTP, lors de la **LTD**, l'arrivée des potentiels d'action n'engendre qu'une **faible augmentation de la concentration** en Ca^{2+} dans l'élément postsynaptique. Ici, l'action du Ca^{2+} se portera peu, voire pas, sur les protéines kinases, mais plutôt sur des protéines phosphatases (Morishita et al., 2001). Contrairement aux kinases comme la CamKII, celles-ci peuvent, par exemple, déphosphoryler une des sous unités des récepteurs AMPA (GluA1) induisant l'endocytose de ces derniers, et donc une plus faible entrée de Ca^{2+} (Collingridge et al., 2004 ; Hu et al., 2007). La LTD peut aussi faire intervenir les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR) (Oliet et al., 1997). Lorsqu'ils sont impliqués, ils peuvent entraîner l'activation de la protéine kinase C (PKC) par la voie de l'inositol triphosphate (IP3). La LTD peut être vue comme un mécanisme de retour à l'état basal. Mon travail n'étant pas focalisé sur la plasticité fonctionnelle, je n'aborderai pas plus en détails ces mécanismes (e.g. rev. Yuste et Bonhoeffer, 2001 ; Mayford et al., 2012 ; Lüscher et Malenka, 2012 ; Nicoll, 2017).

3.2.3. Théorie de l'étiquetage et de la capture synaptique

Une question importante se posa suite à la découverte de la LTP. Quels sont les mécanismes cellulaires et moléculaires menant à la consolidation synaptique ? Comment les protéines nécessaires à la mise en place et au maintien de la LTP sont-elles adressées spécifiquement aux synapses activées lors d'une expérience en évitant d'affecter les synapses voisines ?

La **théorie de l'étiquetage et de la capture synaptique** ou « *Synaptic Tagging and Capture theory* » (STC), *Figure 7*, tente d'apporter un début de réponse à ces questions. Initialement proposée par **Frey et Morris**, elle postule que l'**encodage** d'une **trace mnésique** entraîne le déclenchement d'une **LTP précoce** (Frey et Morris, 1997). Ce phénomène entraîne parallèlement la création du **potentiel** nécessaire à la rétention à long terme de l'information. Ce potentiel est représenté par la mise en place d'un **étiquetage local** (ou *tag*) de la synapse, et permettrait la **conversion** de la LTP précoce en **LTP tardive**, et par conséquent la consolidation de l'information. Il représenterait un état spécifique de la synapse, probablement dépendant de plusieurs molécules (e.g. CamKII ; Martin et Kosik, 2002). Il ne serait pas non plus suffisant à lui seul pour induire la consolidation de l'information (i.e. conversion en LTP tardive). En effet, ce *tag* serait l'élément permettant de **capturer des protéines/produits liés à la plasticité** ou « *Plasticity-Related Proteins/products* » (PRP), dont la synthèse serait effectuée dans le soma ou les dendrites du neurone. Pour que cela puisse se produire, tous deux (*tag* et PRP) doivent être présents au **même endroit** (synapse) et au **même moment** (Viola et al., 2014). Ces étiquetages doivent respecter 3 critères principaux : être localisés à la **synapse**, être transitoirement **présents** et être capables d'**interagir** avec les PRP. Les premières molécules ciblées répondant à ces caractéristiques sont les **protéines kinases** comme celles que nous avons déjà citées précédemment. Les PRPs, eux, seraient donc des protéines dites de plasticité dont la synthèse serait engendrée par l'activation de cascades intracellulaires et qui seraient donc essentielles au maintien de la LTP tardive ; on peut citer GluR1, Homer1a, PKM ζ et Arc (Redondo et Morris, 2011). C'est leur **interaction** qui permettrait la **stabilisation** et le **maintien** de la LTP, ainsi que la **consolidation de la trace mnésique**. La synthèse des PRP serait engendrée par la stimulation de la synapse concernée ou de toute autre synapse du même neurone dans une fenêtre de temps définie. En effet, la formation et la consolidation de la mémoire sont des processus

dynamiques influencés par l'état du système. Ainsi, selon cette théorie, un événement mineur suivi ou précédé d'un événement majeur pourrait être consolidé (Frey et Morris, 1997, 1998).

Afin d'aboutir à cette hypothèse, Frey et Morris ont stimulé une première synapse S1 pour induire une LTP tardive. Cette stimulation provoque la mise en place de l'étiquetage au sein de S1 et une synthèse protéique *de novo* au niveau du corps cellulaire du neurone. Ce processus permettrait de signaler qu'une modification (i.e. plasticité synaptique a eu lieu) au sein de S1. Ils ont ensuite appliqué de l'anisomycine qui est un inhibiteur de la synthèse protéique. Puis, ils ont stimulé une autre synapse S2 sur le même neurone et ont observé la mise en place d'une LTP tardive. Les auteurs en concluent que les protéines synthétisées suite à la première stimulation sont capturées par S2 grâce à la mise en place de l'étiquetage de cette seconde synapse permettant le développement de la LTP tardive. En effet, selon eux, l'étiquetage serait présent durant 2 à 3 heures et indépendant de la synthèse protéique (Frey and Morris, 1997). Une synapse stimulée 2 ou 3 heures avant (ou après) une autre synapse ayant été renforcée pourra potentiellement être renforcée à son tour. Ainsi, l'encodage d'une information particulière est dépendante des événements moléculaires et cellulaires intervenants dans une fenêtre de temps précise (i.e. état du système ; Redondo et Morris, 2011).

Une extension de ce modèle a été proposée par Moncada : la **théorie de tagging comportemental** (Moncada et al., 2007). Cette hypothèse postule qu'une **expérience non pertinente** qui ne serait normalement pas consolidée pourrait être finalement **maintenue** à long terme grâce à un phénomène de **couplage temporel** avec une **seconde expérience** indépendante, mais dont la valence aurait été plus importante (nouveau, motivation, charge émotionnelle ou affective). Elle reflète au niveau comportemental ce qui se passe au niveau cellulaire. Moncada et collaborateurs ont démontré qu'une expérience forte (exposition à un nouvel environnement) temporellement rapprochée d'une expérience faible (entraînement léger à une tâche) permettait la consolidation de l'expérience faible dont la trace mnésique ne perdurerait pas en temps normal (Moncada et Viola, 2007). Au sein d'une autre équipe, Ballarini et collaborateurs ont effectué un test de reconnaissance d'objets : les rats pouvaient explorer deux objets identiques placés à deux endroits différents d'un champ ouvert familier pendant 4 min. Ce type d'entraînement ne permet pas aux animaux de former une trace mnésique se maintenant plus de 24 heures. Après 15 minutes, ils ont placé l'animal dans un nouveau champ ouvert pendant 5 minutes. Ainsi, les rats présentaient un souvenir durable de

la localisation des deux objets lors du test à 24 heures. Ils ont obtenu le même résultat lorsque l'exposition au nouvel environnement s'effectue avant la session d'entraînement à la reconnaissance d'objet (Ballarini et al., 2009). Ces auteurs ont mis en évidence une fenêtre de temps limitée (1 heure avant et jusqu'à 2 heures après le test à 24 heures) lors de laquelle l'interaction des deux événements permettait la rétention de l'évènement faible.

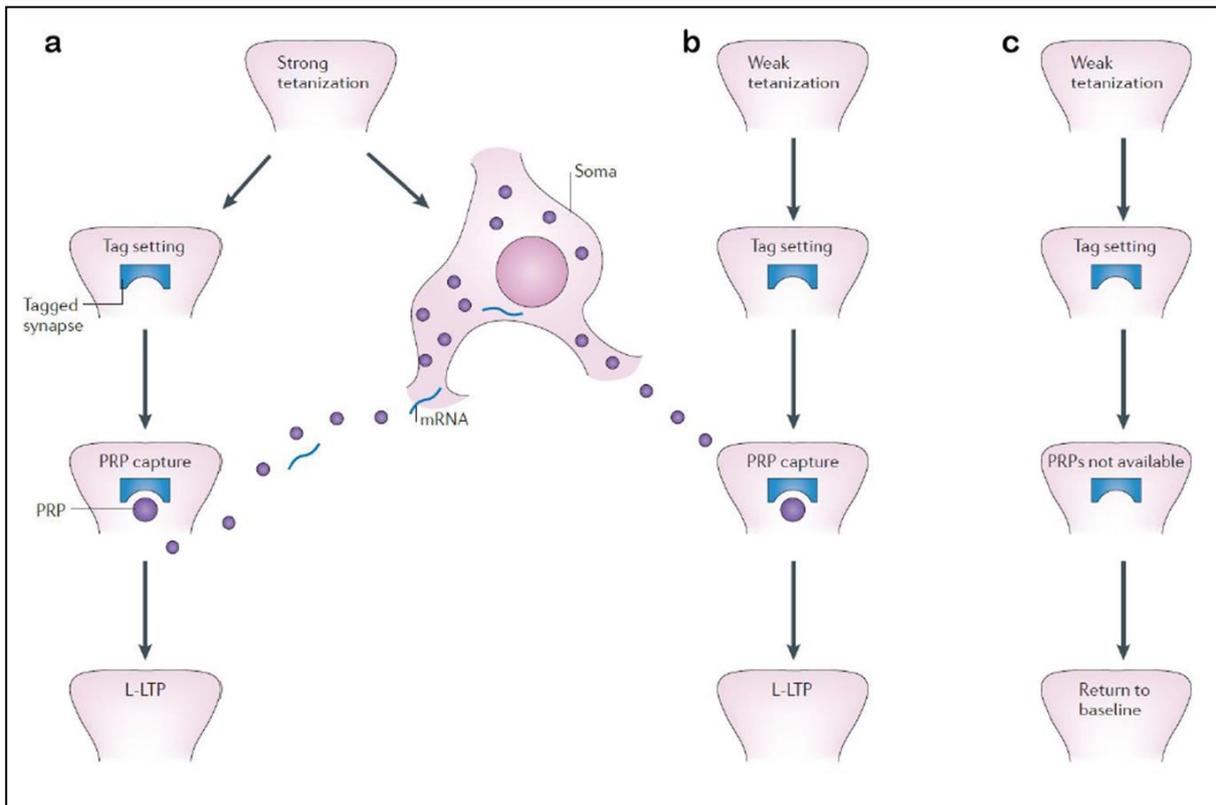


Figure 7 : Théorie de l'étiquetage et de la capture synaptique. (a) Lors d'une stimulation forte et répétée (*strong tetanization*) d'une synapse on observe la mise en place de l'étiquetage synaptique (*tagged synapse*) ainsi que la synthèse de molécules diffusibles appelées PRPs (à droite). La capture de ces derniers par les synapses étiquetées est nécessaire à la LTP tardive (*L-LTP*). (b) Lors d'une stimulation faible (*weak tetanization*), la présence de PRPs accessibles à proximité de cette synapse étiquetée lui permet également d'atteindre le stade de L-LTP. (c) Lors d'une stimulation faible (*weak tetanization*), l'absence de PRPs, ne permettra pas une potentialisation de la synapse qui retrouvera son état basal (*return to baseline*). D'après Redondo et Morris, 2011.

Ces études mettent en lumière les mécanismes potentiels ayant lieu au sein de la synapse activée elle-même. Cependant, la consolidation mnésique ne se résume pas à ce seul processus. En effet, comme nous l'avons dit précédemment pour décrire les phénomènes de mémorisation, le stockage d'un souvenir à long terme nécessite un second processus de consolidation : la consolidation systémique.

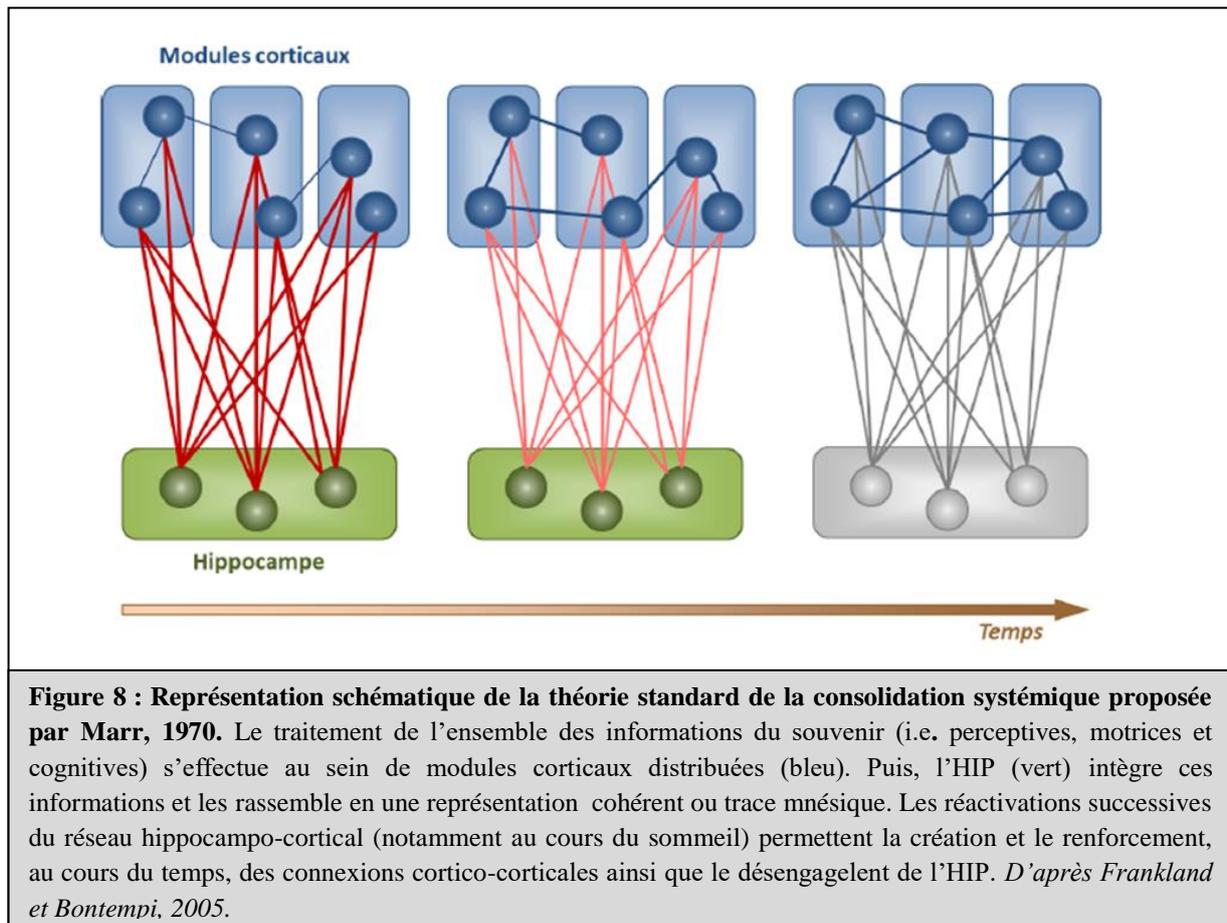
3.3. Consolidation systémique

La **consolidation systémique** implique une **réorganisation progressive** de la trace mnésique au sein des **structures cérébrales** (ou systèmes). Elle intervient de manière **parallèle** et **séquentielle** à la consolidation synaptique (Diekelmann et Born, 2010). Comme nous l'avons vu à la fin de la section 3.1 de ce chapitre, l'HIP serait une structure-clé de la formation des souvenirs. En effet, vu comme le siège de nos souvenirs et de l'âme, il ne serait pourtant nécessaire que transitoirement. Aujourd'hui, plusieurs théories ont été avancées pour tenter d'expliquer le fonctionnement de la consolidation systémique. Nous allons ici en décrire quelques-unes.

3.3.1. Théorie standard de la consolidation systémique

La première théorie fut la **théorie standard de la consolidation**, *Figure 8*, proposée par Marr en 1971. Initialement, il postula que l'HIP encoderait rapidement et maintiendrait en mémoire les événements survenus au cours de la journée (i.e. récent). Ces informations seraient ensuite transférées au néocortex afin d'y subir une réorganisation leur permettant d'être stockées durablement (Marr, 1970, 1971). Selon lui, le transfert s'opèrerait par la réactivation, notamment au cours du sommeil, des circuits hippocampo-corticaux impliqués lors de l'encodage. Actuellement, quelques mises à jour ont été apportées à ce modèle. L'expérience initiale serait **encodée** simultanément au sein de l'**HIP** et du néocortex, et plus particulièrement du **CPFm**. Ainsi, lors de l'encodage, les informations liées à l'évènement à mémoriser (e.g. odeur, son, image, émotion, etc.) seraient traitées par diverses régions corticales (e.g. cortex auditif, cortex visuel, etc.) et l'HIP intégrerait l'ensemble de ces données afin de créer une **trace mnésique cohérente** de l'évènement à mémoriser en son sein. Lors des phases de sommeil, la **répétition d'un dialogue réciproque** entre l'HIP et le CPFm (i.e. réactivation du circuit hippocampo-cortical) permettrait le **transfert** de la trace mnésique vers les sites corticaux. Ce second lieu de stockage résulte de la **création** et du **renforcement** de **liens cortico-corticaux**. Ainsi, au fur et à mesure du temps, il y aurait un **désengagement progressif** de l'HIP au profit du CPFm. Le rappel d'une **mémoire récente** (quelques heures/jours chez le Rat) serait donc dépendant de l'**HIP**, tandis que celui d'une **mémoire ancienne** (quelques semaines/mois chez le Rat) serait dépendant du **CPFm** (Squire et Alvarez, 1995 ; Frankland et Bontempi, 2005). Cette théorie a eu le mérite de mettre en

avant, pour la première fois, l'importance des interactions qui ont lieu entre l'HIP et le CPFm dans les processus de consolidation des souvenirs.



Plusieurs études, que ce soit chez l'Homme ou l'animal, ont tenté de vérifier ces hypothèses et d'approfondir le sujet. Par exemple, l'équipe de Bontempi a observé l'activité de différentes aires cérébrales chez la souris lors du rappel d'un souvenir spatial récent et ancien. Pour cela, ils ont eu recours à une technique d'imagerie cérébrale utilisant du (14C)2-désoxyglucose. Cette molécule est un analogue radioactif du glucose non dégradé. Lors d'une activation d'une région cérébrale, les cellules nerveuses en activité nécessitent un apport en glucose plus important. Dans l'expérience de Bontempi et collaborateurs, une partie du glucose utilisé sera donc l'analogue radioactif. Une fois dans la cellule, ce dernier ne pourra être dégradé et les cellules en activité seront radioactivement marquées ; plus elles seront actives, plus elles nécessiteront de glucose, plus elles auront accumulé de radioactivité. Les auteurs ont ainsi pu observer, après une augmentation initiale, une diminution de l'activité métabolique de l'HIP au cours du temps au profit du CPFm, et plus particulièrement du CCA, pendant la tâche de rappel (Bontempi et al., 1999). Ces données ont été les premières à démontrer un engagement cortical prononcé lors du rappel d'un souvenir ancien. Autre

exemple, toujours dans la même équipe de recherche, les auteurs ont analysé le profil d'expression d'IEG comme *c-fos* et *zif268*, chez la Souris, après le rappel d'un souvenir spatial récent et ancien. Ainsi, de la même manière que dans l'étude précédente, ils ont démontré que l'expression des protéines cFOS et ZIF était augmentée dans l'HIP pour le rappel d'un souvenir récent et non pour celui d'un souvenir ancien. Le profil inverse a été mis en évidence au niveau du CPFm, et notamment du CCA (Maviel et al., 2004). Afin de montrer l'implication fonctionnelle de cette activation dans le rappel, Frankland et collaborateurs ont effectué une inactivation transitoire du CCA juste avant le test de rappel. Cette inactivation n'affecte pas le rappel d'un souvenir récent, mais elle empêche celui d'un souvenir ancien, preuve supplémentaire de l'engagement cortical lors du rappel d'un souvenir ancien ; l'inactivation de l'HIP affectait le rappel du souvenir récent, non celui du souvenir ancien (Frankland et al., 2004).

De nombreuses autres études ont été menées chez l'Homme et l'animal, toutes mettant en évidence l'importance des liens hippocampo-corticaux et l'implication transitoire de l'HIP (e.g. Winocur, 1990 ; Sutherland et al., 2001 ; Dudai, 2004 ; Squire et al., 2004 ; Winocur et coll., 2005), étayant davantage la théorie standard de la consolidation. Cependant ce modèle présente quelques limites. En effet, les données de la littérature, notamment chez l'Homme (e.g. rev. Winocur et al., 2010 ; Squire et al., 2017) mettent en lumière que l'amnésie rétrograde temporellement graduée proposée par Ribot, théorie dans laquelle la théorie standard prend des racines, n'est pas systématiquement observée. Les pertes de mémoire sans gradient temporel sont généralement associées à des tests évaluant la mémoire épisodique, alors que celles avec gradient temporel sont plutôt observées lorsque la mémoire testée est de type sémantique. La distinction entre les différents types de mémoire n'est pas abordée dans ce modèle standard.

3.3.2. *Théorie des traces multiples*

Partant de la constatation que nous venons d'évoquer, Nadel et Moscovitch ont proposé une théorie dérivée de celle de Marr : la **théorie des traces multiples**, *Figure 9*. La formation, la rétention et le rappel d'un souvenir implique les caractéristiques suivantes (Nadel et Moscovitch, 1997) :

- l'**HIP encode** rapidement et systématiquement toutes les informations acquises,
- ces informations sont encodées de **manière distribuée** à travers l'HIP,

- les neurones **hippocampiques** et les neurones **corticaux** mis en jeu sont en **relation**,
- cet **ensemble hippocampo-cortical** constitue la **trace mnésique** de l'évènement.

Ces 4 premières caractéristiques forment le socle commun avec la théorie standard de la consolidation. Les caractéristiques spécifiques de la théorie de la trace multiple sont que :

- chaque **réactivation** de la trace intervient dans un **environnement** neuronal et/ou contextuel **différent** de celui de l'encodage,
- chaque **réactivation** de la trace entraîne la formation d'une **nouvelle trace** distincte de la première et qui est à nouveau distribuée au sein du réseau hippocampo-cortical,
- chacune des **traces** d'un souvenir particulier partage **tout** ou **une partie** de l'information de l'évènement initial.

Ainsi, pour une **mémoire de type épisodique**, la répétition des réactivations engendrerait un stockage du souvenir s'étendant de plus en plus au sein du réseau hippocampo-cortical. Aussi, plus le souvenir vieillit, plus il est composé d'un nombre important de traces distribuées au sein du réseau hippocampo-cortical. Ce phénomène faciliterait leur rappel et permettrait aux souvenirs (éventuellement épisodiques) anciens de mieux résister aux dommages restreints à l'HIP que ne le feraient les souvenirs récents, expliquant l'amnésie rétrograde temporellement graduée observée chez certains patients. En revanche, une lésion complète de l'HIP provoquerait une amnésie rétrograde totale non temporellement graduée, et ce quel que soit l'âge de la trace.

En revanche, pour une **mémoire de type sémantique**, la répétition des réactivations engendrerait la création de traces multiples, en relation les unes avec les autres, permettant l'extraction des informations factuelles (i.e. sémantique) d'un évènement et leur intégration au sein d'un schéma cortical préexistant. Ainsi, les informations sémantiques deviendraient, au fur et à mesure, indépendantes de l'HIP. C'est pourquoi, lors d'une atteinte hippocampique on observerait une altération de la mémoire récente, alors que la mémoire plus ancienne serait préservée. Les connaissances factuelles (sémantiques) acquises dans un contexte précis seraient séparées de celui-ci et stockées de façon indépendante. Ainsi, en accord avec la théorie standard de la consolidation, la mémoire sémantique ne dépendrait de l'HIP qu'au cours d'une période transitoire au profit du néocortex.

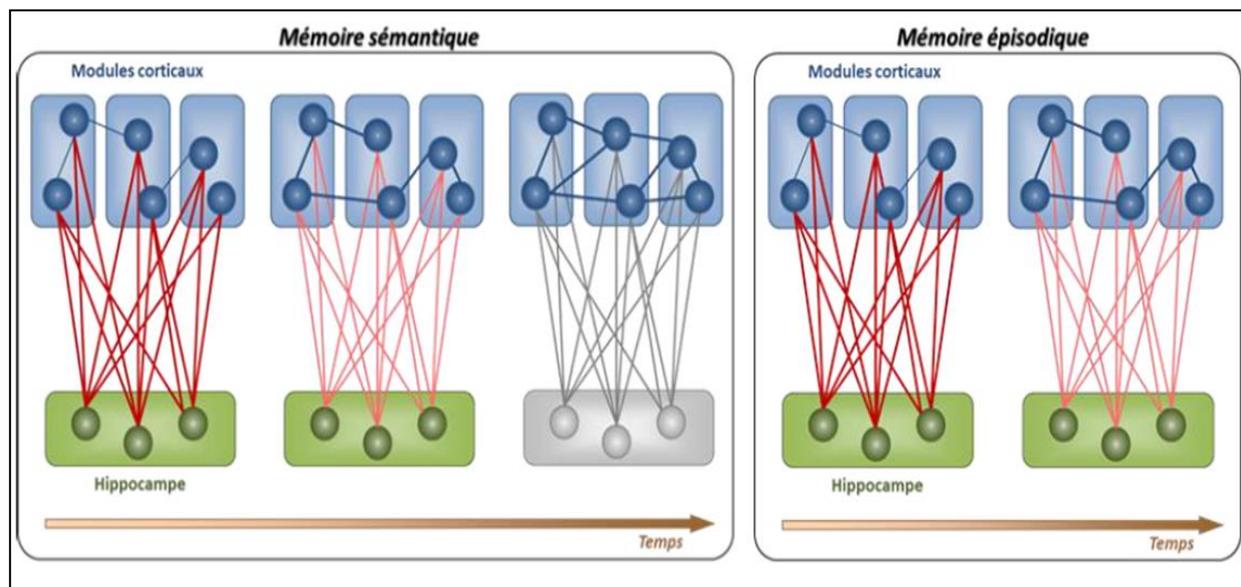


Figure 9 : Représentation schématique de la théorie des traces multiples proposée par Nadel et Moscovitch, 1997. Dans le cas d'une mémoire de type sémantique, on observe un désengagement progressif de l'hippocampe au profit d'un des modules corticaux (bleu). Inversement, dans le cas d'une mémoire de type épisodique, l'HIP (vert) reste engagé dans le rappel *D'*après Frankland et Bontempi, 2005.

Plusieurs études soutenant cette théorie sont apparues depuis sa proposition, aussi bien chez l'Homme (e.g. Viskontas et al., 2000 ; Maguire et Frith, 2003 ; Addis et al., 2004) que chez le rongeur (e.g. Clark et al., 2005; Martin et al., 2005; Winocur et al., 2005). Cependant, certaines études tendent à montrer que le facteur prédictif de l'implication de l'HIP dans le rappel des souvenirs anciens pourrait être le niveau de détails, de précision de la représentation au moment du rappel. En effet, il a été montré que la richesse en détails, la charge émotionnelle, ainsi que l'importance de l'expérience vécue impactent l'activité de l'HIP au moment du rappel (Addis et al., 2004 ; rev. Rosenbaum et al., 2001). Ce dernier serait donc essentiel au rappel détaillé du passé et non au rappel d'une version plus globale de l'évènement qui serait devenu indépendant du contexte d'acquisition. La mise en évidence d'une perte de détails au cours du vieillissement de souvenirs autobiographiques soutient cette hypothèse (Levine et al., 2002). Au cours du temps, les traces mnésiques seraient stéréotypées et sémantisées (Piolino et al., 2003).

3.3.3. Théorie de la transformation

Winocur, Bontempi et Moscovitch ont proposé une évolution de la théorie des traces multiples : la **théorie de la transformation**. Cette dernière postule que les **souvenirs autobiographiques** et/ou **spatiaux** chez l'Homme, aussi bien que les souvenirs **dépendant**

du contexte chez le Rat, pourraient se **transformer** et **changer** de nature au cours du temps. En effet, un **souvenir précis** hautement détaillé et dépendant du contexte (i.e de type épisodique) serait **remanié**, au fur et à mesure que le temps passe, en un **souvenir schématique** moins détaillé et indépendant du contexte spatio-temporel de sa formation : on parle de **généralisation** ou **sémantisation**. En effet, par la répétition des réactivations d'un même souvenir, les points communs à toutes les traces mnésiques seraient extraits permettant, ainsi, la rétention des informations essentielles au sein de régions extrahippocampiques comme le néocortex, indépendamment des contextes. Aussi, tant que l'ensemble des détails d'un souvenir reste accessible, ce dernier dépendra toujours de l'HIP quel que soit son âge. Ces deux formes de représentations peuvent coexister et interagir de façon dynamique. C'est pourquoi, un souvenir s'exprimant sous sa forme schématique pourrait retrouver sa spécificité contextuelle et à nouveau engager l'HIP en fonction des conditions dans lesquelles le rappel a lieu (Winocur, 2010 ; Winocur et Moscovitch, 2011).

À l'aide d'une tâche de conditionnement de peur au contexte, Winocur et collaborateurs ont étudié l'évolution au cours du temps d'un souvenir dépendant du contexte chez le Rat. Pour cela, ils ont effectué un test de rappel à deux délais différents dans un contexte identique à celui de la session d'acquisition. Pour évaluer la précision du souvenir rappelé aux différents délais, ils ont effectué un autre test de rappel dans un contexte différent de celui de la session d'acquisition. Lors du test de rappel d'un souvenir récent, les rats montrent de meilleures performances lorsqu'ils sont exposés au contexte identique (vs contexte différent). À l'inverse, les performances dans le contexte différent augmentent avec le délai et les animaux ne sont pas capables de différencier ce contexte modifié du contexte initial. Ces résultats montrent que le souvenir récent est lié au contexte, alors qu'avec le passage du temps, cette sensibilité contextuelle diminue (Winocur et al., 2007). Les auteurs en concluent que la représentation à long terme s'est modifiée par un phénomène de généralisation. Ces observations confirmant la théorie de la transformation ne sont pas uniques (e.g. Wiltgen et Silva, 2007 ; rev. Winocur et al, 2010). Il semblerait que cela soit aussi vrai pour les représentations spatiales, notamment familières. Celles-ci seraient, comme nous venons de le voir, stockées au niveau cortical sous une forme schématique, moins précise et moins flexible, mais tout de même suffisante pour permettre la navigation spatiale indépendamment de l'HIP. À ce propos, Maguire et collaborateurs ont évalué la capacité des chauffeurs de taxis londoniens à trouver de nouveaux itinéraires dans un contexte familier où



tous les trajets connus étaient bloqués. Dans un tel contexte expérimental, l'imagination d'un nouveau trajet n'est pas associée à l'activation de l'HIP (Maguire et al., 1997).

Actuellement, ce modèle a légèrement évolué. En effet, il est possible de considérer que si ces représentations (épisode et sémantique) diffèrent l'une de l'autre, elles doivent nécessairement être modulées par différentes régions cérébrales. Appliquant ce principe, Winocur et Moscovitch, proposent qu'une mémoire initialement dépendante de l'HIP, et qui est devenue dépendante du cortex, doit être différente dans sa nature, ne serait-ce que par le fait que les capacités de traitement et de représentation de ces deux structures ne sont pas équivalentes (Winocur et Moscovitch, 2011). C'est pourquoi, ces auteurs postulent que l'HIP créerait le même type de représentation le long de son axe antéro-postérieur (dorso-ventral chez le rongeur), mais cela à des échelles différentes. À son extrémité postérieure (dorsale), en conjonction avec ses connexions avec le cortex postérieur, ces représentations capteraient l'information détaillée concernant les aspects locaux, spatio-temporaux et perceptuels de l'évènement. À son extrémité antérieure (ventrale), ces représentations capteraient, en conjonction avec ses connexions avec le cortex antérieur (e.g. CPF, amygdale, etc.), les aspects globaux, conceptuels et émotionnels d'un évènement (rev. Winocur et al., 2016 ; Sekeres et al., 2018).

À l'heure actuelle, il existe encore d'autres théories que je ne développerai pas ici. Chacune apporte une nouvelle nuance, un nouveau regard sur la théorie standard de la consolidation ; tentant de coller au mieux à l'ensemble de la littérature déjà présente sur le sujet. Malgré des divergences, un consensus général semble ressortir, pointant le fait qu'un dialogue hippocampo-cortical est indispensable à la consolidation systémique d'un souvenir, et donc à la persistance de celui-ci. Cependant, depuis bientôt 30 ans, il est connu que l'HIP projette, par une voie monosynaptique directe vers le CPFm, mais que ce n'est pas le cas en sens inverse (Jay et Witter, 1991). La présence d'un ou plusieurs relais pour assurer ce dialogue semble donc indispensable. C'est pourquoi, dans le chapitre suivant, nous allons nous intéresser à un candidat sérieux : les noyaux ReRh du thalamus au sein d'un circuit qui associe l'HIP, le CPFm et le thalamus.

CHAPITRE 2 :

Le circuit hippocampo- cortico-thalamique

CHAPITRE 2 : LE CIRCUIT HIPPOCAMPO-CORTICO-THALAMIQUE

1. L'hippocampe

1.1. Description anatomique

L'HIP est une **structure du télencéphale** présentant une architecture plutôt bien conservée entre les espèces. Son nom lui a été donné par Giulio Cesare Aranzio, anatomiste et chirurgien italien, qui compara sa forme atypique chez l'Homme à celle de l'hippocampe marin : *Hippocampus leria*.

Chez l'Homme comme chez le Rongeur, l'HIP est une structure **bilatérale** (i.e. présente de manière symétrique dans chaque hémisphère) du **lobe temporal médian** située sous les portions temporales et postérieures du cortex. Placé dans la continuité du fornix, il est prolongé à son extrémité par l'amygdale. Chez le Rat, il se compose de **deux sous-structures** imbriquées en U inversés : le **gyrus denté** (DG) et la **corne d'Ammon** (CA). Cette dernière est elle-même divisée en 3 sous-parties : CA1, CA2 et CA3. Il est important de distinguer l'HIP de ce qu'on a coutume d'appeler la formation hippocampique. En effet, la **formation hippocampique** correspond à l'**HIP** additionné du **subiculum**. Enfin, la **région hippocampique** fait référence à la **formation hippocampique** additonnée de la **région parahippocampique** qui contient les sous-régions suivantes : le cortex entorhinal, le cortex périrhinal, le présubiculum et le parasubiculum (Andersen, 2007). Sa structure incurvée a permis aux chercheurs de distinguer l'HIP dorsal (HIPd) de l'HIP ventral (HIPv). Chez l'Homme, on parlera de l'HIP postérieur et antérieur, respectivement (De Hoz et al., 2003). Par l'analyse de la cartographie de l'expression génétique de ces subdivisions, Fanselow et Dong proposent l'existence d'une région médiane supplémentaire entre HIPd et HIPv: l'HIP intermédiaire (HIPi ; Fanselow et Dong, 2009).

L'HIP est organisé selon une **structure laminaire** de trois (DG) à six couches (CA3) selon les sous-régions. Au sein de la **corne d'Ammon**, les 6 couches présentes sont, de la plus profonde à la plus superficielle :

- la *stratum oriens* (ou couche polymorphe), où se trouvent les dendrites basales des cellules pyramidales ainsi que des interneurons inhibiteurs. Cette couche reçoit principalement les projections intrinsèques de l'HIP.

- la *stratum pyramidale* (ou couche pyramidale) est la couche principale contenant le corps cellulaire des neurones pyramidaux. Ces derniers sont les principaux neurones excitateurs glutamatergiques de l'HIP.

- la *stratum lucidum* n'est présente que dans CA3. Elle représente la couche d'entrée des fibres moussues en provenance du DG,

- la *stratum radiatum* contient les dendrites apicales des cellules pyramidales et permet les échanges entre CA1, CA2 et CA3,

- la *stratum lacunosom moleculare* (couche moléculaire) est parfois encore divisée en une couche interne et externe. Elle contient les dendrites apicales distales des cellules pyramidales et reçoit les afférences du cortex entorhinal.

- la *stratum alveus* comprend les axones des cellules pyramidales dirigés notamment vers le subiculum (voie de sortie de l'HIP).

Pour le **gyrus denté**, on ne retrouve que 3 couches :

- le *hile* (ou couche polymorphe) qui constitue une voie de sortie par le regroupement des fibres moussues projetant vers la *stratum lucidum* de CA3, ainsi que CA2.

- la *stratum granulosum* (ou couche granulaire) est la couche principale contenant le corps cellulaire des neurones granulaires. Ces derniers sont les principaux neurones excitateurs glutamatergiques du DG.

- la *stratum moleculare* (ou couche moléculaire) contenant les dendrites apicales des cellules granulaires recevant les fibres de la voie perforante (i.e. afférences provenant du cortex entorhinal).

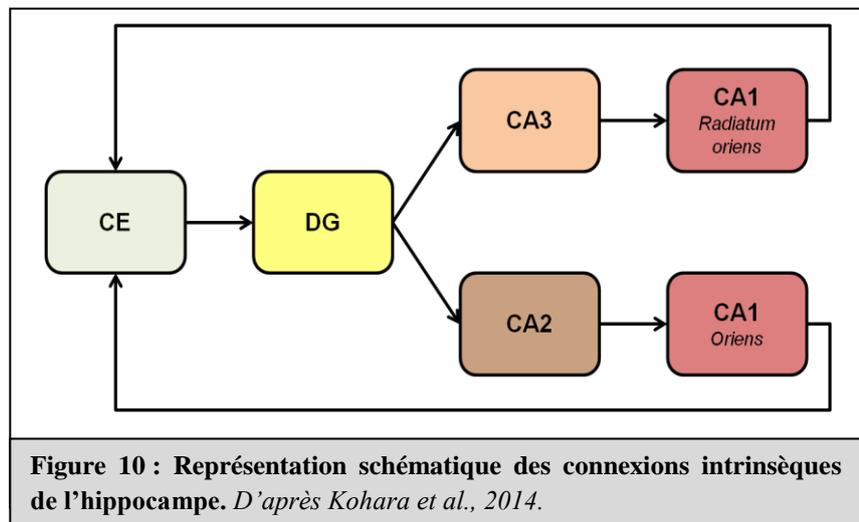
1.2. Connexions

1.2.1. Connexions intrinsèques

Au sein de la formation hippocampique, les connexions intrinsèques permettent une circulation unidirectionnelle et sérielle de l'information : on parle de **boucle trisynaptique**. Récemment, cette vision a été mise à jour suite à des travaux effectués chez la souris (Kohara



et al., 2014). Il y aurait plutôt **deux circuits trisynaptiques parallèles** : l'un impliquant **CA3** et l'autre impliquant **CA2**. Dans les deux cas, le **point de départ** est le **cortex entorhinal**, voie d'entrée principale des afférences de l'HIP. Via



ce que l'on appelle la **voie perforante**, les neurones de la couche II du **cortex entorhinal** projettent sur la *stratum moleculare* du **DG**. Les cellules granulaires projettent à leur tour soit sur les dendrites apicales proximales de la *stratum lucidum* de **CA3**, soit sur les dendrites proximales de la *stratum radiatum* de **CA2** via les **fibres moussues**. Les cellules pyramidales de CA3 vont ensuite contacter les *strata radiatum* et *oriens* de CA1 par les **collatérales de Schaffer**, tandis que celles de **CA2** contacteront la *stratum oriens*. Enfin, les neurones pyramidaux de CA1 projettent directement sur le subiculum qui représente la **voie de sortie principale** de l'HIP. Ces neurones peuvent aussi contacter le **cortex entorhinal**, fermant ainsi la boucle (Andersen, 2007 ; Van Strien et al., 2009 ; Henke, 2010).

Il existe néanmoins des voies supplémentaires au sein de ce circuit. Par exemple, les neurones de la couche II du cortex entorhinal présentent aussi des connexions directes avec CA3 via la voie perforante. La couche III du cortex entorhinal est, elle, capable de connecter directement CA1 et le subiculum. Ce circuit intrahippocampique reste complexe et l'ensemble des connexions principales sont représentées dans la *Figure 10*.

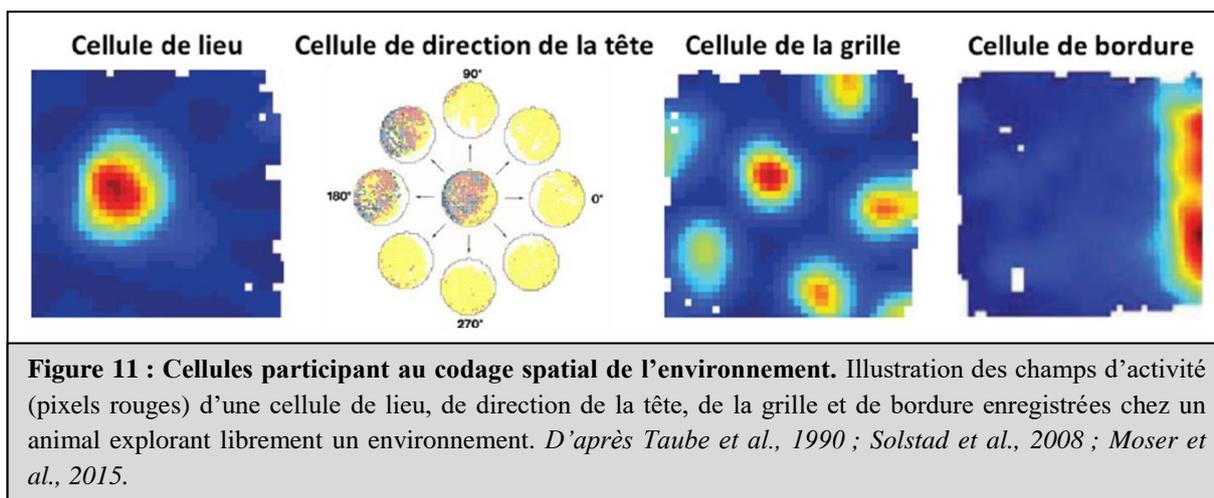
1.2.2. Connexions extrinsèques

La **formation hippocampique** est connectée réciproquement à l'intégralité des **aires associatives néocorticales** que ce soit de manière directe ou par l'intermédiaire des cortex périrhinal, parahippocampique et entorhinal. Ce dernier reçoit des projections notamment des cortex insulaire, orbitofrontal, frontal médian, dont le cortex cingulaire et rétrosplénial. Il projette, en retour, sur les cortex périrhinal, cingulaire et le gyrus parahippocampique. Même si une bonne partie des afférences de la région hippocampique passe à travers le cortex entorhinal, il subsiste une partie qui provient directement de CA1 et du subiculum. Ainsi, la

région **CA1 connecte** le striatum et le **CPFm**. Ce dernier reçoit principalement des projections de CA1 ventral qui s'effectuent de façon majoritaire sur les cortex infralimbique et prélimbique. Le CCA reçoit, lui, principalement les projections de CA1 dorsal (Cenquizca et Swanson, 2007 ; Hoover et Vertes, 2007). L'amygdale envoie des projections vers CA1 et le subiculum, tandis que l'essentiel des entrées sous-corticales de la région CA3 proviennent du septum, qui reçoit en retour des projections au niveau du noyau septal latéral. Les afférences hypothalamiques proviennent principalement des noyaux supramammillaires qui contactent DG, CA2, CA3 et le cortex entorhinal, le subiculum projetant en retour sur ces noyaux. L'essentiel des projections thalamiques provient des noyaux antérieurs (ATN) et du noyau Re. Ce dernier projette directement et exclusivement sur les dendrites apicales des noyaux pyramidaux au sein de la *stratum lacunosum moleculare* de CA1. Ses connexions sont colocalisées avec celles provenant du cortex entorhinal (Andersen, 2007 ; Henke, 2010). Il est aussi possible d'observer une innervation noradrénergique (e.g. locus coeruleus), sérotoninergique (e.g. noyau du raphé) et dopaminergique (e.g. aire tegmentale ventrale) (Schultz et Engelhardt, 2014).

1.3. Codage de l'environnement

Comme nous avons déjà pu l'aborder, l'**HIP** est une structure largement impliquée dans les processus de mémorisation des souvenirs déclaratifs. Dans notre cas, la mémoire qui nous intéresse tout particulièrement est la **mémoire spatiale**, que nous utilisons avec prudence comme **modèle de la mémoire épisodique**. À l'heure actuelle de nombreuses études ont montré l'implication forte de l'HIP dans la mémoire épisodique et notamment la mémoire spatiale, que ce soit chez l'Homme (e.g. Maguire et al., 1997, 1998; Ekstrom et al., 2005; Travis et al., 2014), chez le Primate non-humain (e.g. Hampton et al., 2004 ; Lavenex et al., 2006), ou encore chez le Rat (e.g. Moser et al 2008 ; Aggleton, 2014). Cette importance majeure de l'HIP dans la navigation et la mémoire spatiale est étayée par la présence, dans cette structure, de plusieurs types cellulaires spécialisés dans le codage neuronal de l'environnement.



Les **cellules de lieux** ou « *place cells* » ont été observées pour la première fois chez le Rat par O'Keefe et Dostrovsky. En effet, par l'enregistrement électrophysiologique *in vivo* de cellules de l'HIP au cours d'une tâche d'exploration libre, ils observèrent que certaines d'entre elles, silencieuses en général, déchargeaient soudainement lorsque l'animal se trouvait à un endroit précis de l'environnement (O'Keefe et Dostrovsky, 1971), et le faisaient toutes les fois que l'animal se trouvait à cet endroit. Cette activité se présente sous forme de **champs d'activité** (surface donnée de l'environnement dans laquelle la cellule décharge fortement à chaque passage) et n'a **pas de lien** ni avec l'**orientation** de l'animal dans l'espace, ni avec la **direction empruntée**. Le champ d'activité peut être de **forme** et de **taille variable**. Il est **spécifique** de chaque cellule. De plus, il se **crée en quelques minutes** et peut **se maintenir** au cours d'essais consécutifs ainsi qu'au cours de plusieurs jours à condition que l'environnement reste identique. Si un indice vient à être modifié ou supprimé, le champ d'activité de chaque cellule ainsi que la cartographie des différents champs codant l'environnement peuvent être modifiés ; on parle alors de « remapping ». Ce système est un système flexible (Moser et al., 2008). Une cellule peut s'activer dans différents environnements, mais elle sera toujours spécifique d'un endroit donné. Les informations visuelles, olfactives, proprioceptives, ou encore vestibulaires peuvent moduler le profil de décharge de ces cellules. La découverte de ces cellules au sein de l'HIP fut une preuve importante de l'implication de l'HIP dans la mémoire et la navigation spatiale. Ces cellules ont été mises en évidence dans les régions CA1 et CA3 de l'HIP (Poucet et al., 1994), ainsi que dans le thalamus rostral, et plus particulièrement le noyau Re (Jankowski et al., 2015). Des cellules aux propriétés similaires ont été observées chez la Souris, la Chauve-souris, le Primate non humain et l'Homme, entre autres (e.g. Ekstrom et al., 2003 ; Kentros et al., 2004 ; Miller et al., 2013 ; rev. Moser et al., 2015).

Les **cellules de direction de la tête** ou « *head direction cells* » ont été mises en évidence par Ranck et ses collaborateurs dans le présubiculum dorsal. Contrairement aux cellules de lieux, ces cellules déchargent en fonction de la **direction** dans laquelle est orientée de la **tête de l'animal** et ce de façon **indépendante** de la **position du corps** dans l'espace (Ranck, 1985 ; Taube et al., 1990). Sur le même principe de fonctionnement que les cellules que nous venons de décrire, les cellules d'orientation de la tête ne s'activent que lorsque l'animal tourne la tête dans une direction donnée (et pas dans toutes les autres directions). Ces cellules ont aussi été mises en évidence dans le cortex rétrosplénial, le striatum dorsal, les ATN (Taube, 1998) ou encore dans le noyau Re (Jankowski et al., 2014).

Les **cellules de la grille** ou « *grid cells* » ont été mises en évidence dans le cortex entorhinal médian par Hafting et collaborateurs. Ces cellules déchargent à **plusieurs endroits** d'un environnement. Ces lieux sont répartis dans l'espace de façon **géométrique**. Ainsi, une cellule de la grille présente de **multiples champs d'activité** séparés d'un angle proche des 60° formant une **grille**, un **maillage** dans l'environnement (Hafting et al., 2005). Il semblerait que certaines de ces cellules soient aussi capables, en plus, de soutenir la fonction de cellule de direction de la tête, codant ainsi deux paramètres distincts de l'environnement (Sargolini et al., 2006). Ces cellules se trouvent aussi dans le présubiculum et le parasubiculum.

Les **cellules de bordure** ou « *border cells* » ont été mises en évidence par l'équipe d'O'Keefe et des Moser dans le cortex entorhinal. Ces cellules déchargent lorsque l'animal est à **proximité des bords physiques**, des limites d'un environnement (Solstad et al., 2008 ; Lever et al., 2009) Ainsi, elles permettraient la mise en place des activités des cellules de lieu et de la grille. Elles ont aussi été mise en évidence dans le cortex entorhinal médian, le subiculum, le présubiculum, la parasubiculum, ainsi que dans le noyau Re (Jankowski et al., 2015).

L'ensemble de ces cellules, *Figure 11*, ainsi que les interactions qu'elles peuvent avoir entre elles, représenteraient le substrat neuronal d'une stratégie allocentrique, le substrat biologique de la carte cognitive (Moser et al., 2008).

2. Le cortex préfrontal médian

2.1. Description anatomique

Le **CPFm** est défini comme la région cérébrale située dans la **partie antérieure du lobe frontal**, en avant des régions prémotrices. Le volume du cortex cérébral étant beaucoup plus faible chez le Rat que chez l'Homme, il est normal de se demander si une aire corticale spécifique chez le Rat est similaire à celle retrouvée chez l'Homme. La question s'est donc évidemment posée pour le cortex préfrontal. Historiquement, le cortex préfrontal a été **défini** sur la base de 3 critères qui sont sa **situation anatomique** (i.e. partie antérieure du lobe frontal), son **implication dans des fonctions exécutives** (e.g. planification, prise de décision, contrôle comportemental, etc.), ainsi que des **projections du noyau médiodorsal** du thalamus (MD), qui semblait être le seul noyau thalamique innervant cette structure à l'époque (Rose et Woolsey, 1948).

Depuis le début du XXème siècle, cette question fut débattue longuement et différentes organisations anatomiques de la structure ou similitudes entre espèces furent proposées (e.g. Brodmann, 1909 ; Rose et Woosley, 1948 ; Krettek et Price, 1977). Ce sont Uylings et collaborateurs qui proposèrent de considérer 5 critères essentiels permettant d'établir une homologie : les **connexions anatomiques**, les **propriétés fonctionnelles**, la **neurotransmission**, le **développement embryonnaire**, et enfin, dans le cas d'espèces proches, la **cytoarchitecture**. Dans leur étude, ils concluent que le cortex préfrontal chez le Rat serait un homologue non pas de l'ensemble du cortex préfrontal chez l'Homme, mais de sa sous-région dorsolatérale (Uylings et al., 2003). À l'inverse, d'autres équipes de recherche considèrent le cortex préfrontal dorsolatéral comme représentatif de l'évolution des Primates (Brown et Bowman, 2002). Le débat divise donc toujours (Preuss 1995, Uylings et al., 2003, Seamans et al., 2008 ; Vogt et Paxinos, 2014).

En ce qui concerne cette thèse, le CPFm étudié chez le Rat semble correspondre au cortex cingulaire antérieur chez les Primates et l'Homme (Seamans et al., 2008). Il est divisé en 4 sous-régions, qui sont de la plus dorsale à la plus ventrale : le cortex agranulaire médian (AGm), le cortex cingulaire antérieur (CCA), le cortex prélimbique (PL), et le cortex infralimbique (IL ; Heidbreder et Groenewegen, 2003).

Le cortex cérébral est organisé selon une **structure laminaire** de 6 couches qui sont, de la plus superficielle à la plus profonde (Uylings et al., 2003) :

- la couche moléculaire (couche I) présente très peu de neurones et est essentiellement constituée des dendrites apicales des neurones présents dans les couches plus profondes.

- la couche granulaire externe (couche II) contient quelques petits neurones recevant les afférences des autres zones corticales.

- la couche pyramidale externe (couche III) contient des neurones pyramidaux en grand nombre fournissant la principale source d'efférences corticales (i.e. connexions cortico-corticales) et recevant des afférences thalamiques.

- la couche granulaire interne (couche IV) représente la zone de projection du MD. Cette couche est absente du CPFm chez le Rat et serait fusionnée avec la couche V.

- la couche pyramidale interne (couche V) contient, comme la couche III, une grande concentration de neurones pyramidaux projetant vers les zones sous corticales. Elle est aussi un des sites d'entrée des projections en provenance du thalamus.

- la couche polymorphe (couche VI), comme son nom l'indique, contient différents types de neurones de morphologie variée (e.g. cellules étoilées, cellules pyramidales, etc.). Elle est en connexion réciproque avec le thalamus

2.2. Connexions

Chez le rat, bien que distinctes, les sous-régions du CPFm sont réciproquement connectées aux cortex sensoriel, moteur, entorhinal, ainsi qu'au MD et aux noyaux ventraux de la ligne médiane (ReRh) du thalamus.

Les afférences communes aux 4 sous-régions du CPFm sont l'HIP (CA1 et subiculum), le noyau basolatéral de l'amygdale, l'aire tegmentale ventrale, le cortex insulaire, les noyaux supramammillaires, le claustrum ou encore le tronc cérébral (e.g. locus coeruleus, noyaux du raphé, substance grise périaqueducale ; Hoover et Vertes, 2007). De plus, ces 4 structures sont reliées entre elles de manière importante. Malgré ces similitudes, il est possible de noter que le CPFm présente un gradient d'organisation dorso-ventrale permettant de le dissocier en 2 régions fonctionnelles : le CPFm dorsal (dCPFm) comprenant le cortex AGm et le CCA, et le CPFm ventral (vCPFm) comprenant le PL et l'IL. Le **dCPFm** reçoit principalement des **afférences** sensorimotrices (e.g. cortex somatosensoriel I et II, fronto-polaire, occipital et rétrospécial), mais également des afférences du thalamus (e.g. noyaux de la ligne médiane du

thalamus) (Hoover et Vertes, 2007). À l'opposé, le **vCPFm** reçoit principalement des afférences du système limbique, notamment de la formation hippocampique (CA1 ventral, subiculum), du cortex périrhinal, du cortex orbital et des noyaux de la ligne médiane du thalamus (Hoover et Vertes, 2007). En ce qui concerne les **efférences**, le **dCPFm** connecte fortement les régions sensorimotrices comme le cortex moteur, somatosensoriel, le striatum dorsal, le thalamus et la formation réticulée, ce qui n'est pas le cas des régions limbiques (Gabbott et al., 2005 ; Vertes, 2006). À l'inverse, le **vCPFm** projette essentiellement sur les autres sous-régions du CPFm, le noyau du lit de la strie terminale, le noyau accumbens et l'amygdale (Gabbott et al. 2003, 2005 ; Vertes, 2006).

Il est important de retenir qu'il n'existe pas de projection directe sur l'HIP en provenance du CPFm (Jay et Witter, 1991). Cette absence de connexions réciproque est un argument important allant dans le sens de la nécessité des noyaux ReRh au sein du circuit hippocampo-cortical pour les processus mnésiques.

2.3. Fonctions

Que ce soit chez l'Homme, le Singe ou bien le Rat, il est aujourd'hui admis que le CPFm participe à la mise en oeuvre des **fonctions exécutives**, c'est-à-dire à l'ensemble des processus cognitifs supérieurs nécessaires à un grand nombre de fonctions et de comportements complexes. Ainsi, le CPFm intervient dans les **processus attentionnels**, **l'inhibition** et la **flexibilité comportementale**, la **prise de décision**, la **planification**, ainsi que les **comportements orientés vers un but** (e.g. Ragozzino et al., 2003 ; Dalley et al., 2004 ; Floresco et al., 2008 ; Bissonnette et al., 2013). Le CPFm serait aussi impliqué dans le codage de la **douleur** et des **émotions** (e.g. rev. Vogt, 2005).

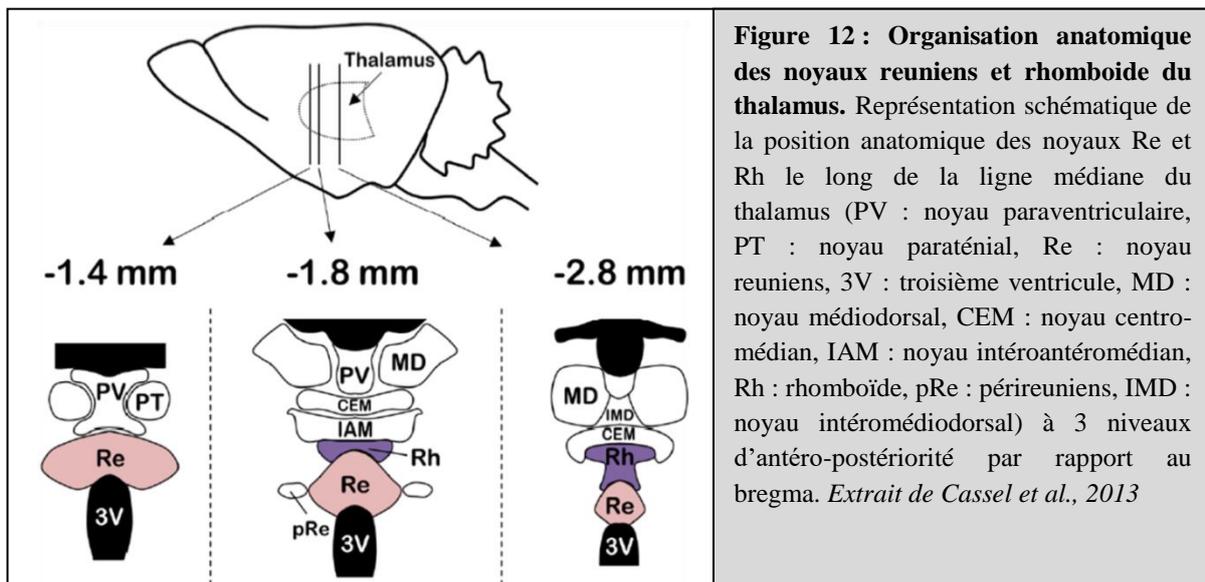
Bien évidemment, comme nous avons déjà pu le mentionner, le CPFm participe de manière importante à la **mémoire**, notamment la **mémoire de travail** (e.g. rev. Funahashi et al., 2006 ; Urban et al., 2014), mais aussi la **mémoire à long terme**, qu'elle concerne des souvenirs récents (e.g. Corcoran and Quirk, 2007 ; Cholvin et al., 2016) ou anciens (e.g. Maviel et al., 2004 ; Vetere et al., 2011 ; Lopez et al., 2012 ; rev. Euston et al., 2012). Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'implication du CPFm dans la consolidation systémique d'un souvenir spatial chez le Rat.

3. Les noyaux reuniens et rhomboïde

Comme nous l'avons évoqué rapidement plus haut, les **noyaux ReRh** font **partie** d'une large structure cérébrale appelée le **thalamus**. Tout comme l'HIP, c'est une structure **bilatérale symétrique**. De **forme ovoïde**, elle est située dans la **partie profonde** du cerveau juste au-dessus du troisième ventricule et se compose de plus d'une **soixantaine de noyaux** différents. Représentant environ 80% du diencephale et présentant des connexions variées avec l'ensemble du système nerveux, cette structure assure de nombreuses fonctions. Elle joue notamment le rôle de **relais sensoriels** et **moteurs** du cortex, de **centre des réponses émotionnelles**, de **régulation de la conscience**, de l'**état de vigilance** et du **sommeil**. Le thalamus peut être représenté comme la porte d'entrée du cortex cérébral pouvant influencer la concentration et l'attention (e.g. rev. [Sherman 2005, 2007](#)). De plus, il semblerait aussi impliqué dans les processus d'**apprentissage et de mémorisation** (e.g. [Van der Werf et al., 2003a ; Vertes, 2006](#)). En effet, les études cliniques ont pu mettre en évidence que l'atteinte de certaines parties du thalamus entraînait des déficits mnésiques marqués regroupés sous les vocables d'**amnésies diencephaliques**. L'analyse de ces cas a montré que la gravité des troubles mnésiques était notamment liée à l'étendue de la lésion thalamique (e.g. [Van der Werf et al., 2003a, 2003b](#)). L'une des maladies neurologiques bien étudiée en ce qui concerne les atteintes du thalamus, et notamment de la ligne médiane du thalamus où se trouvent les noyaux ReRh, est le **syndrome de Korsakoff** ([Fama et al., 2012 ; Savage et al., 2012](#)). Ce syndrome se présente chez les patients ayant souffert d'une encéphalopathie de Wernicke dont le traitement ne fut pas adapté ou chez des sujets ayant souffert d'une carence chronique en vitamine B1 (thiamine), notamment dans le cas d'alcoolisme sévère. Ces patients présentent des **troubles cognitifs importants** (amnésies rétrograde et antérograde), des **déficits des fonctions exécutives**, ainsi que des **troubles affectifs**. Souvent vu comme un syndrome principalement induit par l'**alcoolisme chronique**, il existe cependant des cas cliniques présentant des causes totalement différentes comme la **malnutrition**, les **troubles alimentaires** ou les **chimiothérapies**. Cependant, il y a bien évidemment d'autres acteurs pouvant entraîner ce syndrome comme les accidents vasculaires cérébraux, les tumeurs cérébrales ou encore certaines maladies neurodégénératives (e.g. Parkinson, Alzheimer ; [Nestor et al., 2006 ; Halliday, 2009](#)). Ma thèse portant essentiellement sur les noyaux ReRh nous ne développons pas plus ce paragraphe (e.g. rev. [Aggleton et al., 2016 ; Arts et al., 2018](#)) et nous concentrons, maintenant, sur ces deux noyaux thalamiques.

3.1. Description anatomique

Les noyaux ReRh, *Figure 12*, font partie d'un ensemble de noyaux situés dans la partie médiane du thalamus appelé les noyaux de la **ligne médiane du thalamus**. Ces derniers couvrent toute l'étendue dorso-ventrale du thalamus (Paxinos et Watson, 2007). Au niveau rostral (antérieur) et sur l'axe dorso-ventral, on retrouve les noyaux paraventriculaire (PV) et paraténial (PT), puis les noyaux Rh et Re, ce dernier étant localisé juste au-dessus du troisième ventricule (3V) (Groenewegen et Witter, 2004 ; Jones, 2007). Plus caudalement (postérieur), le noyau intéroantéromédian (IAM) puis intéromédiadorsal (IMD) et le noyau centromédian (CEM) sont positionnés entre les noyaux PV et Rh. Dans sa région rostrale, le noyau Re est divisé en deux parties séparées par le troisième ventricule (3V), qui fusionnent dans sa région médiane, puis caudale. Il est alors entouré latéralement par le péréreuniens (pRe), aussi appelé ailes du Re (Cassel et al., 2013). Enfin, le Rh apparaît plus postérieurement, juste sous la limite antérieure de l'HIP. Il est situé au-dessus du Re et ce tout au long de l'axe antéro-postérieur (Van der Werf et al., 2002 ; Paxinos et Watson 2007).



Le **principal neurotransmetteur** utilisé par les neurones du Re est le **glutamate**. En effet, par leur étude utilisant un traceur rétrograde spécifique (ici le D-aspartate tritié), Bokor et collaborateurs suggèrent qu'une grande majorité des neurones du Re projetant sur l'aire CA1 de l'HIP sont de type glutamatergique/aspartatergique (Bokor et al., 2002). Cependant, un grand nombre de neurones du Re peuvent être marqués à l'aide d'un anticorps dirigé contre la **calrétinine** et la **calbindine** (Arai et al., 1994), protéines liant le Ca^{2+} et souvent localisées dans les neurones excitateurs. La présence de ces protéines est d'ailleurs une

caractéristique commune aux noyaux thalamiques de manière générale (Winsky et al., 1992), même si peu exprimées dans le Rh. La **parvalbumine**, une autre protéine liant le Ca^{2+} et caractéristique des interneurons inhibiteurs GABAergiques, n'est que peu, voire pas retrouvée dans les cellules du Re et du Rh (Arai et al., 1994). L'ensemble de ces données tend à montrer que ces noyaux thalamiques sont l'origine de **projections excitatrices** à l'adresse des différentes structures qu'ils innervent.

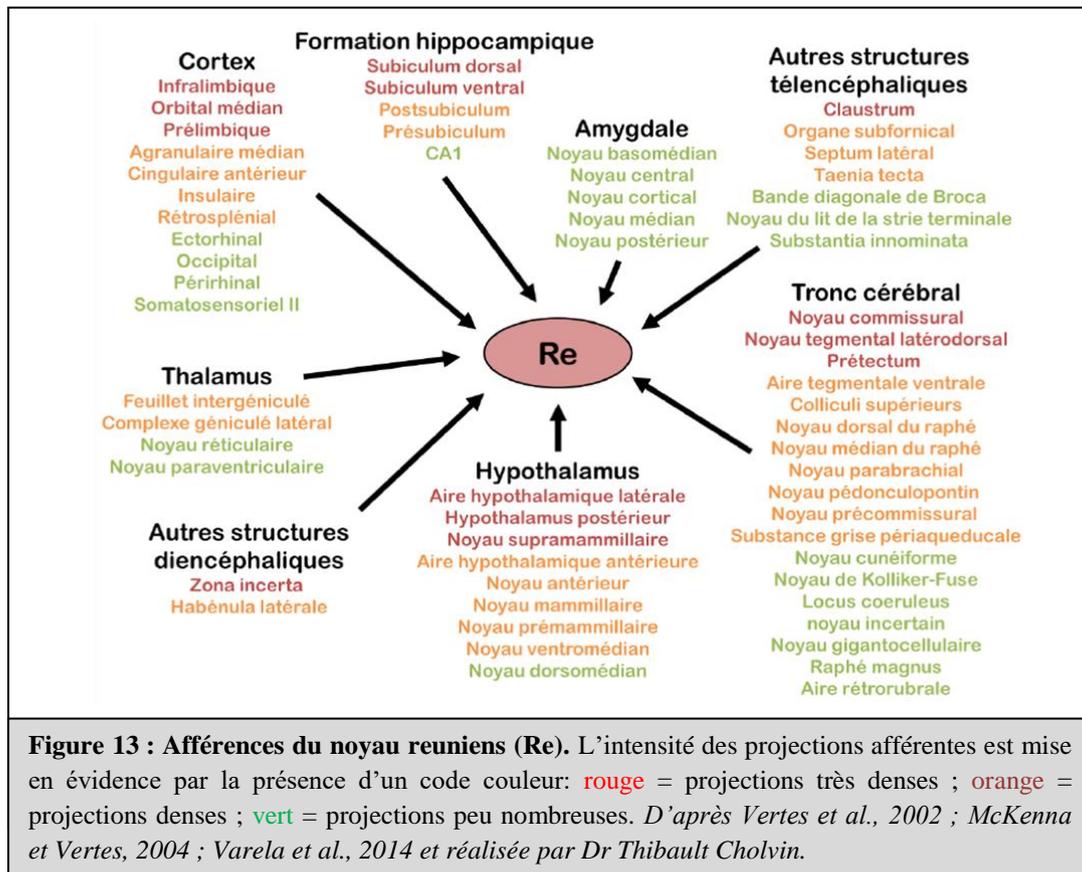
3.2. Connexions

Les **noyaux ReRh** du thalamus sont une **zone de convergence** de nombreuses afférences en provenance de nombreuses régions corticales et sous-corticales, avec notamment le **télocéphale**, le **diencéphale** et le **tronc cérébral** (e.g. Mc Kenna et Vertes, 2004 ; Hoover et Vertes, 2007). En contrepartie, ils projettent à leur tour sur un nombre important de structures cérébrales (Vertes, 2002 ; Vertes et al., 2006, 2010). Ici, nous nous concentrerons sur les connexions principales avec une attention particulière pour celles impliquées dans le circuit hippocampo-cortico-thalamique (e.g. rev. Cassel et al., 2013 ; Cassel et Pereira de Vasconcelos, 2015 ; Vertes et al., 2015).

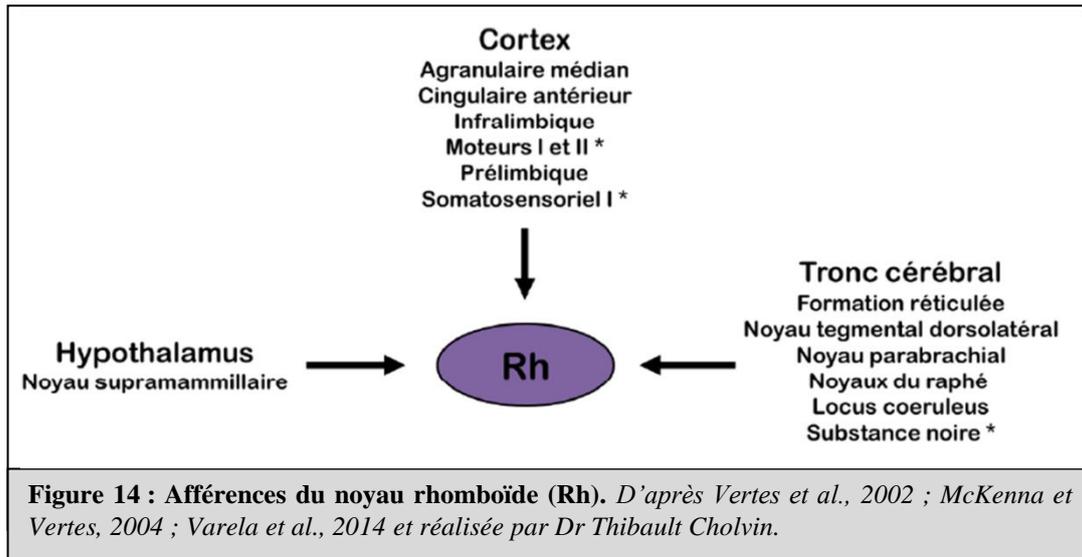
3.2.1. Afférences

Pour le **noyau Re**, les projections corticales, *Figure 13*, les plus importantes proviennent essentiellement des 4 sous-régions du **CPFm** (AGm, CCA, PL et IL), mais aussi des cortex orbital médian, insulaire, ectorhinal, périrhinal et rétrospécial notamment (Witter et al., 1990 ; Vertes, 2002 ; McKenna et Vertes, 2004). Les projections hippocampiques proviennent majoritairement du subiculum, du présubiculum, du postsubiculum et, enfin et dans une moindre mesure, de la sous-région **CA1** de l'HIP dorsal et ventral (Herkenham, 1978; Wouterlood et al., 1990 ; Witter et al., 1990 ; McKenna et Vertes, 2004; Varela et al., 2014). Le noyau Re reçoit également des projections provenant des noyaux antérieurs et médians de l'amygdale, de la bande diagonale de Broca, du septum latéral et du claustrum (Van der Werf et al., 2002 ; McKenna et Vertes, 2004). Comme nous l'avons dit précédemment, il est en relation avec des régions diencéphaliques dont les projections proviennent d'autres noyaux thalamiques (e.g. noyau réticulaire, noyau génouillé latéral), sous-thalamiques (zona incerta), ou encore hypothalamiques (e.g. noyaux pré- et

supramammillaires, noyaux ventromédians, noyaux antérieurs). Enfin pour les afférences du tronc cérébral, on peut citer la substance grise périaqueducale, les noyaux du raphé, l'aire tegmentale ventrale, le locus coeruleus ou encore la formation réticulée (Krout et al., 2002; McKenna et Vertes, 2004; Vertes et al., 2010).



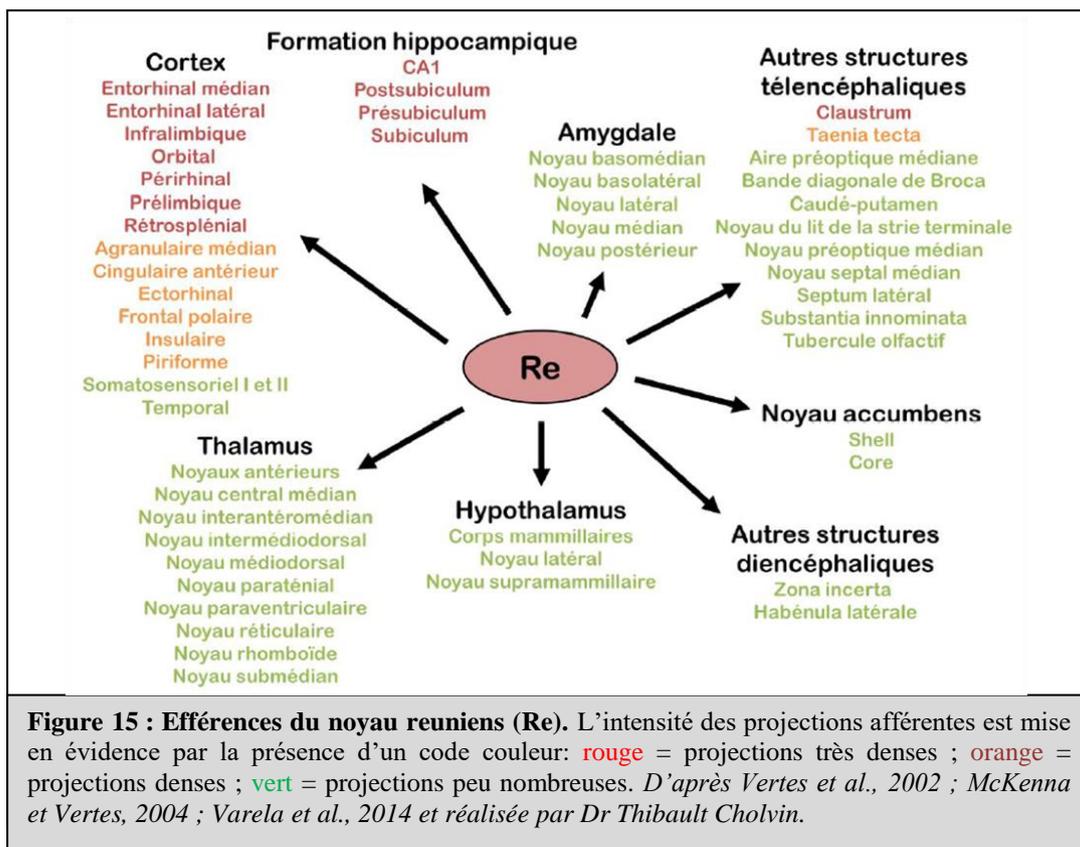
Concernant le **noyau Rh**, les données anatomiques sont moins nombreuses que celles que l'on trouve dans la littérature scientifique à propos du Re (Groenewegen et Witter, 2004). Comme pour le Re, les projections corticales, Figure 14, les plus abondantes proviennent des 4 sous-régions du **CPFm**, mais aussi du cortex somatosensoriel primaire et des cortex moteurs primaire et secondaire (Vertes, 2002 ; Van der Werf et al., 2002 ; Vertes et al., 2004). Pour le reste, la majeure partie des régions projetant sur le Rh sont localisées dans le tronc cérébral, comme les noyaux du raphé, la formation réticulée, la substance noire, ou encore le locus coeruleus (Krout et Loewy, 2000 ; Vertes et al., 2010). Contrairement au Re, les entrées diencephaliques semblent se restreindre au noyau supramammillaire de l'hypothalamus (Vertes et al., 2010).



3.2.2. Efférences

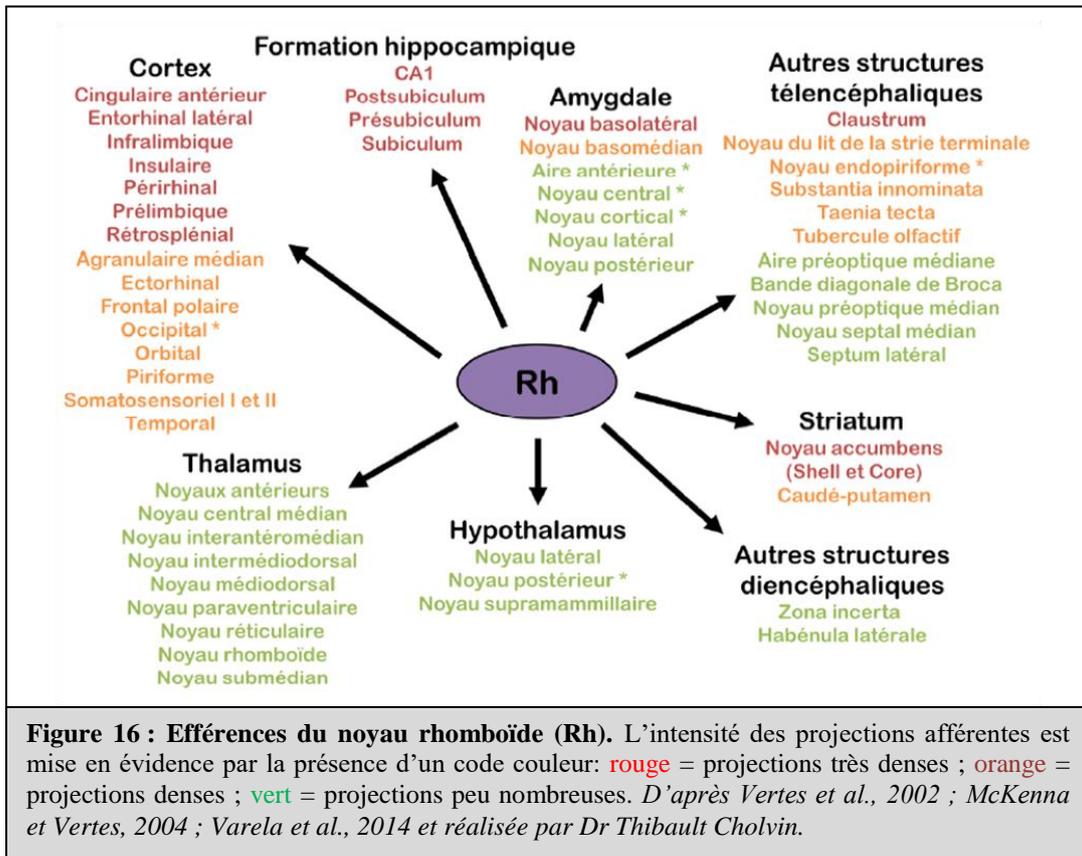
Le **noyau Re** contacte essentiellement le manteau **cortical** et la **formation hippocampique**, *Figure 15*. Au niveau du **CPFm**, il projette de façon abondante sur le PL et l'IL et de façon moins prononcée sur le CCA et l'AGm (notamment sur les couches 1, 5 et 6). Au niveau cortical, il envoie aussi des projections au cortex entorhinal latéral et médian, ectorhinal, périrhinal, piriforme, orbital, insulaire, frontal polaire et somatosensoriels (Van der Werf et al., 2002 ; Vertes et al., 2006 ; Hoover et Vertes, 2007 ; Varela et al., 2014). Il innerve aussi des structures télencéphalique dont, par exemple, le claustrum, la bande diagonale de Broca, le caudé-putamen, le septum médian, le septum latéral, ou encore les tubercules olfactifs. Le noyau Re étant la source la plus abondante de projections du thalamus vers la formation hippocampique, il innerve de manière importante la région **CA1** (*stratum lacunosum-moleculare*), le subiculum, le parasubiculum et le présubiculum. Aucune projection n'a été mise en évidence au niveau de CA2, CA3 ou DG (Van der Werf et al., 2002 ; Vertes et al., 2006 ; Varela et al., 2014). Ces connexions hippocampiques seraient 10 fois plus nombreuses dans l'HIPv que dans l'HIPd, suggérant une **connexion privilégiée** du Re à l'**HIPv** (Vertes et al., 2007 ; Hoover et Vertes, 2012). Une étude plus récente, utilisant deux traceurs rétrogrades (Fluorogold et Fluororuby) injectés respectivement dans les sous-régions du CFPm et dans l'HIP, a montré que la partie médiane du Re présentait le plus grand nombre de neurones marqués. De plus, les neurones marqués s'étendaient sur l'ensemble de l'axe antéro-postérieur. Cependant cette étude a révélé que le Re antérieur possédait plus de neurones projetant vers l'HIP (60%) que vers le CPFm (40%), alors que le profil inverse est

observé dans le Re postérieur (Hoover et Vertes, 2012). Dans cette même étude, les auteurs ont aussi montré la présence de neurones du Re projetant simultanément sur les deux structures (3 à 6%). Deux ans plus tard, une équipe de recherche a confirmé ces données (8% ; Varela et al., 2014), fournissant ainsi un argument neuroanatomique important concernant un rôle fonctionnel du Re dans les interactions hippocampo-corticales. Cette ségrégation des neurones en fonction de leurs structures de projection est présente pour d'autres régions cérébrales. En effet, la partie dorsolatérale du Re projette principalement vers la région CA1 de l'HIP, la partie latérale vers le subiculum, la partie médiane vers le cortex entorhinal médian, la partie ventrale vers le cortex entorhinal latéral et, enfin, le périreniens ciblerait principalement le cortex périrhinal (Dolleman-Van Der Weel et Witter, 1996). De plus, les projections du Re rostral cibleraient essentiellement le cortex entorhinal médian alors que celles du Re caudal cibleraient le cortex entorhinal latéral (Vertes et al., 2006). Enfin, le Re innerve aussi de façon moins importante l'amygdale, l'hypothalamus, le noyau accumbens, la zona incerta ou encore l'habénula latérale (Dolleman-Van der Weel et Witter, 1996 ; Vertes et al., 2006, 2010).



Pour le **noyau Rh**, les efférences, *Figure 16*, sont globalement identiques à celles du noyau Re. Cependant, ces dernières sont **plus diffuses**, non pas en termes de structures

cérébrales ciblées, mais plutôt en termes d'intensité. Une différence majeure est que le noyau Rh ne projette que sur l'**HIPd** alors que le noyau Re, lui, projette sur l'ensemble de l'axe dorso-ventral de l'HIP (Vertes et al., 2006).



Pour conclure, ces **deux noyaux thalamiques** semblent présenter une **position anatomique idéale** pour intégrer et redistribuer des informations en grand nombre et en provenance de diverses régions. Leurs connexions avec le tronc cérébral sont compatibles avec un rôle dans la modulation des états de vigilance. Par leurs connexions avec les noyaux du tronc cérébral ainsi que les régions corticales, il a aussi été proposé que ces noyaux seraient impliqués dans la perception consciente polysensorielle (Van der Werf et al., 2002). Mais surtout, de par leurs **connexions réciproques** et **denses** avec l'**HIP** et le **CPFm**, ils semblent idéalement situés pour **endosser le rôle de relais** dans le circuit hippocampo-cortical et ainsi être impliqués dans les processus de mémorisation permettant la **rétenion à long terme d'un souvenir**.

3.4. Modulations électrophysiologiques dans la boucle hippocampo-cortico-thalamique

3.4.1. Modulation corticale

En 2006, Di Prisco et Vertes ont étudié l'effet d'une stimulation de la ligne médiane du thalamus (dont les noyaux ReRh font partie) sur l'activité du CPFm chez le Rat. Pour cela, ils ont implanté une électrode de stimulation au niveau des noyaux ReRh (entre autres), ainsi que des électrodes d'enregistrement dans les 4 sous-régions du CPFm (AGm, ACC, PL et IL). Ils ont montré que la stimulation de ces noyaux engendrait des réponses dans l'ensemble du CPFm, particulièrement fortes dans le PL et l'IL. Les caractéristiques de ces réponses sont similaires à celles obtenus lorsqu'ils stimulent d'autres régions cérébrales (e.g. MD, HIP ou CPFm controlatéral), connues pour leur capacité de modulation de l'activité du CPFm (Di Prisco et Vertes, 2006). De plus, ils ont observé que le temps de latence d'apparition de ces réponses était court, suggérant que les projections du Re sur le CPFm forment une **voie monosynaptique directe**. Ces résultats sont en corrélation avec les données anatomiques que nous venons de décrire. Les auteurs en concluent que les **noyaux ReRh** possèdent une **action excitatrice** pouvant **moduler** de manière importante le **CPFm**. Quelques années plus tard, Eleore et collaborateurs montrent chez la Souris, que deux stimulations appariées ou « *paired pulse stimulation* » (PPS) du noyau Re provoquaient une facilitation de la deuxième réponse enregistrée dans la CPFm, suggérant que l'activation du Re serait capable d'induire un phénomène de **plasticité à court terme** dans le CPFm (Eleore et al., 2011).

3.4.2. Modulation hippocampique

En 1997, Dolleman-Van der Weel et collaborateurs se sont intéressés à l'effet d'une stimulation du noyau Re sur l'activité de l'HIP. Pour cela, ils ont implanté, chez le Rat anesthésié, une électrode de stimulation au niveau du noyau Re, ainsi qu'une électrode d'enregistrement dans la région CA1 de l'HIPd, soit au niveau de la *stratum lacunosum-moleculare* (i.e. au niveau de dendrites apicales des cellules pyramidales), soit au niveau de la *stratum oriens/alveus* et de la *stratum radiatum* (i.e. au niveau des interneurons). Ainsi, ils ont montré que la stimulation de ces noyaux engendrait des réponses dans les différentes couches enregistrées. En accord avec les données anatomiques, aucune de ces modifications

n'a été observée au niveau du DG. Dans la *stratum lacunosum-moleculare*, ils ont constaté des réponses reflétant une dépolarisation des cellules pyramidales. À l'inverse de la *stratum radiatum*, les réponses enregistrées reflétaient la dépolarisation des interneurons présents dans cette couche. Tout comme Eleore et collaborateurs pour le CPFm, ils ont observé que deux stimulations appariées du noyau Re engendraient une facilitation robuste et soutenue de la seconde réponse des cellules pyramidales sans pour autant leur permettre de décharger. A contrario, la facilitation induite dans les interneurons est suffisante pour leur permettre de décharger (Dolleman Van der Weel et al., 1997). Ainsi, les auteurs en concluent que le **noyau Re** est capable de **moduler positivement** et/ou **négativement** l'activité de l'**HIP**. Cette étude a aussi permis de montrer que les latences de réponses différaient selon la partie du noyau Re stimulée. Les latences de réponses **monosynaptiques** (i.e. courtes) sont observées lorsque la partie du **rostrale du Re** est stimulée. Tandis que les latences de **réponses disynaptiques** (i.e. plus longues) sont observées lorsque la partie **caudale du Re** est stimulée. La stimulation de la partie **médiane du Re** provoque l'apparition **combinée des deux**. Ainsi, les auteurs ont émis l'hypothèse que la partie **rostrale** du Re projetterait **directement** sur **CA1**, alors que la partie **caudale** du Re projetterait **via la partie rostrale** de ce même noyau sur **CA1**. Confirmée par l'injection de traceur antérograde dans la partie caudale du Re, cette hypothèse a donné lieu à un modèle anatomo-fonctionnel dans lequel, d'une part, les neurones du Re auraient une action excitatrice sur les cellules pyramidales de CA1 via des connexions mono- ou disynaptiques sur leurs dendrites apicales (*stratum moleculare*). D'autre part, ces neurones auraient aussi une action excitatrice sur les interneurons inhibiteurs ou excitateurs de CA1 (*stratum radiatum* et *oriens/alveus*) possédant des prolongements vers la *stratum lacunosum moleculare*. Enfin, la région CA1 de l'HIP projetant, via le subiculum, sur la partie caudale du Re, ces données mettent en évidence une **boucle fonctionnelle hippocampo-thalamique** permettant de moduler l'activité de CA1 (Dolleman Van der Weel et al., 1997).

Dans les mêmes années, Bertram et Zhang ont aussi évalué l'effet d'une stimulation du noyau Re sur l'activité CA1, mais cette fois en comparaison avec l'effet d'une stimulation de CA3 connue pour sa capacité à interagir fortement avec CA1 (cf. boucle trisynaptique). Cette étude a montré que la stimulation de chacune de ces structures provoque des effets excitateurs similaires, mais dont les conséquences physiologiques diffèrent. Premièrement, la latence des réponses observées était plus faible lors de la stimulation du Re en comparaison à celle de CA3. Deuxièmement, lors de l'application de deux stimulations appariées, la seconde réponse était supprimée dans CA1 lorsque CA3 était stimulée, alors qu'elle était facilitée

lorsque le Re était stimulé. Troisièmement, lors de stimulations répétées à haute fréquence, la LTP observée après stimulation du Re n'était pas présente lors de la stimulation de CA3 (Bertram et Zhang, 1999). Ainsi, ces données suggèrent que le noyau Re exerce une **action excitatrice directe et puissante** sur **CA1, plus importante** même que celle induite par **CA3**.

3.4.3. Modulation hippocampo-corticale

Comme nous l'avons déjà vu précédemment, l'**activité coordonnée** de différentes **assemblées neuronales** distribuées au sein de régions cérébrales distinctes est **nécessaire** aux **processus d'apprentissage** et de **mémorisation**. Cette coordination est rendue possible par l'**activité rythmique** et cohérente de ces assemblées grâce aux **ondes cérébrales** (ou oscillations cérébrales). Celles-ci peuvent être enregistrées et classées en 5 groupes principaux selon leur plage de fréquence : **delta** (1 à 4 Hz), **thêta** (4 à 12 Hz), **alpha** (8 à 12 Hz), **bêta** (15 à 30 Hz) et **gamma** (> 30 Hz). La présence de chacun de ces rythmes peut être associée à un état cérébral particulier (sommeil, éveil, relaxation, réflexion, etc). Ces différentes catégories d'oscillations ne sont pas totalement indépendantes les unes des autres et peuvent interagir entre elles. En effet, la **synchronisation** de ces rythmes permettrait aux différentes assemblées neuronales de **décharger ensemble** et, ainsi, de **communiquer**. Un des phénomènes de synchronisation les plus connus et étudiés est le **couplage thêta-gamma**, qui est **positivement corrélé** aux **processus cognitifs** dans plusieurs espèces (e.g. Rat, Primate, Homme).

Récemment, plusieurs études se sont intéressées à l'implication des noyaux ReRh dans la synchronisation entre le CPFm et l'HIP au cours des processus de mémorisation (e.g. Hartung et al., 2016 ; Hallock et al., 2016 ; Roy et al., 2017 ; Ferraris et al., 2018). Par exemple, en 2016, Hallock et collaborateurs ont effectué, chez le Rat, une tâche de mémoire spatiale de travail. Dans un labyrinthe en T, les animaux doivent alterner du bras gauche au bras droit (ou inversement) entre deux sessions successives espacées de 30s. Ils doivent donc garder en mémoire le bras récompensé lors de la première session afin d'alterner pour obtenir une récompense dans la seconde session. Ainsi, les auteurs montrent, d'une part, la nécessité d'un **couplage thêta-gamma** entre le **CPFm** et l'**HIP** lors de la tâche et, d'autre part, que l'**inactivation transitoire** des noyaux **ReRh** perturbe cette synchronisation provoquant des **déficits de mémoire** de travail chez les animaux (Hallock et al., 2016).

Ferraris et collaborateurs, eux, ont effectué leur étude sur le sommeil à ondes lentes, un état cérébral essentiel à la consolidation des traces mnésiques. Ils ont montré que, chez le Rat anesthésié, la synchronisation des oscillations gamma lie l'HIP et le CPFm lors du sommeil à ondes lentes. Ils ont aussi observé que les neurones du noyau Re présentaient une augmentation spécifique de leur activité de décharge juste avant l'apparition des oscillations gamma, suggérant leur implication dans l'interaction entre l'HIP et le CPFm. De plus, tout comme Hallock et collaborateurs, leur étude démontre que l'inactivation du noyau Re perturbe le déroulement temporel des oscillations gamma ainsi que leur synchronisation (Ferraris et al., 2018). L'ensemble de ces résultats suggère que le **noyau Re** n'est pas seulement capable de moduler l'activité de l'HIP et du CPFm, comme nous l'avons décrit au début de cette section, mais serait aussi **capable de coordonner la synchronisation** et donc le **transfert d'informations** entre le **CPFm** et l'**HIP**.

3.5. Processus cognitifs

Ces dernières années, les noyaux ReRh ont fait l'objet d'un intérêt grandissant de la part de diverses équipes de recherches (e.g. rev. Cassel et al., 2013). C'est pourquoi, de plus en plus de travaux étudient l'implication de cette petite structure thalamique dans les maladies comme la schizophrénie (e.g. Duan et al., 2015), l'épilepsie (e.g. Sloan et al., 2009 ; Luna Mungia et al., 2017 ; Aracri et al., 2018) ou encore le stress et la dépression (e.g. Kafetzopoulos et al., 2018). D'autres travaux se penchent sur leur contribution dans divers processus cognitifs, comme le contrôle des fonctions exécutives (e.g. Prasad et al., 2017), de l'impulsivité (e.g. Prasad et al., 2013), des réactions face aux menaces visuelles (e.g. Salay et al., 2018), ou encore de la nociception (e.g. Gholami et al., 2006). Bien que tous soient très intéressants, nous ne nous attarderons pas plus sur ces travaux afin d'axer cette section sur l'implication des noyaux ReRh dans la mémoire (e.g. rev. Griffin, 2015 ; Cassel et Pereira, 2015 ; Anderson et al., 2016).

3.5.1. Mémoire associative

La **mémoire associative** est une fonction mnésique permettant l'**association** entre un **stimulus aversif** (e.g. léger choc électrique) et le **contexte environnemental** dans lequel ce

stimulus a été présenté. Classiquement, cette mémoire peut être évaluée à l'aide de deux tests comportementaux qui sont l'**évitement passif** et le **conditionnement de peur au contexte**.

Le **premier test** se déroule dans un dispositif séparé en deux compartiments distincts : l'un faiblement éclairé (quasiment obscur), que le rongeur aura tendance à préférer, l'autre plus fortement éclairé, que le rongeur aura tendance à délaisser. En plaçant l'animal dans le compartiment éclairé, celui-ci se dirigera rapidement vers le compartiment obscur et y passera significativement plus de temps. Ainsi, au cours de la phase d'acquisition, l'animal est placé dans le compartiment éclairé et lorsqu'il entre dans le compartiment obscur, il se voit administrer un léger choc électrique au niveau des pattes. Au cours du test de rétention, l'animal est à nouveau placé dans le compartiment éclairé et le temps d'entrée dans le compartiment obscur est mesuré. Si l'animal a effectué et retenu l'association, le temps d'entrée dans le compartiment obscur sera augmenté. L'acquisition de cette association nécessite l'implication de l'HIP, du CPFm et de l'amygdale (Zhang et al., 2011).

Le **second test** se déroule dans un dispositif ne comprenant qu'un seul compartiment. Au cours de la phase d'acquisition, l'animal est placé dans le dispositif et se voit administrer un ou plusieurs chocs électriques légers au niveau des pattes. Au cours du test de rétention, l'animal est à nouveau placé dans le dispositif et le temps d'immobilité est mesuré. Si l'animal a effectué et retenu l'association, il présentera une immobilité ou « *freezing* » traduisant l'expression de la peur face au contexte associé au stimulus aversif. Du fait de la nécessité d'une interaction entre l'HIP et le CPFm dans ces processus et de leurs connexions avec ces structures, l'implication des noyaux Re et Rh lors de ces tâches a été évaluée.

Ainsi, Davoodi et collaborateurs ont effectué, chez le Rat, un test d'évitement passif 24 heures après la phase d'acquisition. L'inactivation transitoire (à l'aide de tétracaïne) des noyaux ReRh leur a permis d'évaluer l'implication de ces noyaux aux différents stades du processus de mémorisation (acquisition, consolidation, rappel). Ces inactivations étaient réalisées soit juste avant la phase d'acquisition, soit à différents délais après la fin de l'acquisition (5, 90 ou 360 minutes), soit juste avant le test de rétention. Aussi, les performances des animaux étaient altérées lorsque les noyaux ReRh étaient inactivés juste avant l'acquisition, juste avant le test de rétention et 5 minutes après la fin de l'acquisition (Davoodi et al., 2011). Ces résultats semblent indiquer que **les noyaux ReRh** seraient **impliqués** dans l'**acquisition**, la **consolidation** et le **rappel** d'un **apprentissage de type associatif**.

En 2013, Xu et Südhof ont publié des résultats concernant une tâche de conditionnement de peur au contexte chez la Souris comprenant un test de rétention 24 heures post acquisition. Ce dernier montre qu'une inhibition (par surexpression de la toxine tétanique) du noyau Re (ou des neurones du CPFm projetant de manière directe sur le Re) provoque une augmentation du freezing chez les Souris dans un contexte différent de celui de l'acquisition : il y a une perte de la spécificité de la mémoire ; le souvenir contextuel est généralisé. Cette généralisation est d'ailleurs associée à une diminution du nombre de cellules cFOS positive (i.e. activées) en comparaison aux animaux contrôles dans la région CA1 et le CCA. A contrario, l'activation (par sous-expression de la Neuroigin-2) du noyau Re engendre la formation d'un souvenir contextuel plus précis, corrélé cette fois à une augmentation du nombre de cellules activées dans CA1 et le CCA. Ainsi, **le noyau Re** ne serait pas seulement un relais de l'information, mais il s'avérerait aussi capable de **moduler**, traiter cette **information circulant** entre le CPFm et l'HIP, et par conséquent la **spécificité des souvenirs** d'un contexte particulier (Xu et Südhof, 2013). Récemment, des données similaires ont été reproduites chez le Rat par un autre groupe de recherche. En effet, Troyner et collaborateurs ont montré que les animaux dont les noyaux ReRh étaient inactivés immédiatement après la phase d'acquisition présentaient une généralisation du souvenir au cours du test de rétention à 24 heures (Troyner et al., 2018).

3.5.2. Mémoire de reconnaissance d'objets

La **mémoire de reconnaissance** d'un seul item requiert l'implication du cortex périrhinal (PRH) alors que la reconnaissance d'un seul item **associé à sa localisation** requiert une interaction entre le PRH, l'HIP, et le CPFm (e.g. Barker et al., 2007). De par la nécessité de cette interaction hippocampo-corticale, Barker et Warburton se sont intéressés, chez le Rat, à l'effet de lésion excitotoxique (NMDA) ou d'une inactivation réversible (muscimol) des noyaux ReRh sur une tâche de reconnaissance d'objet (object-in-place). Au cours de la première phase de cette tâche, l'animal placé dans un champ ouvert comprenant 4 objets différents va explorer l'ensemble du dispositif. Une fois cette exploration terminée, l'animal est retiré du dispositif pour un délai de 5 minutes ou de 3 heures. Ensuite, celui-ci est replacé dans l'enceinte où les 4 objets précédents sont présents, mais 2 d'entre eux ont échangé leur place. Au cours de cette seconde phase d'exploration, l'animal qui reconnaît les objets ayant été déplacés passera plus de temps à les explorer. Les auteurs ont montré que la lésion préacquisition des noyaux ReRh provoque des déficits de mémoire de reconnaissance d'objets



au délai de 3 heures (mémoire à long terme récente) mais pas au délai de 5 minutes (mémoire à court terme). Afin de savoir à quel moment précisément les noyaux ReRh sont nécessaires, ces auteurs ont réitéré leur expérience en inactivant transitoirement ces noyaux soit avant la première session (encodage), soit avant la seconde session (rappel) d'exploration. Ainsi, ils ont démontré que quelque soit l'instant auquel a été effectué l'inactivation, les performances étaient affectées en mémoire récente (délai de 3 heures). Enfin, afin d'identifier plus précisément les mécanismes sous-jacents, cette expérience a été répétée sous l'influence de différentes drogues (antagoniste des récepteurs NMDA, antagoniste des récepteurs cholinergiques, inhibiteur de la synthèse protéique). Les auteurs montrent que, dans le cadre d'une mémoire de reconnaissance, la formation d'un souvenir à long terme récent est dépendante de la neurotransmission cholinergique ainsi que de la synthèse protéique (Barker et Warburton, 2018).

Deux publications ont étudié cette mémoire de reconnaissance chez l'Homme en lien avec les noyaux ReRh (Thielen et al., 2015 ; Reagh et al., 2017). Dans la première, les objets à reconnaître sont des photographies de paysage. Lors du test de rappel (récent ou ancien), les sujets doivent identifier les images qu'ils ont déjà vues par rapport à des images qu'ils n'auront pas vues lors de la phase d'acquisition. Au cours de ces tests, l'activité cérébrale est observée à l'aide d'une technique d'IRM fonctionnelle afin d'identifier les structures cérébrales émettant un signal. Cette analyse a mis en évidence que le signal émis par le CPFm augmentait au cours du temps. En effet, l'activité corticale était supérieure lors du test de rétention au délai ancien par rapport au délai récent. À l'inverse, le signal émis par l'HIP diminue au cours du temps. Ces données sont encore accord avec la littérature déjà évoquée précédemment (e.g. Maviel et al., 2004 ; Frankland et Bontempi, 2005). L'analyse d'interaction psychophysique (PPI), permettant d'estimer la connectivité fonctionnelle (ou couplage) entre une structure cible et l'ensemble du cerveau a été effectuée. Cette dernière a mis en évidence que la connexion fonctionnelle entre le CPFm et une région cible comprenant le Re augmentait avec le temps, alors que celle entre l'HIP et la même région cible diminuait avec le temps (Thielen et al., 2015). Les auteurs en concluent que **le noyau Re** jouerait un **rôle transitoire** dans la **consolidation** chez l'Homme.

Dans la seconde, les objets à reconnaître sont des images d'objets communs, mais le principe reste similaire. En effet, les sujets doivent dire si les images qui leur sont présentées lors du test de rétention sont identiques, semblables ou différentes à celles vues lors de la

phase d'acquisition. Dans cet article, les auteurs cherchent tout d'abord à évaluer l'impact de la répétition sur la mémoire de reconnaissance. Ainsi, ils démontrent que la répétition augmente le nombre de bonnes réponses (image observée lors du test est identique à celle observée lors de l'acquisition), mais diminue le nombre de bon rejet (image observée lors du test est semblable, mais pas identique, à celle observée lors de l'acquisition). L'IRM fonctionnelle met en évidence que l'activité du noyau Re, tout comme celle du CPFm, est augmentée lors de l'émission des bonnes réponses, alors que celle de CA1 est diminuée. Ici, l'analyse PPI a démontré que la répétition influençait la coordination du circuit hippocampo-cortico-thalamique dans lequel **le noyau Re** joue un rôle de **médiateur** entre le **CPFm** et l'**HIP** (Reagh et al., 2017).

L'ensemble de ces données chez l'Homme va dans le sens des études effectuées chez l'animal, montrant que cette structure thalamique joue un rôle essentiel dans le dialogue hippocampo-cortical.

3.5.3. Mémoire de travail

La **mémoire de travail** est une fonction mnésique permettant le maintien en **mémoire à court terme** (de l'ordre de la seconde ou de la minute) d'un faible nombre d'items, ainsi que leur **manipulation mentale**. Classiquement, elle peut être évaluée dans divers dispositifs comme le **labyrinthe à 8 branches** ou le **labyrinthe en T**. C'est un processus nécessitant l'implication du CPFm et de l'HIP (e.g. Colgin, 2011 ; Gordon 2011). Au sein du **premier labyrinthe**, l'animal, en restriction alimentaire (ou hydrique), est déposé au centre du dispositif. Dans l'extrémité de chacun des 8 bras, se trouve de la nourriture (ou de l'eau). Cette récompense est ingérée en une seule prise de manière à ce que l'animal n'ait pas besoin de retourner dans un bras déjà visité. Le principe se base sur la vérification que l'animal apprend à ne plus faire d'erreurs (retour dans un bras déjà visité). Bien évidemment, ce test ayant été adapté selon les besoins particuliers d'une multiplicité d'études, il est possible de trouver dans la littérature des versions différentes à celle exposée ici. Au sein du **second labyrinthe**, l'animal, en restriction alimentaire (ou hydrique), est déposé au pied du T (souvent dans une boîte de départ). Lorsque la tâche commence, l'animal doit remonter la branche principale du T et, une fois arrivé à l'intersection, faire un choix (forcé ou libre) quant à la branche à suivre (gauche ou droite) pour obtenir une récompense. Lors de l'essai suivant, l'animal est à nouveau placé au pied du labyrinthe. Il sera récompensé s'il fait le



choix d'entrer directement dans la branche qu'il n'a pas visité au cours de l'essai précédent : on parle de **tâche d'alternance**. Si les deux essais se suivent directement on parle d'alternance continue, si l'expérimentateur impose un délai entre les deux essais on parle d'alternance retardée (ou différée). Enfin, il est possible de placer des indices visuels (couleur) et/ou tactile (texture) au sol sur un côté du labyrinthe, qui sera ou non associé à la récompense : on parle alors de discrimination de couleur ou de texture à la base du comportement d'alternance. Par exemple, la moitié gauche du labyrinthe comprend des indices rugueux noirs et la moitié droite des indices lisses couleur bois. Seule la branche comprenant des indices rugueux noirs sera récompensée. En discriminant les indices, l'animal trouvera la récompense (e.g. [Hallock et al., 2013](#)).

La première mise en évidence de l'implication des noyaux ReRh dans la mémoire de travail provient des travaux de Vann et collaborateurs. Par l'utilisation du labyrinthe à 8 branches, ces auteurs ont étudié l'expression du gène *c-fos* à la suite d'une tâche de mémoire spatiale de travail. Ainsi, ils ont observé une augmentation significative de la protéine cFOS dans le noyau Re. De plus, pour évaluer l'impact de la demande spatiale, ces auteurs ont utilisé deux groupes d'animaux : un groupe entraîné et testé dans la même pièce, et un autre entraîné et testé dans deux pièces différentes. Les résultats montrent que l'augmentation de la protéine cFOS dans le **Re** est **proportionnelle** à la **demande spatiale** de la tâche. Ce profil d'activation est retrouvé dans le CPFm (et plus particulièrement le PL) ainsi que dans l'HIP ([Vann et al., 2000a ; 2000b](#)), tous deux nécessaires à la tâche.

Une décennie plus tard, Hembrook et Mair ont montré que, la lésion précacquisition des noyaux ReRh entraînait des déficits de mémoire spatiale de travail dans un labyrinthe à 8 branches. Ces données tendent à confirmer l'hypothèse selon laquelle **les noyaux ReRh** sont **impliqués** dans des **tâches mnésiques** nécessitant l'**interaction** entre le **CPFm** et l'**HIP** ([Hembrook et Mair, 2011](#)). En 2012, ces mêmes auteurs, ont obtenu des résultats similaires lors de l'inactivation transitoire (muscimol à différentes concentrations) des noyaux ReRh dans une autre tâche comportementale. Dans cette dernière, les rats, en restriction alimentaire, sont placés dans une chambre de conditionnement opérant qui comprend deux leviers rétractables. Au cours de la première phase de ce test, seul un des leviers était présenté à l'animal. Puis, après des délais de 1, 5 ou 25 secondes, les deux leviers étaient présentés. L'animal était récompensé lorsqu'il pressait le levier qui n'était pas présenté lors de la première étape, on parle de « *delayed nonmatching to position* » (DNMTP). L'intégrité du

CPFm et de l'HIP est essentielle à la réalisation de cette tâche (Porter et al., 2000). Ainsi, les auteurs ont mis en évidence que l'instillation de muscimol dans les noyaux ReRh juste avant la tâche altérait les performances des animaux quelle que soit la dose employée. Dans une seconde expérience, ils ont utilisé une tâche comportementale seulement dépendante de l'HIP. Dans cette tâche, l'inactivation des noyaux ReRh n'avait aucun impact sur les performances, hormis à la dose de muscimol la plus élevée. Cependant, en raison d'une possible inactivation des régions voisines ou adjacentes, les auteurs ont estimé qu'à cette dernière dose, l'effet observé ne peut être considéré comme spécifique des noyaux ReRh (Hembrook et Mair, 2012). Ces résultats suggèrent que **ces noyaux** sont **indispensables** à la **communication HIP - CPFm** lors de la réalisation de la tâche. Depuis, plusieurs études effectuées chez le Rat sont venues confirmer ces données, que ce soit dans le cadre de tâches d'alternance (e.g. Layfield et al., 2015 ; Hallock et al., 2016 ; Viena et al., 2018) ou de discrimination (e.g. Hallock et al., 2013) dépendantes de la mémoire de travail.

L'utilisation de l'optogénétique a récemment permis à l'équipe de Griffin d'apporter des données supplémentaires, chez le Rat, à ce sujet. En effet, elle a effectué une tâche d'alternance spatiale différée, tâche qui comprend donc un premier essai, un délai, puis un second essai. La suppression de l'activité du noyau Re tout au long de cette tâche entraîne des déficits de mémoire de travail, comme cela a déjà été montré avec la lésion et l'inactivation de ce noyau. En effectuant cette suppression juste avant le premier essai, au cours du délai, ou avant le second essai, les auteurs ont montré que la suppression du noyau Re n'entraînait des déficits de mémoire que lorsque l'inactivation survenait avant le premier essai (Maisson et al., 2018). Les auteurs en concluent que **le noyau Re** est, non seulement, **nécessaire** à la **mémoire spatiale de travail** mais que l'activité de ce noyau est **essentielle** au cours du premier essai suggérant que le noyau Re serait un **support des processus d'encodage** au cours d'une tâche de mémoire spatiale de travail.

3.5.4. Mémoire à long terme et persistance d'un souvenir

Ce projet de thèse portant sur la mémoire à long terme, et plus précisément sur la persistance d'un souvenir au cours du temps, nous allons maintenant nous intéresser aux travaux publiés à ce propos.

L'un d'eux, qui utilise des animaux contrôles sans preuve de l'existence d'un souvenir, ne permet pas de conclure quant au rôle des noyaux ReRh dans une tâche de mémoire spatiale très classique, puisqu'il s'agit de la piscine de Morris (Davoodi et al., 2009). Dans une seconde étude parue à la même époque, Dolleman Van der Weel et collaborateurs ont comparé les effets d'une lésion excitotoxique (acide iboténique) des noyaux ReRh à ceux d'une lésion bilatérale de l'HIP ou du MD. Après 3 jours d'acquisition (6 sessions de 3 essais/jour), les performances de rappel ont été testées 24 heures (mémoire à long terme récente) après la dernière session. L'acquisition était normale chez les animaux contrôles et les animaux lésés ReRh. En revanche, les animaux lésés MD présentaient des comportements thigmotaxiques importants ralentissant l'apprentissage. Enfin, comme déjà démontré plusieurs fois auparavant, les animaux lésés HIP présentaient des déficits marqués au cours de cette phase. Lors du test de rétention, ces auteurs ont analysé le type de stratégie utilisé. Initialement, l'ensemble des animaux sans déficit à l'acquisition se dirigeait directement vers l'emplacement où se situait la plateforme au cours de l'acquisition. Cependant, suite à cela, seuls les animaux contrôles insistaient à cet endroit ; ce qui n'était pas le cas des rats lésés ReRh qui n'employaient donc pas la même stratégie. Ainsi, ils ont montré que la lésion des noyaux ReRh n'impactait ni l'apprentissage, ni le rappel d'un souvenir récent (Dolleman Van der Weel et al., 2009). Les auteurs ont suggéré que **les noyaux ReRh** seraient impliqués dans la **flexibilité comportementale** (i.e. changement de stratégies) entraînant la suppression de comportement inadapté (ici, chercher une plateforme qui n'est plus présente), fonction nécessitant l'implication à la fois du CPFm et de l'HIP (Chudasama et al., 2012). Au sein du laboratoire, des données similaires ont été rapportées, montrant que, chez le Rat, **l'inactivation des noyaux ReRh** peut induire un **déficit de flexibilité comportementale** dans une tâche nécessitant à la fois le CPFm et l'HIP (Cholvin et al., 2013).

Les travaux de Dolleman Van der Weel et collaborateurs représentaient, à cette époque, les premières et uniques données concernant l'implication de ces noyaux dans la mémoire à long terme. C'est pourquoi, au sein du laboratoire, des chercheurs se sont intéressés à cette thématique dans le cadre de la consolidation au niveau des systèmes. En effet, Loureiro et collaborateurs ont étudié l'effet d'une lésion excitotoxique préacquisition des noyaux ReRh sur le rappel d'une mémoire spatiale à long terme récente (5 jours) ou ancienne (25 jours) en piscine de Morris chez le Rat. En accord avec les travaux cités précédemment, ces auteurs ont observé que la lésion n'affecte ni l'apprentissage, ni le rappel d'une mémoire récente. Cependant, elle empêche le rappel d'une mémoire ancienne (25



jours), montrant le **rôle clé** de ces **noyaux** dans la **consolidation et/ou le rappel** d'une mémoire ancienne. Afin d'identifier lequel de ces deux phénomènes est impacté, ces auteurs ont inactivé transitoirement (instillation de lidocaïne) les noyaux ReRh avant le test de rétention (5 et 25 jours). Aucun effet ne fût observé sur les performances de rappel à 5 jours, ni à 25 jours, suggérant que les noyaux ReRh seraient plutôt impliqués dans la consolidation d'une mémoire ancienne, et non dans le processus dynamique qui sous-tend le rappel de celle-ci (Loureiro et al., 2012). En revanche, ces mêmes auteurs ont montré une augmentation importante de l'expression de la protéine cFOS dans les noyaux ReRh lors du rappel à 25 jours chez des rats non opérés. Cela ne permet pas d'exclure totalement la possibilité d'une implication de ces noyaux dans le processus de récupération de l'information. En effet, l'absence de conséquences de l'inactivation transitoire des noyaux ReRh sur le rappel pourrait s'expliquer par la mise en place d'un mécanisme compensatoire (Cassel et al., 2013).

Comment les noyaux ReRh sous-tendent-ils la persistance d'un souvenir ? Afin de répondre à cette question, Loureiro et collaborateurs ont tenté, au sein du laboratoire, de préciser le rôle des noyaux ReRh dans la persistance d'une mémoire spatiale en étudiant les mécanismes perturbés par la lésion de ces derniers. Pour cela, les rats ont subi une lésion excitotoxique, puis un test de mémoire spatiale en piscine de Morris selon le même protocole expérimental que celui décrit précédemment (i.e. Loureiro et al., 2012). Puis, le cerveau des animaux a été récupéré afin d'observer l'impact de cette lésion sur l'expression de la protéine cFOS au sein du CPFm et de l'HIP. Cette expérience a permis de mettre en évidence que, lors du test de rappel à 25 jours, l'augmentation de l'expression de la protéine cFOS observée dans le CPFm des rats témoins (Sham) est abolie par la lésion des noyaux ReRh, en particulier dans le CCA. En revanche, à 5 jours, aucune différence d'expression de la protéine cFOS n'a été mise en évidence dans le CPFm (Klein, Cholvin et al, soumis). Ces données tendent à conforter l'idée que les noyaux ReRh jouent bel et bien un rôle essentiel dans le dialogue hippocampo-cortical permettant le transfert de la trace mnésique, au moins en partie, vers des aires corticales nécessaires à la persistance d'un souvenir spatial. Mon projet de thèse vient compléter ces travaux en cherchant à évaluer l'implication des noyaux ReRh dans la plasticité structurale corticale (CPFm) et hippocampique (HIPd) nécessaire à la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat. La plasticité structurale est d'ailleurs le sujet du chapitre suivant.

CHAPITRE 3 :

La plasticité structurale

CHAPITRE 3 : LA PLASTICITE STRUCTURALE

« *Savoir s'étonner à propos est le premier pas fait sur la route de la découverte.* »

Louis Pasteur

Notre âme d'enfant qui s'émerveille d'un rien serait-elle alors l'essence même du scientifique qui cherche à découvrir l'inconnu aux yeux de tous ? Cet émerveillement serait-il alors l'atout du bon chercheur ? Cela se pourrait bien. Penchons-nous quelque peu sur l'histoire et les recherches du grand neurobiologiste qu'était Ramón y Cajal. Vu comme le père fondateur des neurosciences actuelles, il semble impossible d'aborder le sujet épineux des épines dendritiques sans se pencher a minima sur cet homme à l'origine de leur découverte.

1. Histoire

1.1. Ramon y Cajal

Santiago Ramón y Cajal, *Figure 17*, est né le 1er Mai 1852 à Petilla de Aragon dans la région de la Navarre au Nord de l'Espagne. Il est décédé le 17 Octobre 1934 dans la capitale espagnole, Madrid. Après des études de médecine à l'Université de Zaragoza, et 2 ans de pratique militaire à Cuba, il est persuadé qu'il ne se destine pas à une carrière médicale. Ainsi, l'intérêt qu'il se découvre pour la beauté des préparations histologiques le fit obtenir, avec brio, le grade de **Docteur de l'Université de Madrid** en 1877 ([Serrano-Castro et Garcia-Torrecillas, 2012](#)).

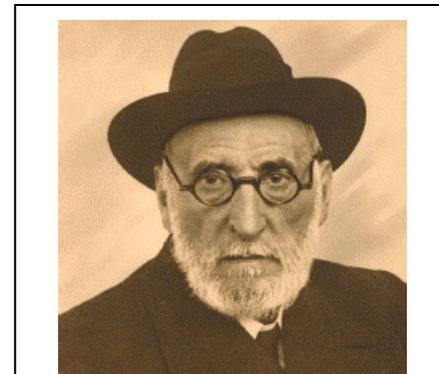


Figure 17 : Santiago Ramón y Cajal en 1933. Extrait de *Serrano-Castro et Garcia-Torrecillas, 2012*

Déçu des moyens présents au laboratoire, Cajal fit l'acquisition de son propre matériel à la pointe de la technologie (microscope, microtome, instruments de micrographie, etc) afin de créer son **laboratoire dans sa propre demeure**. En 1887, un tournant capital marque la carrière scientifique de Cajal. En effet, nommé à l'Université de Barcelone, il y rencontra le Dr Luis Simarro ([Serrano-Castro et Garcia-Torrecillas, 2012](#)), qui lui apprit une méthode inédite de coloration du tissu nerveux: l'**imprégnation de Golgi** ([Golgi, 1873](#)). Cajal se

fascina pour cette nouvelle technique qui permettait, enfin, d'observer les cellules nerveuses dans leur intégralité. Animé d'une grande curiosité, il améliora la méthode de Golgi et partit à la découverte du système nerveux et de ses méandres. Il dédia presque un demi-siècle à ses recherches (1887-1934), publiant des dizaines d'études sur la **structure du système nerveux** (e.g. moelle épinière, système nerveux central, rétine) à différents niveaux phylogénétiques (e.g. poule, chien, rat, homme) ou ontogénétique (embryonnaire, juvénile, adulte). La consécration de sa carrière arriva en Octobre 1906, lorsque'il reçut le **Prix Nobel de Physiologie ou de Médecine**, qu'il partagea avec Camillo Golgi, inventeur de la technique éponyme, pour leur travail sur la structure du système nerveux (De Carlos et Borrell, 2007). L'approfondissement des études et des hypothèses qu'il proposa tout au long de sa carrière permit de poser **les bases fondamentales des neurosciences actuelles**.

1.2. Du neurone à la synapse

La première observation des épines dendritiques se déroula dans un contexte scientifique particulier. À cette époque, la **théorie réticulaire** proposée par Joseph von Gerlach, en 1871, prédominait. Le point de vue de von Gerlach trouvait un fervent défenseur en la personne de Camillo Golgi. Cette théorie postulait que le **système nerveux** était constitué d'un **réseau de fibres anastomosées** formant un maillage fusionné, une sorte de syncytium en quelque sorte. Cependant, les techniques de coloration employées n'étant pas

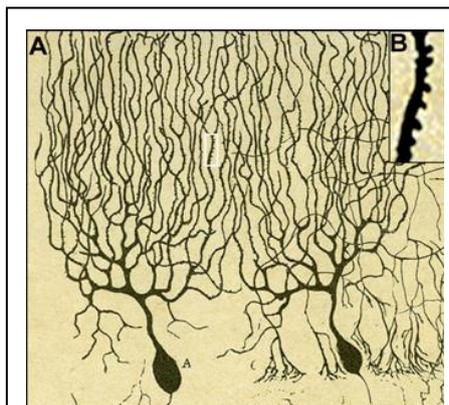
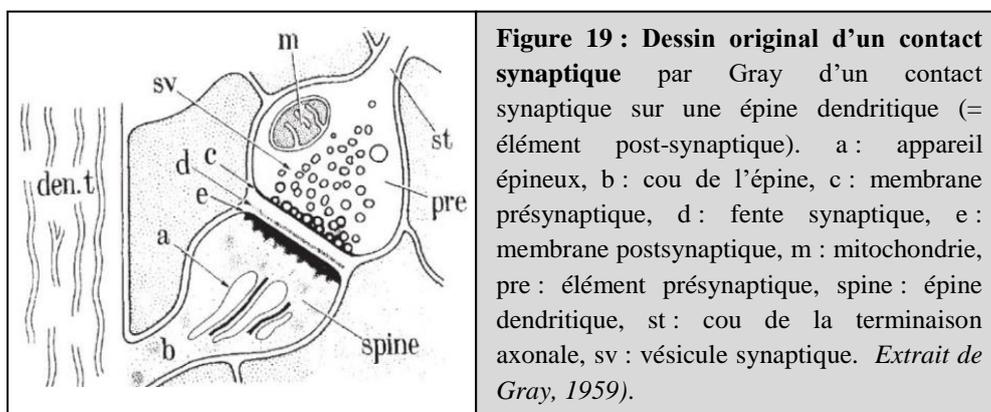


Figure 18 : Dessin original d'une cellule de Purkinje par Ramon y Cajal (A) d'une cellule de Purkinje de Poulet et (B) d'un segment dendritique où sont visibles les épines dendritiques. *Extrait de García-López et al, 2007.*

assez évoluées, elles ne permettaient pas l'observation détaillée des relations entre ces fibres. Ainsi, ne reposant pas sur des faits scientifiques rigoureux, la théorie réticulaire semblait essentiellement spéculative (Tixier-Vidal, 2010). À la fin des années 1880, Cajal réfuta cette hypothèse grâce à l'observation de coupes histologiques de tissu cérébral coloré par la méthode de Golgi. En effet, il mit en évidence les **libres terminaisons des fibres nerveuses** et formula l'hypothèse d'une **discontinuité** entre les cellules constitutives de l'encéphale (Cajal, 1888). En 1891, Heinrich Wilhelm Waldeyer compléta les observations de Cajal et proposa le mot neurone pour désigner les cellules nerveuses : la

doctrine neurone ou **théorie neuronale** était née. Dans ces mêmes études de 1888, Cajal identifia pour la première fois les épines dendritiques sur des cellules de Purkinje de Poulet, *Figure 18*. « ... la surface ... apparait hérissée avec des points ou de petites épines ... » voici la **description initiale** faite par Cajal (García-López et al., 2007). Pour confirmer sa découverte, il répéta l'expérience dans diverses circonstances : sur des cellules de Purkinje de Chat (Cajal, 1889), sur des cellules granulaires olfactives de Rat (Cajal 1890), chez l'Homme (Cajal, 1892), ou encore par l'emploi d'autres techniques histologiques (e.g. bleu de méthylène ; Cajal, 1896).

Dès lors, Cajal émit l'hypothèse que les **contacts entre les neurones** s'effectuaient principalement au niveau des **épines dendritiques**, bien qu'il n'excluait pas non plus la possibilité qu'ils se fassent directement sur la dendrite. En 1897, Foster et Sherrington expliquaient : « Aussi loin que nos connaissances actuelles vont, nous sommes menés à penser que l'extrémité des branches de l'arborisation n'est pas continue, mais simplement en contact avec la substance de la dendrite ou du corps cellulaire sur lequel il empiète. » (Foster et Sherrington, 1897), et ils décidèrent de nommer cette connexion la **synapse**. Il fallut cependant attendre l'avènement de la microscopie électronique (Palade et Palay, 1954) pour que les synapses puissent être définitivement mises en évidence (Palay, 1956). Elles sont composées d'un **compartiment présynaptique** constitué du **bouton axonal** du neurone émetteur et d'un **compartiment postsynaptique** situé sur les **dendrites**, l'**axone** ou le **corps cellulaire** du neurone (ou cellule) receveur, ou sur la membrane d'autres cellules que les neurones. C'est par microscopie électronique que les **épines dendritiques** furent identifiées pour la première fois comme **élément postsynaptique** au sein de la synapse, *Figure 19* (Gray, 1959).



Aujourd'hui, nous savons que la majorité des synapses excitatrices ont pour **élément postsynaptique** des **épines dendritiques** (Peters et Kaisermann-Abramof, 1969), bien qu'un

certain nombre s'effectuent sur la dendrite elle-même (Hersch et White 1981). Il est aussi connu que les **synapses** s'établissent principalement sur la **tête de l'épine** malgré la possibilité que certaines d'entre elles – notamment les synapses inhibitrices – se situent sur le cou de l'épine dendritique (Jones et Powell, 1969). Depuis, les épines dendritiques ont été grandement étudiées afin de déterminer leur fonction, leur composition, ou encore leur morphologie, voire les processus qui expliquent leur mise en place ou leur disparition. Nous allons maintenant nous intéresser aux caractéristiques morphologiques qui permettent de les classer, ainsi qu'aux phénomènes qui permettent leur formation.

2. Morphogénèse des épines dendritiques

2.1. Description morphologique

Les **épines dendritiques** possèdent deux caractéristiques morphologiques principales qui sont leur **tête** et leur **cou**. La détermination de la **taille** et de la **forme** de chacune d'elles a conduit à une **première classification** des épines dendritiques en fonction de **critères morphologiques** (Peters et Kaiserman-Abramof, 1970). En 1992, Harris et collaborateurs ont effectué une reconstruction 3D des épines dendritiques par microscopie électronique, afin de déterminer plus précisément les mensurations des épines dendritiques. Cependant, la morphologie des épines reste très hétérogène et cette classification ne rend pas compte de la multitude de formes intermédiaires existantes. Ainsi, il faut garder à l'esprit que les épines ne sont pas figées dans un état statique et qu'elles font l'objet d'un continuum dynamique de remodelage morphologique. Malgré une ambiguïté certaine, cette classification reste la plus répandue et la plus utilisée à l'heure actuelle. Ces deux études classent les épines de la même façon, à savoir : les *stubby* (massives ou trapues), les *thin* (allongées), et les *mushroom* (en forme de champignon), *Figure 20*.

Les **épines du type *stubby*** ne présentent pas de rétrécissement entre leur extrémité et la dendrite : elles ne présentent pas de tête ou de cou distinct. Leur longueur est en général proche de leur diamètre et avoisine les 1 μm en moyenne.

Les **épines du type *thin*** possèdent un cou long et fin plutôt bien défini, dont la longueur dépasse généralement le diamètre et avoisine les 1,1 μm en moyenne. Elle possède

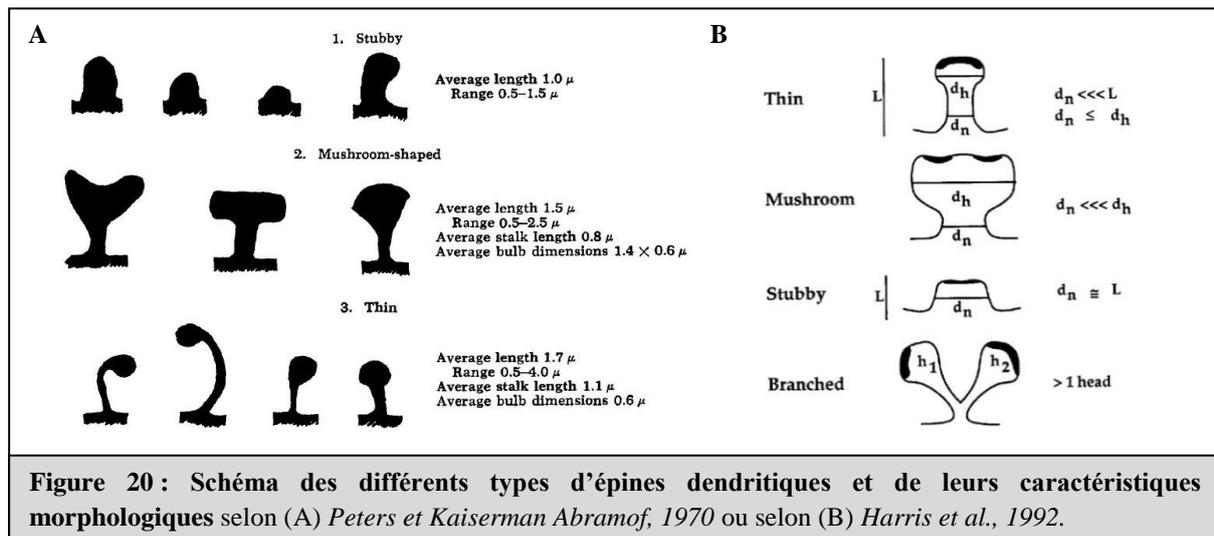


aussi une petite tête distincte dont le diamètre est légèrement supérieur ou égal à celui du cou, mais il est inférieur à $0,6\ \mu\text{m}$. Ces épines sont les plus nombreuses dans l'HIP et le cortex chez l'animal adulte (Harris et al., 1992). Elles présentent le plus grand nombre de changements morphologiques spontanés, ce qui leur offre une excellente flexibilité structurale. Elles peuvent se stabiliser, s'élargir, ou se rétracter. Ainsi, ces épines sont aussi appelées **épines d'apprentissage** ou « *learning spines* » (Harris et Kater 1994 ; rev. Bourne et Harris, 2007).

Les **épines du type *mushroom*** ont un cou court et plutôt étroit d'une longueur de $0,8\ \mu\text{m}$ en moyenne. Leur tête est bulbeuse et plus volumineuse que celles des autres épines. Elles possèdent un diamètre bien supérieur à celui du cou et d'au moins $0,6\ \mu\text{m}$. Ces épines sont moins dynamiques que les *thin* et sont considérées comme stables dans le temps. Ainsi, elles sont aussi appelées **épines de mémoire** ou « *memory spines* » (Sorra et Harris 2000 ; rev. Bourne et Harris, 2007). Cependant, il existe aussi un autre type d'épines dendritiques qui sont parfois classées dans la catégorie *mushroom*: les **épines du type *branched***, aussi appelées épines branchées ou ramifiées. Leurs dimensions se rapprochent de celles des mushrooms à la différence qu'elles possèdent non pas une mais deux têtes qui se partagent une portion de cou commun (Harris & Stevens, 1988 ; Peters et Kaiserman Abramof, 1970).

Les **épines de type filopode** présentent un cou très long et fin, sans tête définie à leur extrémité, d'une longueur souvent supérieure à $2\ \mu\text{m}$ et pouvant aller jusqu'à $20\ \mu\text{m}$ (Yuste et Bonhoeffer, 2004). Beaucoup d'études morphologiques les excluent de la classification. En effet, leur présence précédant souvent la formation des synapses (et des épines dendritiques) lors du développement, ils sont considérées comme le **précurseur ontogénique** des épines dendritiques. De plus, les filopodes ne présentent généralement pas de contact avec un élément présynaptique et se retrouvent davantage dans le système nerveux immature, où ils scannent leur environnement à la recherche d'un bouton axonal (Bourne et Harris, 2007). Les filopodes sont présents à la fois sur les dendrites et les axones. Portera-Cailliau et collaborateurs suggèrent, en 2003, qu'il existerait deux catégories distinctes de filopodes dendritiques. L'une d'entre elle se situerait à l'extrémité terminale des dendrites et serait impliquée dans le guidage de la croissance et de l'établissement des branchements dendritiques (**dendritogénèse**) de manière similaire aux filopodes du cône de croissance axonal. L'autre se situe sur le corps de la dendrite et serait plutôt impliquée dans la formation de nouvelles épines dendritiques (**spinogénèse** ; Portera-Cailliau et al., 2003). L'implication

du filopode dans la mise en place des épines dendritiques n'est pas considérée comme le seul modèle. Il existe principalement 3 modèles que nous allons développer plus précisément dans le paragraphe suivant.



2.2. Spinogénèse

2.2.1. Le modèle filopodial

Les filopodes sont des structures neuronales beaucoup plus motiles et dynamiques que les épines dendritiques. En effet, ils se forment ($2,5 \mu\text{m}/\text{min}$) et se rétractent continuellement de façon très rapide avec une demi-vie de l'ordre de 10 min. De plus, au fur et à mesure du développement, une diminution du nombre de filopodes au profit des épines dendritiques est observée (Dailey et Smith, 1996).

De par ces résultats, Dailey et Smith proposèrent un modèle de spinogénèse où le **filopode** est à l'**origine des épines dendritiques** (Dailey et Smith, 1996). Ce modèle

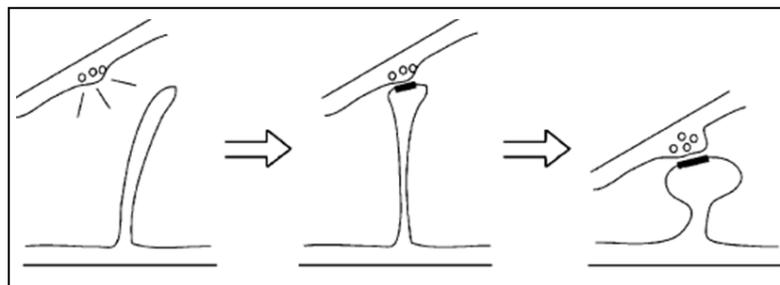


Figure 21 : Modèle du filopode de Dailey et Smith. Extrait de Ethell et Pasquale, 2005.

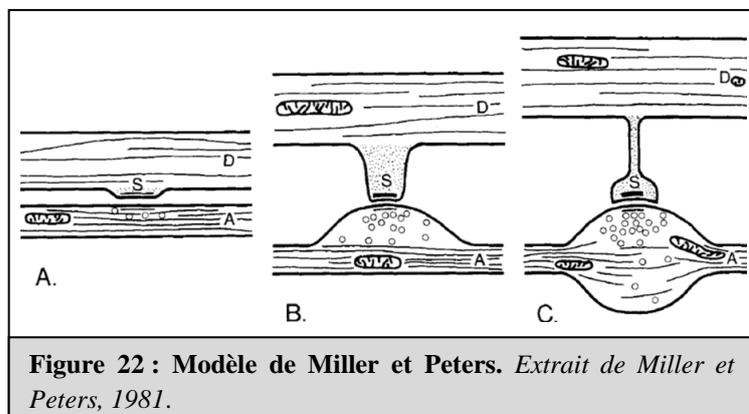
filopodial, *Figure 21*, postule que le **filopode** dendritique teste l'espace extracellulaire entourant la dendrite jusqu'à la **rencontre** avec l'**axone**. Une fois ces deux éléments en contact synaptique, une **transformation du filopode** en épine dendritique s'opère par diminution de sa motilité, raccourcissement, et enfin élargissement de son extrémité pour



former une épine dendritique possédant un cou et une tête bien définis. Cette hypothèse se base sur des études dans lesquelles les auteurs observent en temps réel une culture dissociée de neurones hippocampiques de Rat (Ziv et Smith, 1996). Les dendrites sont colorées par un colorant fluorescent vert (DiO) et les terminaisons axonales par un colorant fluorescent rouge (FM4-64). Ainsi, ils mettent en évidence le contact filopode - axone voisin et observent les phénomènes conduisant à l'établissement de l'épine (i.e. motilité, morphologie). D'autres études, effectuées notamment sur du cortex de Souris et utilisant la transfection virale de GFP pour observer les dendrites, ont rapporté des résultats similaires à l'appui de cette hypothèse (Dunaevsky et al., 1999 ; Lendvai et al., 2000). En 2003, l'équipe de Yuste a démontré que la libération de glutamate dans l'environnement avoisinant le filopode entraînait son extension, confirmant l'hypothèse du chimiotactisme pouvant être à l'origine de la rencontre du filopode avec l'axone (Portera-Cailliau et al., 2003). De plus, les filopodes seraient même capables de distinguer les terminaisons présynaptiques glutamatergiques des terminaisons GABA-ergiques sur lesquelles ils ne formeraient jamais de contact synaptique, même transitoirement (Lohman et Bonhoeffer, 2008). Cependant, à l'heure actuelle, ce modèle reste controversé et le mécanisme exact de la spinogénèse n'est pas encore élucidé. Ainsi, deux autres modèles principaux ont ainsi été proposés. .

2.2.2. Le modèle de Miller et Peters

Le plus ancien, le modèle de Miller et Peters (Miller et Peters, 1981) repose sur des expériences de microscopie électronique faites chez le Rat. Ces auteurs ont étudié les neurones pyramidaux de la couche V du cortex visuel à différents jours postnataux (P3, P6, P9, P12, P15 et P21). L'aspect transitoire des filopodes, l'augmentation âge-dépendante du nombre d'épines dendritiques au détriment du nombre de filopodes, ainsi que la mise en évidence de synapses axo-dendritiques mena les auteurs à proposer ce modèle. Ce dernier, *Figure 22*, postule que la **terminaison axonale** sonde le



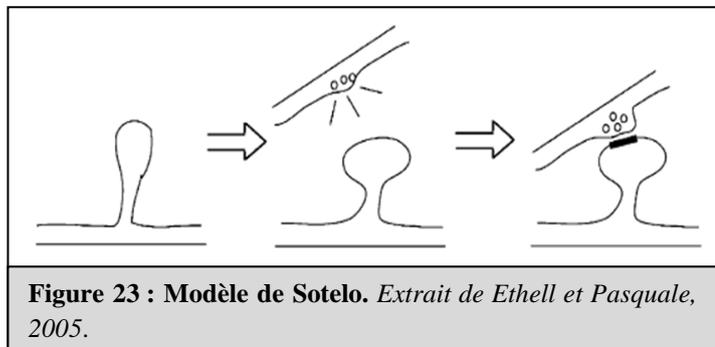
milieu extracellulaire à la recherche d'une région permettant l'établissement d'un contact synaptique sur le **corps de la dendrite**. Une fois le contact établi, la région **présynaptique** se

différencie et présente un gonflement accumulant les vésicules synaptiques, tandis que la région **postsynaptique** mature présente un **léger soulèvement** (protusion du type *stubby*). Enfin, l'épine dendritique évolue et se stabilise vers le type *thin* ou *mushroom*. Ce modèle se vérifie aussi dans le cortex visuel de Souris où les synapses s'établissent préférentiellement sur le corps de la dendrite au début du développement (P12), puis, par la suite (P21), sur les épines dendritiques présentant un cou (**Braitenberg et Schüz, 1991**).

Depuis, d'autres études sont venues apporter des résultats similaires sur des coupes d'HIP de Rat (**Harris et al., 1992 ; Fiala et al., 1998 ; Marris et al., 2001**). Ce modèle, aussi retrouvé sous le nom de modèle d'induction axonale (**Hamori, 1973 ; Mates et Lünd, 1983 ; Braitenberg et Schüz, 1991**), donne un rôle crucial à la terminaison présynaptique dans la spinogénèse puisqu'elle en serait l'origine.

2.2.3. Le modèle de Sotelo

Cependant, d'autres études menées sur les cellules de Purkinje du cervelet de Souris n'ont pas débouché sur les mêmes hypothèses. En effet, chez des souris transgéniques dépourvues de cellules en grains (i.e. le partenaire présynaptique de la majorité des cellules de Purkinje), on observe une perturbation développementale des dendrites des cellules de Purkinje. Ces dernières sont atrophiées, mais présentent néanmoins des épines dendritiques tout à fait normales (**Sotelo et al., 1975 ; Rakic et Sidma, 1973**). De plus, l'irradiation aux rayons X de rats nouveaux-nés entraînant une perte de cellules en grains provoque des résultats semblables (**Sotelo et al., 1977 ; Altman et Anderson, 1972**). Enfin, il était connu que les branches distales des dendrites des cellules de Purkinje développent des épines dendritiques avant la mise en place de contacts synaptiques avec les fibres parallèles (i.e. axone des cellules en grains ; **Larramendi et al., 1969**). L'ensemble de ces données tend à montrer une **mise en place** des épines dendritiques tout à fait



autonome, sans dépendance vis-à-vis de l'élément présynaptique. Ainsi, Sotelo émit l'hypothèse que la formation des épines dendritiques semble être une **propriété intrinsèque du neurone**. Chaque cellule de Purkinje sait comment construire une épine et contrôler

intrinsèquement sa densité (Yuste et Bonhoeffer, 2004). Ce modèle, *Figure 23*, n'est pas du tout en accord avec ceux explicités précédemment. Cependant les types cellulaires étudiés sont totalement différents – ne serait-ce que par leurs propriétés physiologiques (i.e. excitateur vs inhibiteur) – ce qui pourrait peut-être expliquer, en partie, cette différence de stratégie.

2.2.4. Spinogénèse à l'âge adulte

L'ensemble des données que nous venons d'évoquer sont en majorité basées sur les événements se déroulant lors du développement, dans les premières semaines post natales. Mais ces épines restent-elles stables dans le temps ? Et qu'en est-il de la formation de nouvelles épines dendritiques à l'âge adulte ?

En 2002, Grutzendler et collaborateurs ont voulu aborder la seconde question. Par microscopie biphotonique, ils ont suivi en temps réel l'évolution des épines dendritiques dans le cortex visuel de souris transgéniques adultes exprimant la protéine fluorescente jaune (YFP). Ainsi, à l'âge adulte, la grande majorité des épines dendritiques (96%) seraient stables avec une demi-vie supérieure à 13 mois (Grutzendler et al., 2002). Pour une souris âgée de 24 mois, il y aurait donc potentiellement 30% des épines dendritiques qui seraient présentes tout au long de la vie de la souris (Yuste et Bonhoeffer, 2004). Les **épines dendritiques** connues pour leur **dynamisme** et leur **motilité** au cours du développement semblent donc, chez l'adulte, être des éléments **relativement stables**. Les auteurs mettent tout de même en évidence la possibilité de **formation de nouvelles épines dendritiques** à tout âge et soulignent l'importance du changement de morphologie dans la plasticité du système nerveux (Grutzendler et al., 2002).

Cependant, la même année, Trachtenberg et collaborateurs viennent nuancer ces résultats, en employant le même type de technique sur le cortex somatosensoriel de souris transgéniques exprimant la GFP. Eux démontrent des durées de vie beaucoup plus courtes. En effet, les souris présenteraient 17% d'épines dont la durée de vie est inférieure à 1 jour, 23% dont la durée de vie est inférieure à 1 semaine, et 60% des épines perduraient plus d'une semaine. Les auteurs soulignent que les durées de vie varient de manière importante même si les épines stables (environ 50% de la population) perdurent plus d'un mois. Tout comme dans l'étude précédente, les auteurs observent la formation de nouvelles épines dendritiques à l'âge adulte (Trachtenberg et al., 2002). Les différences observées entre ces deux études pourraient

peut-être s'expliquer par la différence des régions cérébrales (et par conséquent, aussi le type neuronal) étudiées.

2.2.5. Vers un modèle unique

L'intégralité des résultats que nous venons de citer semble difficile à ranger sous le chapeau d'une théorie générale. Cependant, on peut supposer que chaque aire cérébrale avec ses particularités fonctionnelles présenterait un type de dynamisme plutôt qu'un autre au niveau de la genèse et du maintien des épines dendritiques, ou qu'à l'inverse, plusieurs voies de spinogénèse cohabiteraient au niveau de chaque neurone. En tenant compte du fait que toutes ces études ne sont pas totalement comparables entre elles – notamment par le modèle utilisé (souris, rat, modification génétique, *in vivo*, *in vitro*, etc.) ainsi que par l'âge du modèle étudié (différents stades de développement, juvénile, adulte) – un modèle de spinogénèse unique a été proposé (García-López et al., 2010). Ce dernier postule que 3 stratégies distinctes se mettraient en place au cours du temps. (i) Au tout début de la synaptogénèse (stade embryonnaire), les densités postsynaptiques isolées peuvent former une synapse au contact d'une terminaison axonale (i.e. élément présynaptique). La maturation de ces contacts initiaux donnera lieu à la formation des premières épines dendritiques. (ii) Lors de la première semaine post natale, les filopodes dendritiques sont en grand nombre et peuvent former des contacts avec les terminaisons axonales, favorisant ainsi la transformation du filopode en épines dendritiques. La présence de ces filopodes pourrait être une stratégie neuronale favorisant le recrutement des axones et la formation des épines dendritiques. Ces filopodes auraient accès à plusieurs terminaisons axonales et pourraient choisir la plus active et la plus adaptée en discriminant les différents types de terminaisons. (iii) Enfin au stade juvénile et adulte, les épines dendritiques entreraient en contact avec une terminaison axonique pour, ensuite, mûrir. Ainsi, chacune de ces stratégies se déroulerait dans une fenêtre de temps spécifique (García-López et al., 2010).

3. Ultrastructure des épines dendritiques

3.1. Organites

Les neurones sont des cellules très étendues, plaçant les épines dendritiques les plus éloignées du corps cellulaire à plusieurs centaines de micromètres de ce dernier. Pour qu'elles puissent fonctionner de manière autonome et efficace, il semble nécessaire que tous les outils indispensables à leur activité soit présents à proximité. Ainsi, elles possèdent une ultrastructure interne complexe comprenant un panel d'organites proches de, ou à l'intérieur-même de l'épine (e.g. rev. [Sorra et Harris, 2002](#) ; [Sheng et Hoogenraad, 2007](#) ; [Harris et Weinberg, 2012](#)).

Le **réticulum endoplasmique (RE)**, aussi appelé corps de Nissl dans les neurones, représente un réseau dynamique et contigu pouvant s'étendre, à partir de la dendrite, au sein de certaines catégories d'épines dendritiques (principalement les plus larges) et être lié à la densité postsynaptique ([Spacek et Harris, 1997](#)). Lorsqu'il est présent, son volume est **proportionnel** au **volume** de l'**épine dendritique** et sa quantité varie le long de la dendrite proportionnellement à la taille des épines qui émergent de la dendrite ([Harris et Stevens, 1988](#) ; [Spacek et Harris, 1997](#)). Au sein de l'épine, cet organite jouerait un rôle dans la **modulation du calcium** (stockage, libération), le transport de macromolécules (e.g. lipides, protéines membranaires), ou encore la synthèse locale de protéines ([Nimchinsky et al., 2002](#) ; [Horton et Ehlers, 2004](#)). Il existe une **forme spécialisée** d'organite, appelé **appareil épineux**, qui est essentiellement **retrouvée** dans le **cou** et la **tête** des épines, et qui semblerait impliquée, tout comme le RE, dans la **régulation calcique**, la **synthèse protéique**, ou encore les **modifications posttraductionnelles**. Il est présent principalement dans les épines larges puisque 80% des épines de type *mushroom* en contiennent ([Spacek et Harris 1997](#)). Il est constitué d'un empilement de saccules du RE, séparé par des plaques denses aux électrons, et contenant entre autres des protéines liants l'actine (e.g. synaptopodine, [Deller et al., 2000](#)). Des souris déficientes en synaptopodine, ne présentant ainsi pas d'appareil épineux, exhibent une diminution de la potentialisation à long terme (LTP) dans l'HIP, suggérant un **rôle** de l'**appareil épineux** dans la **plasticité synaptique** ([Deller et al., 2003](#)).

Le **polyribosome** est présent dans le cytoplasme des cellules nerveuses, notamment au niveau des dendrites et des épines dendritiques (Spacek, 1985 ; Steward et Reeves, 1988). Il est nécessaire à la **traduction locale de protéines** (Steward et Schuman, 2001). Après induction de la LTP, un transfert des polyribosomes dans la tête des épines dendritiques est observé (Ostroff et al., 2002), suggérant que la **traduction** au sein de ces dernières jouerait un rôle important dans le **renforcement synaptique**.

Les **endosomes** seraient présents dans environ 25 à 36% des épines de l'HIP. La reconstruction 3D de celles-ci montre qu'un complexe endosomal servirait pour 10 à 20 épines (Cooney et al., 2002), expliquant peut être pourquoi seules les épines les plus larges en possèdent (Spacek et Harris, 1997). Au cours de la plasticité, l'endosome est fortement régulé, le plaçant comme **potentielle source de membrane** pour l'**élargissement de la tête** des épines dendritiques (Park et al., 2006). La présence de ce type d'organite au sein de l'épine souligne l'existence d'une machinerie de transport intracellulaire permettant, entre autres, l'**apport de récepteurs à la membrane** (nécessaire par exemple à la mise en place de la LTP), ou encore la dégradation de protéines notamment membranaires (nécessaire par exemple au recyclage de ces récepteurs). La présence de **protéasomes** (Ehlers, 2003) et de **lysosomes** (e.g. Goo et al., 2017) au sein de l'épine dendritiques – deux organites impliqués dans le recyclage protéique – étaye cette hypothèse.

Les **mitochondries**, elles, ne sont généralement pas présentes à l'intérieur des épines, sauf dans le cas d'épines dendritiques très larges et complexes (e.g. épines branchées). Le plus souvent, elles se situent au niveau de l'élément présynaptique ou restent à la **base de l'épine dendritique** au sein de la dendrite postsynaptique (Chicurel et al Harris, 1992 ; Popov et al., 2005). Li et collaborateurs ont montré que la manipulation moléculaire du contenu dendritique en mitochondries entraîne une perte d'épines et de synapses lorsque le nombre de mitochondries diminue. À l'inverse, on assiste à une augmentation des épines et des synapses lorsque ce nombre augmente. De plus, suite à l'induction d'une LTP, un transfert de mitochondries au sein des épines dendritiques est observé. L'ensemble de ces résultats suggère une **forte implication** des mitochondries dans les phénomènes de **plasticité** (Li et al., 2004).

Enfin, le **cytosquelette** des épines dendritiques est principalement constitué d'**actine** et ne présenterait pas (ou seulement très peu) de microtubules et de filaments intermédiaires,

contrairement au reste de la cellule nerveuse (Fifkova et Delay, 1982 ; Matus et al., 1982). Seules les épines très larges ou en cours de développement contiendraient occasionnellement des microtubules (Chicurel et Harris, 1992 ; Westrum et al., 1980). Cependant, au cours d'études plus récentes, il a été rapporté un **fort dynamisme des microtubules**, qui entreraient et sortiraient transitoirement et rapidement des épines dendritiques, compliquant de ce fait la mise en évidence de microtubules dans les épines dendritiques (Jaworski et al., 2009 ; Dent et al., 2011 ; Schätzle et al., 2018) ; on dépasserait difficilement le 1%. L'architecture et la régulation de ce cytosquelette d'actine au sein de l'épine dendritique (spinosquelette) sera abordé succinctement dans le paragraphe suivant.

3.2. Spinosquelette d'actine et ses régulateurs

L'**actine** est un élément essentiel de l'architecture des épines dendritiques, dont elle constitue le **spinosquelette**. C'est une **protéine ubiquitaire** hautement **conservée** au sein des organismes eucaryotes. En comparaison au corps de la dendrite, l'actine est présente de manière **abondante** dans la **tête** de l'épine (Landis et Reese, 1983 ; Matus et al., 1982). Elle peut être présente sous forme de **monomère (actine globulaire** ou actine G) de 43KDa, fournissant un **stock d'actine soluble**. Chacun d'entre eux est associé à une molécule d'Adénosine TriPhosphate (ATP) d'une part, et à un cation divalent (Mg^{2+} ou Ca^{2+}) d'autre part. Sans la présence de ces deux **co-facteurs**, l'actine G serait rapidement dégradée. Au sein de l'épine, l'actine est principalement organisée en **filament (actine filamenteuse** ou actine F) très ramifié formant un maillage dense (Korobova et Svitkina, 2010) et permettant, entre autres, le **trafic des vésicules membranaires** (e.g. apport de récepteurs à la membrane), des **ARN messagers** et de la **machinerie traductionnelle** (i.e. synthèse locale de protéines), ou encore l'**ancrage des protéines de la densité postsynaptique**. Ces filaments d'actine se réorganisent rapidement et constamment par des cycles de polymérisation/dépolymérisation. En effet, Star et collaborateurs ont observé des cultures neuronales transfectées à la GFP-actine montrant que 85% de l'actine présente dans les épines dendritiques possédaient un taux de renouvellement inférieur à 1 min (i.e. très dynamique), alors que seulement 5% de l'actine totale serait stable (Star et al., 2002). Cette dynamique de remodelage peut conduire à des modifications morphologiques des épines dendritiques. En effet, l'utilisation d'inhibiteurs de la polymérisation de l'actine bloque les modifications morphologiques des épines (Fischer et al., 1998), tandis que l'utilisation d'agents stabilisants permet de prévenir la perte d'épines

dendritiques due à une excitotoxicité glutamatergique (Halpain et al., 1998). De plus, la LTP pourrait à augmenter le rapport actine F/actine G (Okamoto et al., 2004). Durant celle-ci, l'actine tendrait à se polymériser davantage, phénomène corrélé à l'augmentation du volume de la tête de l'épine (Lin et al., 2005). Cependant, à des stades plus tardifs de la LTP, le spinosquelette d'actine serait beaucoup plus stable et résistant à ces divers agents dépolymérisants (Ramachandran et Frey, 2009). Ces résultats appuient l'hypothèse faite par Bourne et Harris qui propose que les épines de type mushroom sont des épines matures, stabilisées et capables de se maintenir dans le temps (Bourne et Harris, 2007).

L'ensemble des molécules d'actine G présentes au sein d'un filament possède la **même orientation**, lui conférant une **polarité structurale** avec un bout **barbé** (ou extrémité barbée, (+)) où sont incorporés les monomères d'actine G-ATP, et un bout **pointu** (ou extrémité pointue, (-)) où l'on observe la dissociation des monomères d'actine G-ADP,

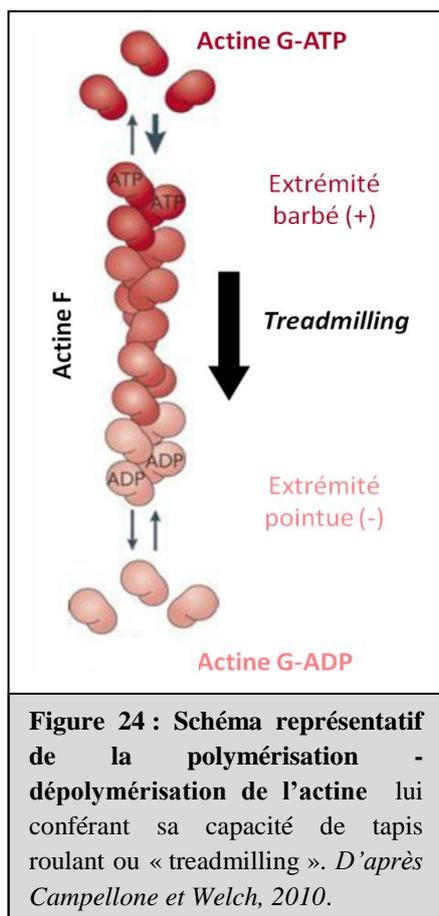
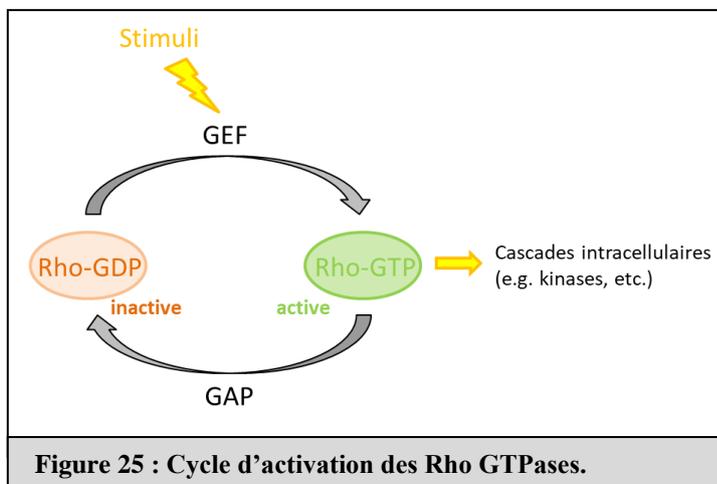


Figure 24. Ce phénomène de tapis roulant ou « treadmilling » permet notamment la formation de protusion de type lamellipode ou filopode à la surface cellulaire. Le bout barbé étant orienté vers la surface de l'épine, ce mécanisme pourrait jouer un rôle important dans la plasticité et notamment dans l'**élargissement de la tête de l'épine** (Pantaloni et al., 2001 ; Pollard, 2003). Cette propriété serait favorisée par la présence d'une protéine liant l'actine ou « *Actin Binding Protein* » (ABP) : le complexe ADF/cofiline (Nishida et al., 1984 ; Yonezawa et al., 1985). Il existe une grande variété d'autres ABP capables de réguler l'assemblage, la stabilité ainsi que le désassemblage des filaments d'actine, comme le complexe Arp 2/3, la Debrin A, la spinophiline, ou encore la synaptopodine pour ne citer que celles-ci. Ces ABP sont, pour la plupart, le point convergent de plusieurs cascades intracellulaires intervenant dans la

modulation de l'actine et des épines dendritiques.

Il est important de souligner que d'autres molécules peuvent moduler ce spinosquelette et être impliquées dans la plasticité des épines dendritiques. Ainsi, les GTPases de la famille Rho (e.g. RhoA, Rac1, Cdc 42) sont des régulateurs essentiels du cytosquelette d'actine (Etienne-Manneville et Hall, 2002). Ces protéines de faible poids moléculaire (entre 20 et 30 kDa) sont exprimées ubiquitairement et de façon importante dans les neurones (Nakayama et al., 2000). Elles sont capables de lier des nucléotides comme la Guanosine DiPhosphate (GDP) et la Guanosine TriPhosphate (GTP), et possèdent une activité GTPasique leur permettant de jouer le rôle d'interrupteur moléculaire par l'existence de deux états conformationnels, Figure 25 : une forme inactive liée au GDP et une forme active liée au GTP (Ridley, 2001). Elles sont, elles-mêmes, activées en réponse à divers stimuli extracellulaires à travers diverses interactions avec leurs effecteurs (Aspenstrom, 1999) : les Guanine nucleotide Exchange Factor (GEF) qui facilitent la libération du GDP et son remplacement par du GTP (Rossman, 2005) et les GTPases Activating Protein (GAP), qui facilitent l'hydrolyse du GTP en GDP, entraînant un retour à la forme inactive. Enfin, ces Rho GTPases peuvent à leur tour interagir avec diverses protéines kinases (e.g. ROCK (Rho associated kinase), PIP 5k (Phosphatidylinositol 5 phosphate kinase), LIMK (LIM kinase)) qui permettront, via des cascades intracellulaires, de moduler notamment les ABPs (e.g. cofiline, Arp2/3, myosine). Le calcium, second messenger primordial des cellules eucaryotes, peut aussi influencer bon nombre de protéines citées précédemment, incluant le large spectre des ABP et divers kinases (e.g. CamKII), afin de moduler l'actine et les épines dendritiques (Nimchinsky et al., 2002 ; rev. Yuste et al., 2000). Tout ce qui touche de près ou de loin au cytosquelette d'actine peut donc potentiellement moduler l'architecture des épines dendritiques et leur plasticité (Hotulainen et Hoogenraad, 2010). Cependant, mon sujet de thèse ne portant pas sur l'étude de ces mécanismes, ils ne seront pas développés (e.g. rev. Ethell et Pasquale, 2005 ; Hotulainen et Hoogenraad, 2010 ; Sala et Segal 2014 ; Lamprecht, 2014 ; Chazeau et Giannone, 2016).



une forme active liée au GTP (Ridley, 2001). Elles sont, elles-mêmes, activées en réponse à divers stimuli extracellulaires à travers diverses interactions avec leurs effecteurs (Aspenstrom, 1999) : les Guanine nucleotide Exchange Factor (GEF) qui facilitent la libération du GDP et son

remplacement par du GTP (Rossman, 2005) et les GTPases Activating Protein (GAP), qui facilitent l'hydrolyse du GTP en GDP, entraînant un retour à la forme inactive. Enfin, ces Rho GTPases peuvent à leur tour interagir avec diverses protéines kinases (e.g. ROCK (Rho associated kinase), PIP 5k (Phosphatidylinositol 5 phosphate kinase), LIMK (LIM kinase)) qui permettront, via des cascades intracellulaires, de moduler notamment les ABPs (e.g. cofiline, Arp2/3, myosine). Le calcium, second messenger primordial des cellules eucaryotes, peut aussi influencer bon nombre de protéines citées précédemment, incluant le large spectre des ABP et divers kinases (e.g. CamKII), afin de moduler l'actine et les épines dendritiques (Nimchinsky et al., 2002 ; rev. Yuste et al., 2000). Tout ce qui touche de près ou de loin au cytosquelette d'actine peut donc potentiellement moduler l'architecture des épines dendritiques et leur plasticité (Hotulainen et Hoogenraad, 2010). Cependant, mon sujet de thèse ne portant pas sur l'étude de ces mécanismes, ils ne seront pas développés (e.g. rev. Ethell et Pasquale, 2005 ; Hotulainen et Hoogenraad, 2010 ; Sala et Segal 2014 ; Lamprecht, 2014 ; Chazeau et Giannone, 2016).

3.3. Densité postsynaptique

La **densité postsynaptique** ou « *PostSynaptic Density* » (PSD), *Figure 26*, est une région **dense aux électrons**, observée en microscopie électronique (ME), particulièrement développée dans les **épines dendritiques**. Située en **face** de l'**élément présynaptique**, cette **spécialisation** de la membrane **postsynaptique** forme un disque dont le diamètre et l'épaisseur avoisine respectivement 400 nm et 50 nm en moyenne. Cependant, sa **taille** est **variable** selon la **morphologie** de l'épine. En effet, son **aire** varie entre $0,05 \mu\text{m}^2$ et $0,30 \mu\text{m}^2$, et elle serait **proportionnelle** au **volume** de la **tête** (Freire et al., 1978 ; Harris et Stevens, 1989 ; Harris et al., 1992), ainsi qu'au **diamètre** du **cou** de l'épine. En revanche, ce corrélat n'est a priori pas fait entre la taille de la PSD et la longueur du cou (Arellano et al., 2007), ce dernier paramètre étant plutôt nécessaire à l'isolation (ou compartimentation) de la tête de l'épine (rev. Adrian et al., 2014). La PSD se constitue d'un ensemble de **protéines d'échafaudage**, de **récepteurs aux neurotransmetteurs** ou encore de **protéines d'ancrage** organisées en un maillage très dense. L'unité de base de la PSD est la **protéine PSD-95**, aussi connue sous le nom de Synapse-Associated Protein 90 (SAP90). C'est la protéine d'échafaudage la **plus abondante** dans les épines dendritiques. Elle fait partie de la famille des **protéines à domaine PDZ**. Ce domaine, situé au niveau C-terminal, permet à ces protéines d'interagir entre elles, mais aussi avec une grande variété d'autres protéines (e.g. récepteurs, ABP). Sa présence en grande quantité et sa capacité à lier de nombreuses protéines font de PSD-95 un **élément central** de la PSD, lui conférant le rôle majeur de lien entre ses constituants, permettant aux épines dendritiques d'être **remodelées** rapidement au cours de la **plasticité synaptique**. Ainsi, PSD-95 serait essentielle aux stades plus tardifs de la LTP, permettant notamment l'**élargissement** et la **stabilisation** des épines dendritiques (Ehrlich et al., 2007).

Au sein de la PSD, on retrouve aussi d'autres molécules comme le **spinosquelette d'actine** et ses **régulateurs** (e.g. Rho GTPases, kinases, phosphatases), des protéines de **reconnaissance** et d'**adhésion cellulaire** (e.g. cadhérines, éphrines), des **récepteurs** aux différents neurotransmetteurs (e.g. NMDA, AMPA et mGluR (metabotropic Glutamate Receptor)), des **canaux voltage-dépendants**, ou encore d'autres protéines d'échafaudage (e.g. Shank, Homer ; Sheng et Hoogenraad, 2007). La PSD peut être modulée par des stimuli

externes et ainsi adapter sa structure et sa composition en protéines dont le renouvellement est assez important (Star et al., 2002 ; Inoue et al., 2003).

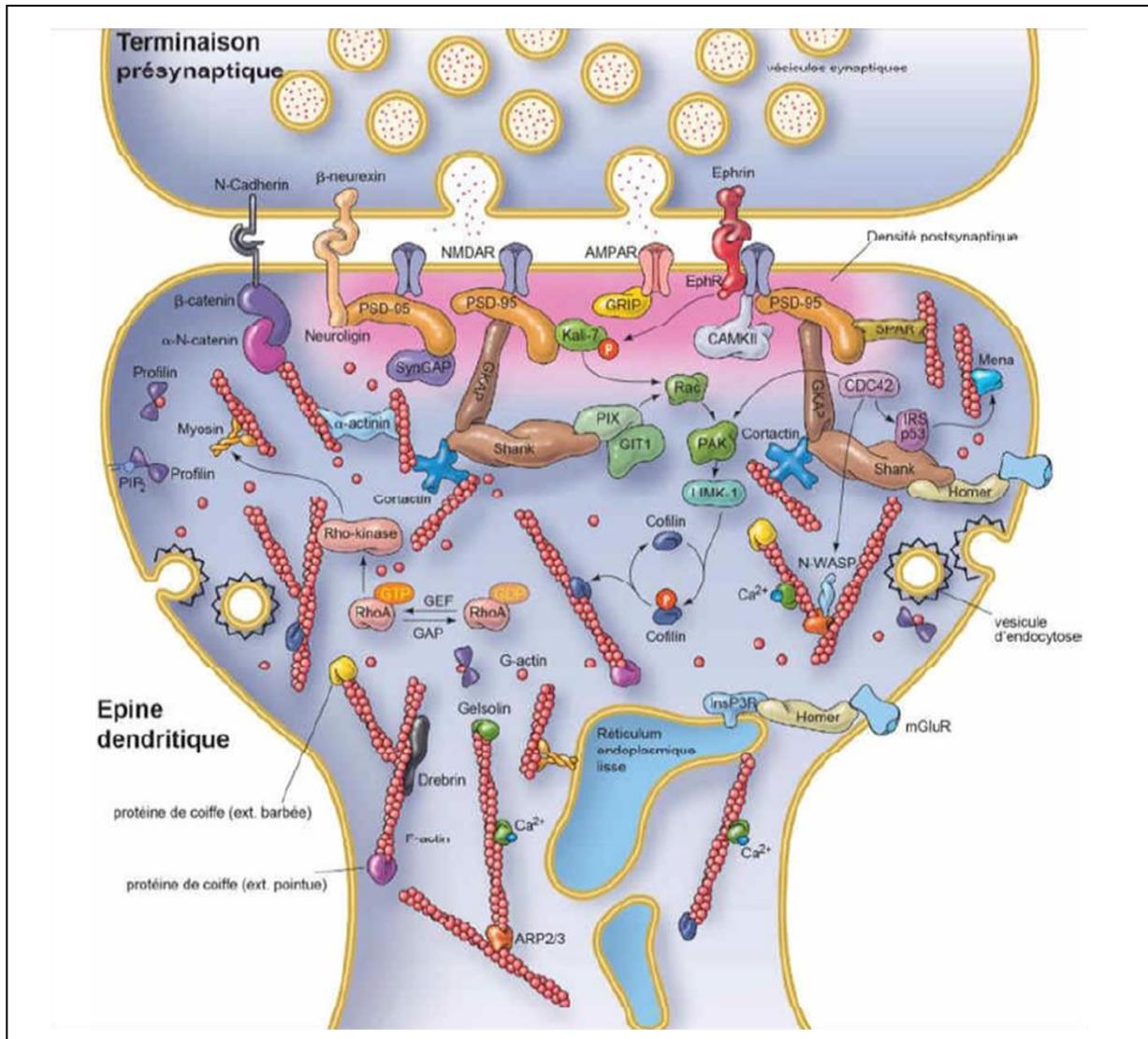


Figure 26 : Schéma représentatif d'une synapse montrant l'ultrastructure de la PSD (en rose) au sein de l'épine dendritique. On retrouve un ensemble de molécules diverses et variées avec les protéines d'échafaudage (PSD95, Shank, Homer, ...), les récepteurs membranaires (NMDAR, AMPAR, mGluR, etc), l'actine et ses régulateurs (e.g. Rho GTPases), ou encore diverses kinases constituant les voies intracellulaires (e.g. CamKII, LIMK1, etc.). Adapté de Calabrese et al., 2006 et réalisée par la Dr Romain Chassefeyre.

Plusieurs études ont mis en évidence ce **lien** entre **activité** et **modifications morphologiques** (e.g. Matsuzaki et al., 2004 ; Ostroff et al., 2002). Par exemple, l'**induction de la LTP** est corrélée à une **augmentation** du nombre de **récepteurs AMPA** à la PSD (Derkach et al., 1999 ; Matsuzaki et al., 2001 ; Park et al., 2004). De plus, la capacité de réponse postsynaptique serait liée au volume de la tête de l'épine. Les travaux de Kasai, utilisant le décaage de glutamate et la microscopie biphotonique, ont permis de montrer que les épines ayant une **tête volumineuse** sont **plus sensibles** au **glutamate** et produisent une **réponse**

postsynaptique **plus intense** (Matsuzaki et al., 2001 ; Kasai et al., 2003). Ainsi, l'actine ne serait donc pas le seul élément essentiel dans l'activité, la forme et la plasticité des épines dendritiques. La **PSD** et son **niveau d'organisation** serait un autre **élément crucial** dans l'état de maturité de ces dernières. En effet, Bourne et Harris proposèrent de classer les épines sur la base de cette ultrastructure (Bourne et Harris, 2007). Les épines de type *thin* possèdent une **PSD plus petite**, un ancrage à la membrane plus important de **récepteurs NMDA** que AMPA, et la synapse **peut être renforcée** par l'apport de nouveaux récepteurs AMPA à la membrane (Matsuzaki et al., 2001 ; Nimchinsky et al., 2004). Ces épines-là, se formant et disparaissant rapidement (quelques jours voir quelques heures) présenteraient une **flexibilité structurale** propice à l'acquisition de nouvelles informations et sont appelées épines apprentissage ou « *learning spine* ». À l'inverse, les épines de type *mushroom* possèdent une **PSD plus large** (Harris et al., 1992), un ancrage à la membrane plus important de **récepteurs AMPA** que NMDA, des **synapses** fonctionnellement plus **fortes** (Matsuzaki et al., 2001 ; Nimchinsky et al., 2004) et un panel plus important d'organites. Ces épines-là, présentant une stabilité propice au maintien de l'information (plusieurs mois), seraient un puits de souvenirs et sont appelées épines mémoire ou « *memory spine* » (Bourne et Harris, 2007). Ainsi, les **épines dendritiques** sont vues comme le **support** de la plasticité structurale et **lieu de stockage** des souvenirs. C'est ce que nous allons plus amplement détailler dans la prochaine et dernière partie de ce chapitre.

4. Épines dendritiques comme support de la plasticité et de nos souvenirs

Le terme de **plasticité synaptique** regroupe l'ensemble des **phénomènes morphologiques** et **moléculaires** qui ont lieu au sein de la **synapse**. Elle représente la capacité de la synapse à modifier ses propriétés de neurotransmission en fonction du stimulus perçu. Ce phénomène permet au système nerveux adulte de se doter d'une **faculté d'adaptation** lui permettant d'acquérir de nouvelles connaissances et savoir-faire, de garder une trace des souvenirs vécus, ainsi que de s'adapter à son environnement. Cette notion introduit un lien entre le cerveau et l'individu définissant son identité profonde.

Une **modification de l'efficacité** des synapses est appelée **plasticité fonctionnelle**. À l'inverse, une **modification de la morphologie** ou du **nombre** de synapses (et d'épines dendritiques) est appelée **plasticité structurale**. Dans cette dernière partie, nous aborderons



de manière succincte la plasticité fonctionnelle qui n'a pas fait l'objet d'études au cours de ce travail de thèse. Puis, nous nous attarderons plus longuement sur la plasticité structurale et son lien avec la mémoire et la consolidation systémique.

4.1. Premiers pas de la plasticité

Dès la fin du XIX^{ème} siècle, les premières hypothèses concernant la plasticité du système nerveux firent leur apparition. Ramon y Cajal postula que l'**apprentissage** de nouvelles informations **requiert** une **croissance neuronale** (dendritique et axonique) supplémentaire au sein de l'encéphale (Cajal, 1893). Dans la continuité de cette hypothèse, Tanzi proposa que des **changements métaboliques**, au sein des connexions préexistantes, **soutiennent** le **stockage** de l'information dans le système nerveux (Tanzi, 1893). Enfin, Stefanowska avança que les **épines dendritiques**, découvertes peu de temps avant, pourraient **modifier** leur **forme** et leur **dimension** au cours de la vie et ainsi **influencer** la **connectivité** neuronale. Il pensait d'ailleurs que la perte de cette dernière, entre les éléments du système nerveux, pourrait expliquer l'état de sommeil (Stefanowska, 1897). L'ensemble de ces propositions est résumée dans une théorie appelée amiboïsme.

Comme nous l'avons vu plus tôt, l'une des premières mises en évidence de ce **phénomène de plasticité** fut apportée par divers travaux sur la **LTP** dont ceux de Bliss et Lómo dans l'HIP de Lapin (Bliss et Lómo, 1973). Ces auteurs ont montré qu'une stimulation téτανique brève (15Hz, 10 sec) de la voie perforante de l'HIP engendrait une forme de plasticité synaptique pouvant se maintenir plusieurs heures après l'induction dans les cellules granulaires du DG. L'**activation** des **récepteurs** glutamatergiques de type **NMDA** jouerait un **rôle essentiel** dans l'établissement de ce phénomène ainsi que l'**apport** à la membrane de **nouveaux récepteurs AMPA** (e.g. Park et al., 2004). Aujourd'hui, la LTP a aussi été identifiée dans diverses régions cérébrales comme l'amygdale, le cervelet ou encore certaines aires corticales.

Les données cliniques de l'époque montrant déjà une implication de l'HIP dans la mémoire (e.g. Scoville et Miller, 1957 ; Milner, 1966), la **LTP** fut suggérée comme **acteur important** dans les **processus d'apprentissage** et de **mémorisation**. Les premiers résultats appuyant ce postulat découlent des études pharmacologiques effectuées par Richard Morris.



Par l'utilisation d'une tâche de mémoire spatiale lors de laquelle les animaux doivent retrouver l'emplacement d'une plateforme cachée (i.e. piscine de Morris), Morris démontra que l'injection intraventriculaire d'acide 2-amino-5-phosphonoaléique (AP5 ; antagoniste des récepteurs NMDA) provoque le blocage de la LTP, ainsi qu'une perte de performance des animaux lors de la tâche de mémoire spatiale hippocampo-dépendante (Morris, 1986). Plus récemment, une étude réalisée chez le Rat démontra que la réalisation d'une tâche d'apprentissage spatial provoquait, au sein de la région CA1 de l'HIP, le même effet qu'une stimulation expérimentale à haute fréquence (Whitlock et al., 2006). Ces études viennent appuyer le **rôle physiologique** de la LTP dans certains **processus de mémorisation**. À l'inverse de la LTP, certaines synapses peuvent exprimer une diminution prolongée de la capacité de neurotransmission : c'est la dépression à long terme (LTD). Ce phénomène ferait appel à des mécanismes similaires, mais pas identiques, à ceux de la LTP. Mon travail n'étant pas focalisé sur la plasticité fonctionnelle, je n'aborderai pas plus en détails ces mécanismes (e.g. rev. Yuste et Bonhoeffer, 2001 ; Mayford et al., 2012 ; Lüscher et Malenka, 2012 ; Nicoll, 2017). De par son rôle essentiel dans l'évolution des fonctions cognitives, la LTP suscite et suscite encore un intérêt certain. Ce qui nous intéresse plus particulièrement, et qui fit couler beaucoup d'encre, est ce lien de cause à effet entre fonction et structure, entre plasticité fonctionnelle et plasticité structurale, dans les processus de mémorisation. Dans les lignes suivantes, nous tenterons de décrire quelques études-clés de l'élucidation de ce lien, et terminerons ce chapitre par l'implication de la plasticité structurale dans la consolidation systémique.

4.2. De la plasticité fonctionnelle à la plasticité structurale

Les **changements de force synaptique** survenant au cours de la LTP (ou LTD) impliqueraient donc des **changements structuraux** de la synapse, incluant la formation et/ou l'élimination d'épines dendritiques, ainsi que la modification de la morphologie de ces dernières. Les premières études tentant d'appuyer cette hypothèse, et succédant à celles de Bliss et Lomo, proviennent de Fikova et collaborateurs. Par un protocole de stimulation similaire à celui utilisé par Bliss et Lomo, ces auteurs ont comparé l'impact de celui-ci sur la morphologie des épines dendritiques des cellules granulaires distales (recevant les afférences de la voie perforante) et des cellules granulaires proximales (ne recevant pas ces afférences). Ainsi, les épines dendritiques des cellules distales présentent une aire supérieure à celle des

cellules proximales chez les animaux contrôles. Cette différence est fortement augmentée chez les animaux stimulés. Cet effet est observable dès 2 min et jusqu'à 60 min après la stimulation (Van Harrefeld et Fifkova, 1975). Ces résultats suggèrent, que tout comme le renforcement synaptique produit par la LTP, l'**augmentation du volume** est immédiatement induit par la **tétanisation**, et ce de manière **durable** (Yuste et Bonhoeffer, 2001). Ces auteurs ont confirmé leur résultats dans d'autres expériences en démontrant aussi que les effets mis en évidence pouvaient se maintenir jusqu'à au moins 23 heures après la stimulation (Fifkova et Van Harrefeld, 1977 ; Fifkova et Anderson, 1981).

Quelques années plus tard, Desmond et Levy apportent des données similaires à celles de Fifkova et collaborateurs. Toujours en étudiant la connexion de la voie perforante sur les cellules du DG, ils mettent en évidence qu'après induction de la LTP, le pourcentage d'épines concaves (i.e épines complexes larges) est augmenté alors que le pourcentage d'épines non concaves (i.e. épines plus fines et simples) est diminué (Desmond et Levy, 1983). Comme les auteurs précédents, ils confirment leurs données par des études ultérieures et démontrent notamment que l'aire de la PSD est augmentée et diminuée, respectivement, dans les épines concaves et non concaves suite à l'induction d'une LTP (Desmond et Levy, 1986b ; Desmond et Levy 1988). Ces études pointent principalement des **modifications morphologiques** des épines dendritiques de type **augmentation du volume** de celles-ci. D'autres études ont constaté des modifications du nombre d'épines dendritiques. En effet, Andersen et collaborateurs ont mis en évidence une forte **augmentation du nombre d'épines dendritiques** dans le DG après l'induction de la LTP (Andersen et al., 1987a ; Trommald et al., 1990 ; Trommald et al., 1996). En revanche, d'autres groupes de recherche ne sont pas parvenus à mettre en évidence ces changements, nuancant l'idée d'une existence de ce lien fonction-structure (e.g. Sorra et Harris, 1998 ; Chang et Greenough 1989). Cependant, ces différences peuvent potentiellement être dues aux conditions expérimentales (Yuste et Bonhoeffer, 2001): différentes régions étudiées (DG vs CA1), différentes espèces utilisées (Souris vs Rat), ou encore différents tissus étudiés (neurones dissociés, coupes de cerveau, ou encore études *in vivo*). De plus, la qualité de préparation des tissus pouvant influencer le nombre d'épines cela pourrait aussi être un biais expérimental supplémentaire entre ces résultats (Kirov et al. 1999 ; Wenzel et al., 1994).

À partir des années 1990, la révolution des techniques d'imagerie permet une avancée importante dans l'étude des épines dendritiques grâce à la microscopie biphotonique (Denk et



al., 1990). Ainsi, le **renforcement synaptique LTP-dépendant** induit dans des coupes d'HIP est associé à la **création de nouvelles épines dendritiques**. Lors du blocage de la neurotransmission, ce phénomène de spinogénèse activité-dépendante est supprimée (Engert et Bonhoeffer, 1999). Ces données sont confirmées dans des cultures organotypiques montrant la formation d'excroissances dendritiques de type filopode pouvant maturer et se stabiliser en nouvelles épines dendritiques (Maletic-Savatic et al., 1999). On retrouve le même phénomène lors d'une induction chimique de la LTP sur des cultures de neurones dissociés (Li et al., 2004 ; Park et al., 2006). Comme déjà observé dans les études précédentes, l'induction de la LTP déclenche aussi un **élargissement de la tête** des épines (e.g. Park et al., 2006 ; Kopec et al., 2006). Ainsi, les épines les plus larges possédant une PSD plus étendue, semblent plus sensibles au glutamate et présentent des flux calciques plus importants, suggérant que l'**élargissement de la tête** de l'épine, et donc sa maturation, serait **essentiel** au **renforcement synaptique LTP-induit**, permettant une réponse postsynaptique plus intense (Harris et Stevens, 1989 ; Matsuzaki et al., 2001 ; Kasai et al., 2003 ; Tanaka et al., 2008).

À l'inverse, l'induction d'une LTD est corrélée avec la **rétractation des épines dendritiques** (Nagerl et al., 2004 ; Okamoto et al., 2004, Zhou et al., 2004). Après stimulation basse fréquence couplée au décaillage de glutamate, l'observation directe des épines dendritiques met en évidence le rétrécissement spécifique des épines précédemment stimulées (Oh et al., 2013 ; Kasai et al., 2010).

Ainsi, à travers l'ensemble de ces études, un élément saillant ressort : la plasticité fonctionnelle et la plasticité structurale sont étroitement liées. Cependant, l'intégralité de ces données provient d'expériences dans lesquelles l'activité est mimée, induite par l'expérimentateur (i.e. LTP induite par stimulation électrique ou chimique). Qu'en est-il au cours d'une expérience personnellement vécue ? Et plus particulièrement lors des processus d'apprentissage et de mémorisation ?

4.3. Plasticité structurale support de la trace mnésique

Les expériences personnellement vécues façonnent le cerveau et donnent l'identité de chacun d'entre nous tant sur le plan sensoriel, qu'émotionnel ou encore cognitif. De multiples études ont donc tenté d'approfondir l'impact de ces expériences sur le cerveau à travers

diverses manipulations sensorielles comme la déprivation visuelle (e.g. [Majewska et al., 2003](#) ; [Tropea et al., 2010](#)), la déprivation sensorielle (e.g. [Zuo et al., 2005b](#) ; [Holtmaat et al., 2006](#)), ou encore la capacité d'imitation des oiseaux chanteurs ([Roberts et al., 2010](#)). Toutes pointent des modulations de la morphologie des épines. Ici, nous allons plutôt nous intéresser aux études ayant cherché à corrélérer l'apprentissage aux modulations morphologiques des épines dendritiques. Puis, nous clôturerons ce chapitre sur les quelques articles qui ont aiguillé la réflexion menant à notre projet.

Plusieurs types d'apprentissages différents sont capables d'induire des changements structuraux. Par exemple, des modifications morphologiques des épines ont été mises en évidence dans l'amygdale latérale au cours d'expériences de conditionnement de peur chez le Rat ([Radley et al., 2006a](#)). Les auteurs ont effectué une immunohistochimie de la spinophiline (marqueur de plasticité présent dans la tête des épines dendritiques) et ont mesuré une augmentation de la densité des épines, suggérant que le **processus d'apprentissage** au cours de l'acquisition d'une association pavlovienne induit un **remodelage spécifique** des épines dendritiques dans cette région au centre des émotions ([Gipson et Olive, 2017](#)).

Chez des souris génétiquement modifiées exprimant l'YFP, la dynamique des épines dendritiques a été étudiée dans deux conditions : soit dans le cortex moteur primaire lors d'un apprentissage moteur (rotarod), soit dans le cortex en tonneaux lors d'une expérience sensorielle (environnement enrichi). Dans les deux conditions, les auteurs ont observé une **formation d'épines dendritiques** induite par l'**expérience**, dont un certain pourcentage est capable de **persister** pendant plusieurs mois ([Yang et al., 2009](#)). Les contrôles utilisés lors de l'étude permettent d'exclure la possibilité d'une spinogénèse résultant d'une activité motrice ou sensorielle non spécifique. Ces données suggèrent à nouveau que l'**apprentissage** débouche sur des **modifications synaptiques durables** qui sous-tendent la persistance des souvenirs ([Gipson et Olive, 2017](#)). Enfin, Xu et collaborateurs ont publié des données semblables venant confirmer l'étude de Yang ([Xu et al., 2009](#)).

Plus récemment, deux très belles analyses utilisant l'imagerie des épines dendritiques *in vivo* ont apporté des informations intéressantes pour la compréhension de ce phénomène complexe. La première utilisait des manipulations expérimentales directes pour étudier le rôle de la dynamique des épines dans les processus d'apprentissage et de mémorisation. Les auteurs ont utilisé une forme photoactivable de la GTPase Rac1 qui, une fois activée, peut



entraîner le rétrécissement des épines dendritiques. Cette dernière est couplée au promoteur du gène *arc* (AS-PaRac1) afin de cibler les synapses récemment activées. Ainsi, lors d'un apprentissage moteur (rotarod), la formation de nouvelles épines ainsi que l'élargissement d'épines préexistantes furent observés dans le cortex moteur primaire des Souris. De plus, la photoactivation de AS-PaRac1, induit le rétrécissement spécifique des épines précédemment potentialisées et perturbe l'apprentissage moteur pendant une période de temps précise. Cette étude suggère, non seulement, que **les épines dendritiques** sont **potentialisées** par **l'apprentissage**, mais qu'à l'inverse, la **perturbation** des **épines** peut **perturber** les capacités d'**apprentissage** (Hayashi-Takagi et al., 2015). Dans une seconde étude, d'autres auteurs ont démontré que, de manière équivalente à un conditionnement de peur au contexte, l'activation optogénétique du cortex entorhinal augmentait la densité des épines dendritiques dans les cellules du DG spécifiques de l'engramme du souvenir contextuel (Ryan et al., 2015). Ces deux résultats sont parmi les premiers à **identifier la plasticité structurale** dans les cellules **spécifiques de l'engramme** montrant le lien fonction-structure. De plus, elles démontrent que la **plasticité structurale** est **requis**e pour que la **mémoire** se forme.

Ainsi, nous venons de voir que la formation d'un souvenir nécessite le remodelage des épines dendritiques. Pour que ce souvenir persiste dans le temps, ce dernier doit être consolidé. Comme nous l'avons vu dans le premier chapitre de cette thèse, la consolidation systémique d'un souvenir (notamment épisodique) nécessite une réorganisation au cours du temps de la trace mnésique au sein d'un réseau hippocampo-cortical. Le remodelage des épines dendritiques nécessaire à la formation du souvenir suit-il alors la réorganisation de la trace selon un déroulement temporel précis? Comment la plasticité structurale constituant la trace mnésique est-elle réorganisée au cours de la consolidation systémique ?

Dans un protocole de conditionnement de peur au contexte chez la Souris, Restivo et collaborateurs ont montré, que lors du rappel d'un souvenir récent (1 jour), il y avait une forte augmentation de la densité des épines dendritiques dans les neurones pyramidaux de la région CA1 de l'HIP par rapport aux contrôles naïfs, ce qui n'est pas le cas dans le CPFm et plus particulièrement dans le CCA. À l'inverse, lors du rappel d'un souvenir ancien (36 jours), il y a une forte augmentation de la densité des épines dendritiques dans les neurones pyramidaux du CCA et un retour au niveau basal dans l'HIP. Ainsi, la persistance d'un souvenir implique une **plasticité structurale séquentielle** entre l'**HIP** (particulièrement CA1) et le **CPFm** (particulièrement le CCA), réorganisation qui **suit la réorganisation spatio-temporelle** de la



trace mnésique (Restivo et al., 2009). La diminution du nombre d'épines dendritiques dans l'HIP corrélée avec l'augmentation de celles-ci dans le CPFm suggère que la trace mnésique migre bien d'une structure à l'autre au cours du temps, étayant la théorie standard de la consolidation. Les délais étudiés étant relativement éloignés, il est possible de se questionner quant au décours temporel des événements. Les épines corticales impliquées dans la formation du souvenir ancien sont-elles formées au fur et à mesure de la consolidation ? Ou sont-elles formées dans une fenêtre de temps précise ?

Pour répondre à cette question, les auteurs du même groupe ont réitéré leur expérience à deux reprises avec plusieurs délais post acquisition (1, 8, 42 et 49 jours d'une part et 1, 5, 7, 14, 21, et 36 jours d'autre part). La formation de nouvelles épines dendritiques dans le CCA fut observée principalement entre les jours 1 et 8 et plus précisément aux alentours du jour 7, avant d'atteindre un plateau (Vetere et al., 2011 ; Aceti et al., 2015). Ainsi, la **spinogénèse** corticale surviendrait au cours d'une **fenêtre de temps précise**. Ces modifications morphologiques permettraient, indépendamment de l'HIP, l'expression de souvenirs initialement hippocampo-dépendants. Pour vérifier que ces modifications du nombre d'épines dendritiques est une nécessité et non une conséquence de la consolidation de la mémoire, ces auteurs ont décidé de perturber la croissance des épines dendritiques dans le CCA afin d'en observer l'impact sur le comportement. Pour cela, ils ont utilisé une instillation intracérébrale d'un vecteur viral permettant l'expression d'un inhibiteur de la spinogénèse MEF2 (Myocyte Enhancer Factor 2) directement dans le CCA. Après avoir effectué un conditionnement de peur au contexte chez la Souris, ils ont injecté MEF2 soit 1 jour après l'acquisition (lorsque les nouvelles épines dendritiques ne sont pas encore formées), soit 42 jours après l'acquisition (lorsque les nouvelles épines dendritiques sont déjà formées). Ainsi, lorsque MEF2 est injecté de manière précoce, on observe une diminution du nombre d'épines dendritiques ainsi qu'une perturbation de la mémoire récente (8 jours) et ancienne (49 jours). À l'inverse lorsque MEF2 est injecté tardivement la densité des épines dendritiques reste inchangée et le souvenir persiste (Vetere et al., 2011). L'ensemble des données que nous venons d'évoquer place les **épines dendritiques** au cœur des processus d'apprentissage et de mémorisation. Elles seraient à la fois une **conséquence de nos expériences**, mais aussi le **support de nos souvenirs** les plus anciens. Les épines dendritiques qui perdurent dans le temps serviraient au stockage physique de nos souvenirs, permettant de suivre de façon indirecte la trace mnésique au sein des circuits neuronaux. C'est l'étude de ces dernières au sein du circuit hippocampo-cortico-thalamique qui a fait l'objet principal de cette thèse.

MATERIELS ET
METHODES

1. Animaux

L'ensemble des animaux utilisés pour ce projet sont des **rats mâles Long-Evans**, *Figure 27*, en provenance du centre d'élevage René Janvier Labs, Le Genest Saint Isle, France. Cette souche de rats **consanguine** est née du croisement d'une femelle Wistar et d'un mâle sauvage gris (*Rattus norvegicus*). Elle a été développée par le docteur Long et le docteur Evans, d'où son nom, lors de la deuxième guerre mondiale en 1915. Le rat Long-Evans est très largement utilisé dans la recherche comportementale, notamment dans des tâches d'apprentissage et de mémoire spatiale, en raison de leur **bonne acuité visuelle** (D'Hoodge et De Deyn, 2001). De plus, en étudiant l'effet de la domestication sur différentes souches, Harker et Whishaw, en 2002, ont démontré que le rat Long-Evans présentait, non seulement, des **capacités cognitives excellentes**, mais aussi **similaires** à celles de la **souche sauvage**. D'autre part, plusieurs études ont pu mettre en évidence de meilleures performances de navigation spatiale chez les rats mâles que chez les rats femelles (Saucier et al., 2008).



Figure 27 : Photographie d'un Rat Long Evans

À leur arrivée au laboratoire, les animaux âgés de **3 mois** et pesant environ **250 g** sont placés dans des cages transparentes **individuelles** en Makrolon (42 x 26 x 15 cm). Tout comme les pièces de test comportemental, les pièces de stabulation présentent une **température** ($23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), un taux d'**humidité** ($50\% \pm 10\%$) et un **cycle** normal lumière/obscurité de 12 heures (période éclairée 7 heures-19 heures) **constants**. L'**ambiance sonore** est entretenue par une radio FM lors de la phase **diurne**. Les rats disposent d'**eau** et de **nourriture ad libitum** (en dehors des expériences) et sont toujours testés lors de la phase diurne. Après une semaine, les rats sont manipulés 1 minute par jour pendant 5 jours, afin de les familiariser à l'expérimentateur ainsi qu'à la manipulation (semaine d'habituation). Cela permet de minimiser notamment le stress lors des expériences de comportement.

L'ensemble des expériences réalisées lors de cette thèse est effectué dans le respect des directives nationales (décret n°2013-118, 7 Février 2013, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, et européennes (directives 2010/63/UE) sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Enfin,



les expériences ont été réalisées dans le cadre de la saisine « Thalamus » approuvée par le comité d'éthique régional CREMEAS (date du 01/10/2014, numéro de saisine 3651).

2. Lésion excitotoxique par chirurgie stéréotaxique

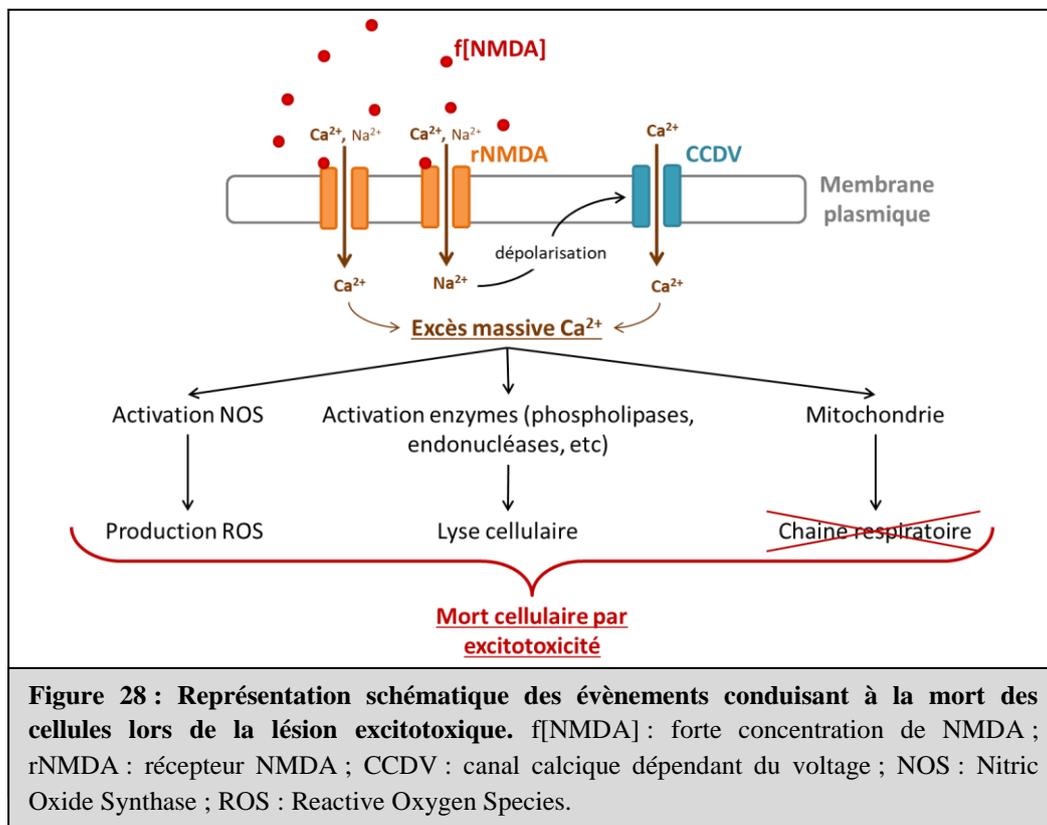
L'intégralité des rats utilisés lors des différentes expériences de cette thèse ont subi une intervention chirurgicale consistant en une lésion excitotoxique des noyaux reuniens (Re) et rhomboïde (Rh) du thalamus. Ces opérations ont toujours eu lieu avant le début des expériences comportementales et après la semaine d'habituation. Les coordonnées stéréotaxiques utilisées au cours de ces opérations ont été calculées à partir de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (2007) et vérifiées au cours d'expériences préliminaires (Lourerio et al., 2012 ; Cholvin et al., 2013 ; Ali et al., 2017).

2.1. Historique

Comme plusieurs autres découvertes, c'est par hasard, en 1957, que la lésion excitotoxique a été mise en évidence pour la première fois. En effet, Lucas et Newhouse ont étudié l'influence de plusieurs substances biochimiques sur l'évolution d'une dystrophie rétinale héréditaire. Ils ont, ainsi, observés qu'un traitement par injection sous cutanée de sodium de L-glutamate entraînait des lésions de la couche interne de la rétine tant chez le souris que chez la souris adulte (Lucas et Newhouse, 1957). Une décennie plus tard, Olney poursuivi cette découverte en démontrant, chez des souris nouveau-nées, que l'injection sous-cutanée de glutamate monosodique provoquait une importante nécrose neuronale et ceux dans diverses régions cérébrales (Olney, 1969). Il mit aussi en évidence que les cellules épendymaires et gliales n'étaient impliquées que transitoirement et de manière réversible alors que les neurones étaient sélectivement et irrémédiablement détruits (Olney, 1971). Ainsi, il fit l'hypothèse que la **destruction neuronale** induite par le **glutamate** dépendait d'un mécanisme semblable à celui mise en jeu au sein des synapses glutamatergiques excitatrices. Le terme de **lésion excitotoxique** se forgea pour qualifier cet **effet délétère**.

2.2. Principe

La **lésion excitotoxique** est effectuée par instillation de **N-méthyl-D-aspartate** (NMDA) dans le parenchyme cérébral au niveau des noyaux ReRh par chirurgie stéréotaxique. C'est un **agoniste spécifique** des récepteurs glutamatergiques de type NMDA. Ces **récepteurs ionotropiques** sont perméables aux cations et principalement aux ions calcium (Ca^{2+}). Une fois injecté dans le tissu nerveux, le NMDA va permettre de mimer l'action du glutamate qui est le principal neurotransmetteur exciteur du système nerveux central. À l'inverse de ce dernier, le NMDA ne pourra pas se fixer sur les récepteurs AMPA ou kaïnate et entraînera une ouverture spécifique des récepteurs NMDA. À forte dose, *Figure 28*, cet agoniste va provoquer une **entrée massive d'ions Ca^{2+}** de manière directe (par le récepteur lui-même) ou indirecte (par des canaux calcium voltage-dépendants) dans la cellule (*Syntichaki et Tavernarakis, 2003*). L'augmentation de la concentration calcique dans la cellule est un **signal de mort** conduisant à l'activation de cascades intracellulaires spécifiques. Les enzymes impliquées dans ces voies de signalisation (telles que protéases, endonucléases, phospholipases) vont entraîner la **dégradation des neurones** présents dans la zone d'instillation, d'où le nom de **lésion excitotoxique**.



Le terme **stéréotaxie** provient du grec « *stereo* » qui signifie espace et « *taxein* » qui signifie organiser. La **chirurgie stéréotaxique** est une **technique** utilisée en **neurochirurgie** pour atteindre les différentes structures cérébrales, même les zones profondes, de manière **précise**. Elle permet de définir l'emplacement de ces structures grâce à des **coordonnées dans les 3 dimensions** (coordonnées stéréotaxiques référencées dans un atlas, e.g. [Paxinos et Watson, 2007](#)) et de les atteindre pour effectuer une manipulation (biopsie, instillation, mise en place d'une électrode à demeure, etc.)

2.3. Dispositif

L'**appareil stéréotaxique**, *Figure 29*, est équipé d'un **cadre en U** sur lequel est fixé l'ensemble des éléments. Il dispose d'une **barre d'incisives** qui permet de maintenir le museau de l'animal. Celle-ci est réglable en hauteur afin de placer le crâne à plat entre les deux points de repères chirurgicaux (Bregma et Lambda). Il possède aussi des **barres d'oreilles** permettant d'immobiliser la tête du rongeur. Ces dernières sont réglables latéralement afin de centrer la tête par rapport au cadre.

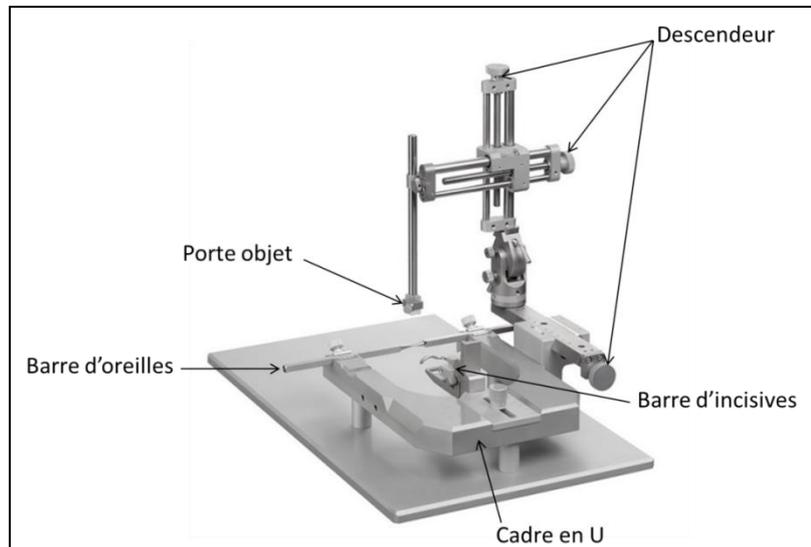


Figure 29 : Photographie de l'appareil stéréotaxique utilisé lors des chirurgies

De plus, sur le côté se trouve un **descendeur** se déplaçant dans les 3 dimensions, à l'aide de **vis micrométriques**. Chaque vis peut faire coulisser le **bras mobile** gradué correspondant, réglant chacun un **axe d'orientation** (antéro-postérieur, médio-latéral, ou dorso-ventral). Les graduations permettent de se repérer dans l'espace, et ainsi, de se placer au niveau des **coordonnées stéréotaxiques** des différents points d'instillation. Enfin, le **porte objet** est fixé au descendeur afin d'y placer la **canule d'injection**.

2.4. Protocole

Les rats sont **anesthésiés** à l'aide de pentobarbital sodique à une concentration de 27,35 mg/mL (0,26 mL pour 100 g, pentobarbital® sodique, Ceva Santé animale) par injection intrapéritonéale. Cet anesthésique a pour avantage de produire une durée de sédation d'environ 2 heures. Après endormissement (environ 10 minutes), la qualité de l'anesthésie est observée par l'absence totale de réaction de l'animal (pincement de la queue et/ou des pattes), hormis la présence d'une respiration régulière et constante. Les rats sont ensuite **rasés** au niveau de la tête et **installés** dans le cadre stéréotaxique de manière à ce que leur tête soit totalement **immobilisée**. Ils reçoivent un **antibiotique** à large spectre qui est l'amoxicilline (0,3 mL soit 45 mg par rat, Duphamox® LA, Zeotis) en injection intramusculaire, ainsi qu'une injection sous cutanée de **lidocaïne** (0,1 mL soit 2,1 mg par rat, Xylovet®, Ceva santé animal) au niveau du scalp afin d'induire une anesthésie locale à l'endroit du futur champ opératoire. Le corps, ainsi que la queue des rats, sont **enveloppés** dans une couverture chauffante pour maintenir leur température corporelle. Enfin, leurs yeux sont recouverts de gel ophtalmique (Lubrithal®) afin d'éviter le dessèchement de la cornée au cours de l'opération. La peau rasée est **nettoyée** et **désinfectée** (alcool à 70°) et le scalp est **incisé** de manière longitudinale. Puis, les tissus sont **écartés** permettant l'accès à la boîte crânienne. Cette dernière est alors nettoyée et asséchée pour visualiser au mieux les sutures osseuses et les points de repères stéréotaxiques (Bregma et Lambda), *Figure 30A*, afin d'ajuster la position de la tête de l'animal (horizontalement et verticalement) si nécessaire. La boîte crânienne est ensuite **perforée** à l'aide d'une fraise dentaire au niveau des futurs points d'instillation (fenêtre de 2 mm² environ). La canule d'instillation (0,28 mm de diamètre) est, ensuite, descendue délicatement dans le parenchyme cérébral avec un angle de 15°, *Figure 30B*, selon les coordonnées stéréotaxiques suivantes, *Figure 30C*, (Paxinos et Watson, 2007) :

- Première injection AP = - 1,5 mm ; ML = ± 1,8 mm et DV = - 7,0 mm,
- Deuxième injection AP = - 2,1 mm ; ML = ± 1,8 mm et DV = - 7,1 mm,
- Troisième injection AP = - 2,7 mm ; ML = ± 1,9 mm et DV = - 7,2 mm.

L'**angle de 15°** permet d'**éviter** la traversée du **sinus veineux sagittal** et donc l'hémorragie qui en résulterait. La **lésion** des noyaux ReRh est effectuée par instillation de **NMDA** (0,1 µL par site soit 1,77 mg par site, Sigma, St Louis, USA) dissout dans du PBS (0,1 M). L'instillation s'effectue à l'aide d'une micropompe d'injection motorisée (CMA/100,

Microinjection Pump, Schmidlin) reliée à la canule par un cathéter sur une durée de 2 minutes (0,05 μ L par min). La canule est laissée *in situ* pour une période de 5 minutes afin de permettre une bonne diffusion de la substance instillée et limiter les remontées de produit lors du retrait. L'instillation de **PBS** permet de mimer l'instillation à volume égal de NMDA sans entraîner de lésion excitotoxique, on a ainsi une **chirurgie contrôle** (Sham). Une fois la canule retirée en douceur, le scalpe est nettoyé, recousu et les rats reçoivent une injection sous cutanée d'anti-inflammatoire (0,3 mL par rat

soit 0,15 mg par rat, Metacam®, Boehringer Ingelheim). Enfin, ils sont replacés dans leur cage d'élevage sous une lampe chauffante, puis ramenés dans la pièce de stabulation pour une période de récupération de 14 jours (Loureiro et al, 2012).

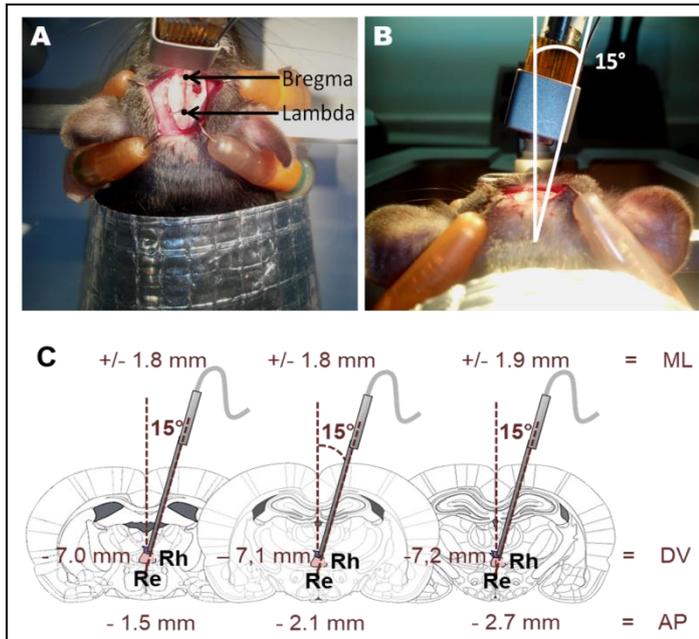


Figure 30 : Chirurgie stéréotaxique : lésion excitotoxique des noyaux ReRh du thalamus. Photographies d'une chirurgie (réalisées au laboratoire) avec mise en évidence des repères stéréotaxiques Bregma et Lambda (A) et de l'angle utilisé (B). Représentation schématique des 3 points d'instillation et de leurs coordonnées selon l'atlas de Paxinos et Watson 2007 (C). Adapté de la thèse de Thibault Cholvin.

3. Evaluation de la mémoire spatiale : Piscine de Morris

Lors des phases de tests, les performances des animaux peuvent être influencées par divers critères, comme le niveau d'éveil ou l'état de vigilance au cours de la journée. Pour limiter leur impact, les tests comportementaux sont toujours effectués lors de la phase diurne sur un créneau horaire le plus réduit possible, en général entre 9 heures et 13 heures. De plus, l'ordre de passage des animaux est modifié chaque jour de manière à randomiser l'heure de passage et, ainsi, lisser d'éventuelles variations des performances liées au cycle nyctéméral.

3.1. Principe

La **piscine de Morris** ou « *Morris Water Maze* » (MWM) a été inventée par Richard Morris en 1981 et se base sur le **comportement naturel** des rats à fuir l'eau fraîche (Morris, 1984). En effet, l'**eau fraîche** ($21\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) est un milieu **aversif** pour l'animal qui va chercher une **échappatoire**. C'est un **test de mémoire spatiale** conçu pour évaluer la capacité des rats à se construire une **représentation mentale** de leur environnement (i.e. carte cognitive : Tolman, 1948 ; O'Keefe et Nadel, 1978). L'objectif des rats est donc d'**apprendre l'emplacement fixe de cette échappatoire** qui se présente sous forme d'une **plateforme** (toujours identique). Comme le bassin lui-même ne comporte pas de repères, l'animal calcule la trajectoire à prendre pour rejoindre la plate-forme en utilisant les **indices visuels spatiaux distaux** présents dans la pièce. Ces informations visuelles sont dites **allocentriques**. Ce terme fait référence au fait que la source des informations spatiales est purement externe (objets environnants), par opposition aux informations égocentriques. Par la répétition des séances d'acquisition, ce test permet d'évaluer la **mémoire de référence**, c'est-à-dire la mémoire de l'emplacement de cette plateforme au sein de l'environnement. Cette mémoire comprend également les règles et procédures à mettre en œuvre dans une situation donnée pour y répondre de manière adaptée. Dans notre cas, un apprentissage se traduira par une **diminution progressive du temps** ou de la **distance** d'accès à la plate-forme avec la répétition des essais et des jours de test.

3.2. Dispositif

La **piscine de Morris** est un dispositif **circulaire** en PVC blanc d'un diamètre de 160 cm et d'une hauteur de 60 cm, virtuellement découpée en **quatre quadrants égaux**, *Figure 31A*. Cette dernière est remplie à mi-hauteur (soit près de 660 litres) d'**eau opacifiée** à l'aide de lait en poudre (600g environ). La couleur de l'eau ainsi obtenue (blanc et opaque) tout comme la transparence de la **plateforme** permet de la rendre totalement **invisible** aux yeux de l'animal qui évolue en surface. La température de l'eau est placée à $21\text{°C} \pm 1\text{°C}$, ce qui confère à ce milieu un caractère **aversif** suffisant pour motiver l'animal à réaliser la tâche consistant à retrouver et monter sur la plateforme. Cette dernière, qui est un cylindre en plastique transparent de 11 cm de diamètre, est positionnée à environ 2 cm sous la surface de l'eau. La salle, *Figure 31B*, dans laquelle se déroule ce test comprend de **nombreux indices**

distaux stables disposés autour de la piscine (peintures fortement contrastées sur les murs, les équipements électriques, le bureau, l'évier etc.) de manière à faciliter la mise en place d'une mémoire spatiale allocentrique permettant à l'animal de se repérer et de localiser la plateforme. Une caméra est placée au-dessus de la piscine de Morris et est reliée à un ordinateur qui permet de mesurer et d'enregistrer plusieurs paramètres à l'aide du logiciel Smart (SD instruments, États-Unis).

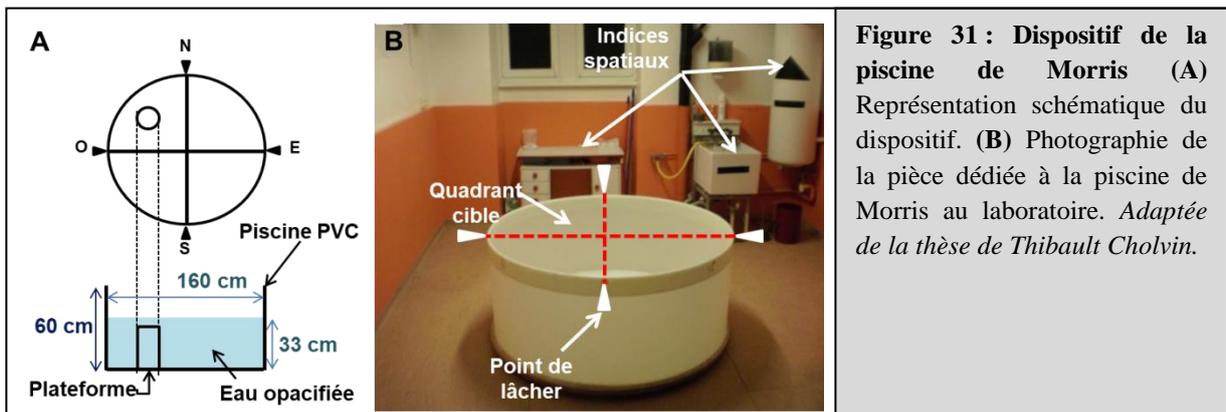


Figure 31 : Dispositif de la piscine de Morris (A) Représentation schématique du dispositif. (B) Photographie de la pièce dédiée à la piscine de Morris au laboratoire. *Adaptée de la thèse de Thibault Cholvin.*

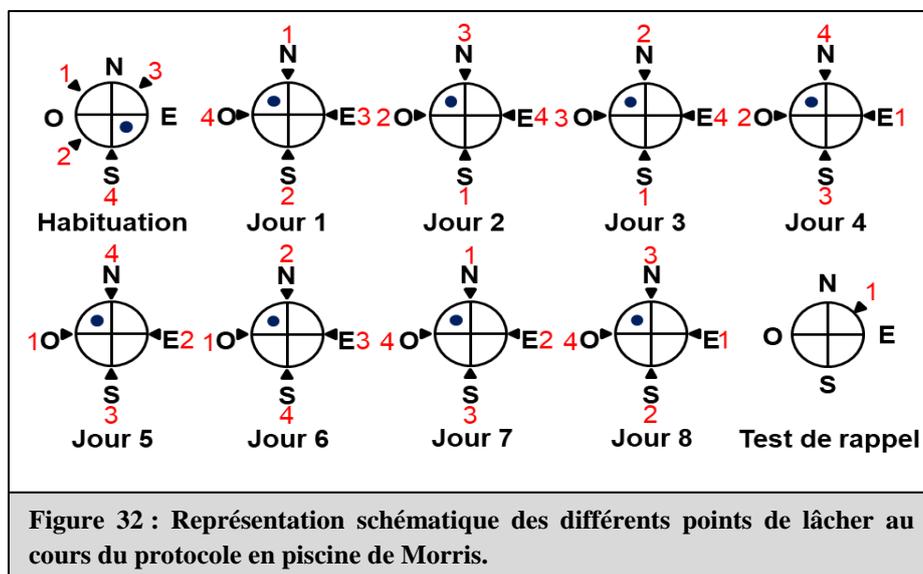
3.3. Protocole

Le protocole utilisé a été identique pour toutes les expériences. Ce test comporte trois phases principales qui sont l'**habituat**ion (ou familiarisation), l'**acquisition** (ou apprentissage) et enfin un test de **rappel** (ou rétention) qui sont toutes trois effectuées dans la même pièce avec le même dispositif (e.g. Lopez et al., 2012 ; Loureiro et al., 2012 ; Cholvin et al., 2013).

L'**habituat**ion s'effectue sur une **seule journée** avec quatre essais consécutifs par rat. Le rat est placé dans l'enceinte en présence d'une **plateforme visible** située à 1 cm environ au-dessus de la surface de l'eau et placée au centre du quadrant **Sud-Est** (SE). Cette journée d'habituat

Lors de l'**acquisition**, les rats sont entraînés pendant **8 jours** à raison de 4 essais consécutifs par jour. Ils sont placés dans l'enceinte en présence d'une **plateforme cachée** (2

cm au-dessous de la surface de l'eau) située au centre du quadrant **Nord-Ouest** (NO). Les **points de lâcher varient** au cours des essais et des jours, *Figure 32*, et les animaux sont toujours lâchés **face à la paroi** du dispositif. L'essai est interrompu lorsque l'animal a rejoint la plateforme ou lorsqu'un délai de 60 secondes est écoulé. Dans ce cas, l'expérimentateur guide l'animal jusqu'à la plateforme, de manière à ce qu'il l'atteigne en nageant. Une fois sur la plateforme, le rat y est laissé 10 secondes avant d'être récupéré et de débiter l'essai suivant. La **distance parcourue**, la **latence** pour rejoindre la plateforme, la **vitesse** de déplacement ainsi que le temps passé à proximité des parois du dispositif (**thigmotaxie**, un indice d'anxiété chez les rongeurs) étaient enregistrés lors de cette phase d'acquisition afin d'évaluer les performances des animaux.



Enfin le test de **rétenion** permet d'évaluer la mémoire de l'emplacement de la plateforme. Dans notre étude, nous mesurons le rappel à **5 jours** pour la mémoire récente et à **25 jours** pour la mémoire ancienne sur deux groupes de rats distincts (Lopez et al., 2012 ; Loureiro et al., 2012). Ce test s'effectue par un **passage unique** dans le dispositif où la **plateforme est retirée**, le reste du dispositif et de la pièce étant en tout point identique à la phase d'acquisition. L'essai dure 60 secondes et le rat est introduit dans le dispositif à un **point de lâcher spécifique** qui diffère de ceux utilisés auparavant, toujours face à la paroi. Le temps passé dans chaque quadrant virtuel est alors enregistré. Ainsi, l'animal passant **significativement plus de temps que le hasard** (i.e. 15 secondes) dans le **quadrant cible** est un animal qui se souvient de l'emplacement de la plateforme, on parle alors de préférence de place (D'Hooge et De Deyn, 2001). A contrario, un animal se déplaçant de manière totalement aléatoire dans le dispositif et passant environ 15 secondes dans chacun des quadrants (sans exprimer de préférence de place) traduira un animal incapable de rappeler

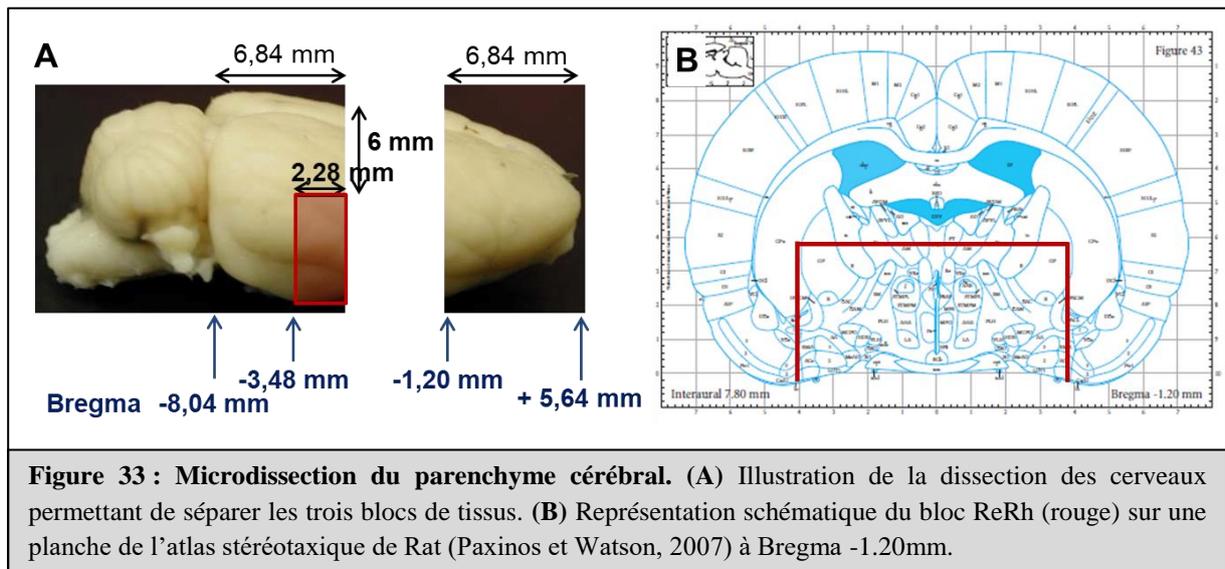
l'emplacement de la plateforme. Le second paramètre enregistré est le nombre de croisements de la zone cible, à savoir un disque virtuel d'un diamètre de 31 cm (10 cm autour d'une plateforme de 11 cm, soit 750 cm² et 3,75% de la surface totale de la piscine de Morris) centré sur la plateforme et appelé **annulus**. Le nombre de passage de l'animal dans cette zone au cours du test de rétention est utilisé comme **indice de la précision de la mémoire** (Lopez et al., 2012).

4. Histologie

Une analyse histologique du tissu cérébral a été systématiquement effectuée. Ces analyses visaient à i) estimer avec précision la localisation et l'étendue d'une lésion des noyaux ReRh à l'aide du marquage immunohistochimique de la protéine NeuN, et ii) évaluer l'impact de la lésion sur la plasticité structurale corticale et hippocampique en condition basale et en condition mémoire aux délais de 5 et 25 jours.

4.1. Mise à mort

Les animaux sont **mis à mort immédiatement** après le test de rappel en piscine de Morris à 5 ou 25 jours. Ils sont, tout d'abord, **anesthésiés** profondément à l'aide d'une injection intrapéritonéale létale de pentobarbital sodique (200 mg par kg, pentobarbital sodique®, Ceva santé animal), puis **guillotiné**s et le cerveau est extrait de la boîte crânienne. Le cerveau est ensuite **disséqué**, *Figure 33*, pour obtenir un **bloc de tissu** contenant les **noyaux ReRh** et deux **autres blocs** comprenant le **cortex préfrontal** d'une part, et la **partie postérieure** du parenchyme d'autre part, sur lesquels est effectuée la coloration de Golgi.



4.2. Evaluation de la lésion par immunohistochimie NeuN

4.2.1. Principe

NeuN est l'abréviation de *Neuronal Nuclei*. C'est une **protéine nucléaire** spécifique des **neurones** décrite pour la première fois en 1992 par Mullen et ses collaborateurs. Dans nos études, l'immunohistochimie permet la **détection spécifique** de cette protéine neuronale. Elle est détectée par un **anticorps anti-NeuN**, et joue donc le rôle d'antigène dans cette réaction antigène-anticorps. Elle est ensuite révélée par le système **avidine-biotine-peroxydase**, l'anticorps permettant la révélation et couplé à la biotine. Cette dernière possède une très haute affinité pour l'avidine, notamment. L'avidine est elle-même couplée à la peroxydase. Cette enzyme est capable d'oxyder différents types de substrat dont la 3,3'-diaminobenzidine (DAB). Cette réaction permet la **formation d'un précipité brun observable** au microscope optique. Ainsi, il est possible de mettre en évidence la **présence ou non des neurones**. En effet, le principe des lésions excitotoxiques étant de détruire de manière définitive les neurones, l'immunohistochimie de la protéine NeuN permet de mettre en évidence une absence du marquage neuronal de la protéine dans la zone lésée. Pour nos expériences, le marquage immunohistochimique de cette protéine a été réalisé afin d'évaluer l'étendue, la position et la qualité des lésions des noyaux ReRh à la suite de l'instillation de NMDA.

4.2.2. Protocole

Après **extraction**, les blocs de tissus ReRh sont placés dans du **paraformaldéhyde** (4 %) dissout dans du tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) à 4 °C pendant 2 heures pour **fixer** les tissus cérébraux. Puis, ils sont transférés dans une solution de **D-saccharose** (20 %) à 4 °C pendant 24 heures afin de les **cryoprotéger**. Enfin, ces blocs de tissus sont **congelés** dans de l'**isopentane** à - 40 °C et **conservés** au congélateur à - 80 °C. Des **coupes coronales de 40µm** sont effectuées à l'aide d'un **cryostat** (Microm HM560, Thermo Scientific) puis **récupérées** en série dans des **boîtes** de 24 puits remplis d'un cryoprotectant et conservées à - 20 °C. Après trois **rincages** de 10 minutes au PBS, les coupes sont mises en présence de **sérum d'âne** (tampon PBS à 5 % de sérum d'âne) pendant 1 heure à température ambiante. Cette étape permet de **bloquer** les sites aspécifiques grâce aux nombreuses protéines présentes dans le sérum. Les coupes sont ensuite mises en présence de l'**anticorps primaire** de souris anti-NeuN (1/2000ème, MAB 377, Millipore, France) pendant une nuit à température ambiante et sous agitation. Une fois **rincées** au PBS, les coupes sont mises en présence de l'**anticorps secondaire** de cheval anti-souris biotinylé (1/500ème, BA2001, Vector Laboratories, USA) pendant 1 heure à température ambiante. Les coupes sont à nouveau rincées au PBS et incubées avec le **complexe avidine-biotine-peroxydase** (Kit « Elite » ABC Vectastain, PK 6100, Vector Laboratories, USA) pendant 45 minutes à température ambiante à l'obscurité. Après deux **rincages** au PBS et un au tampon TRIS, les coupes sont **incubées** avec une solution de **DAB** (Kit DAB, SK 4100, Vector Laboratories, USA) pendant 2 minutes à température ambiante. Enfin, les coupes sont **rincées** trois fois 10 minutes au PBS puis montées sur lames gélatinées avant d'être mises à **sécher** à l'étuve (37°C) pour 24 heures. Le lendemain, les lames sont rincées dans de l'eau ultra pure, puis **déshydratées** dans des bains successifs d'alcool de concentration croissante (70%, 95%, 100%), et enfin placées dans le solvant Clearify (ClearifyUS, Houston, USA) avant d'être **incluses** entre lame et lamelle dans un milieu d'inclusion (Diamount).

4.2.3. Quantification des lésions des noyaux ReRh

Après **immunohistochimie NeuN**, les coupes sont observées au **microscope optique** et photographiées à **faible grossissement** (x2.5). Les photographies sont prises de manière à centrer l'image sur la lésion. Elles sont, ensuite, **superposées** aux planches neuroanatomiques correspondantes aux coordonnées Bregma de la coupe. Ainsi il est possible de **redessiner**

directement sur ordinateur l'étendue de la lésion région par région dans le logiciel Image J. Ce dernier va calculer la **surface de la zone dessinée** (pixel) et ainsi permettre d'**évaluer le pourcentage de lésion** relatif aux noyaux Re, Rh, mais également relatif à tous les noyaux adjacents. Ce pourcentage de lésion est calculé en effectuant le ratio de l'aire lésée sur l'aire totale. Une **lésion** est considérée comme **acceptable** lorsque l'atteinte des noyaux Re et Rh est respectivement supérieure à **50%** et **25%** et que celle des régions limitrophes est faible. Une atteinte trop importante des structures adjacentes ou trop faible des noyaux ReRh compromet la spécificité de la lésion. Ainsi, on peut éliminer sur la base de critères objectifs les animaux dont la lésion est soit insuffisante, soit trop importante et/ou mal localisée (Loureiro et al, 2012).

4.3. Evaluation de la plasticité structurale par imprégnation de Golgi

4.3.1. Principe

L'**imprégnation de Golgi** est une **méthode histologique** permettant l'**étude des tissus nerveux**. Elle colore **aléatoirement un faible pourcentage de cellules** (1 à 5 %) et ce de manière encore inexpliquée. C'est une des techniques les plus utilisées pour étudier la morphologie des cellules nerveuses. Elle se base sur la **réaction** entre le **bichromate de potassium** et le **nitrate d'argent** formant des **microcristaux de chromate d'argent**. Ces derniers se déposent sur la membrane des cellules qui apparaissent en noir sur un fond clair, d'où son nom initial de **réaction noire**. Ainsi, elle permet de marquer le **soma** des cellules mais aussi leurs **dendrites** dans leur intégralité (i.e. jusqu'aux **épines dendritiques**) et donc d'étudier le nombre et la morphologie des épines dendritiques. Le kit utilisé est le kit FD Rapid GolgiStain™ de FD Neurotechnologies qui est basé sur la **méthode de Golgi-Cox**.

4.3.2. Historique

Cette méthode de coloration a été découverte par **Camillo Golgi** en 1873. Ramon y Cajal l'améliora, dès 1888, afin de l'utiliser pour l'étude de multiples tissus (différentes régions cérébrales, différentes espèces, etc.). Il y consacra, d'ailleurs, près d'un demi-siècle de sa vie. L'engouement pour cette coloration fût grandissant et de multiples articles furent

publiés sur l'**utilisation** et l'**amélioration** de cette coloration (e.g. Cox, 1891 ; Glaser et Van der Loos, 1981 ; Gabbott et Somogyi 1994 ; Gibb et Kolb, 1998).

Les 3 évolutions les plus connues et toujours utilisées aujourd'hui sont (**Kang et al., 2017**) :

- la méthode de **Golgi-Cox**,
- la méthode de **Golgi-Rapide**,
- la méthode **Golgi-Kopsch**.

La **méthode de Golgi-Cox** a été décrite pour la première fois en 1891 par WH Cox. Elle utilise l'imprégnation à base de bichromate de potassium et de chromate de potassium. Cependant, contrairement aux autres techniques, elle utilise aussi le chlorure de mercure à place du nitrate d'argent. Elle comprend 3 étapes principales qui sont l'imprégnation des tissus, la protection de ces derniers, ainsi que leur coloration. Elle est considérée comme l'une des techniques les plus efficaces et fiables pour étudier les modifications de la morphologie des neurones. En effet, elle a pour avantage d'assurer une bonne coloration de l'ensemble de l'arborisation dendritique (i.e. jusqu'aux épines dendritiques) avec très peu de bruit de fond. C'est cette méthode qui a été utilisée au cours de cette thèse.

La **méthode de Golgi-Rapide** a été décrite en 1933 par Cajal et De Castro. Cette méthode comporte des étapes supplémentaires de pré- et post-fixation. Ces étapes nécessitent l'utilisation de tétr oxyde d'osmium permettant de diminuer le temps nécessaire à l'imprégnation. Elle permet une coloration homogène des cellules nerveuses mais présente une reproductibilité imprévisible.

La **méthode de Golgi-Kopsch** est aussi appelée l'aldéhyde Golgi ou le Golgi-Colonnier. En effet, cette technique a été mise au point par Kopsch et Colonnier en utilisant du formaldéhyde ou glutaraldéhyde à la place du tétr oxyde d'osmium. Elle présente l'avantage d'être une des méthodes les plus efficaces pour colorer des tissus déjà fixés et notamment sur des tissus fixés depuis plusieurs années. Cependant, cette méthode permet de colorer moins de neurones et souvent de manière plus faible. Le Triton x100 est parfois utilisé pour tenter de pallier à ce problème.

4.3.3. Protocole

Les **cerveaux frais** sont **rincés** à l'eau bi-distillée pour éliminer le sang, puis **immergés** dans la **solution d'imprégnation** pendant **3 semaines** à température ambiante et à l'obscurité à raison de 5 mL de solution par cerveau. La solution d'imprégnation est un mélange à volume égal de la solution A (bichromate de potassium et chlorure de mercure) et B (chromate de potassium) et est renouvelée à 24 heures. Les cerveaux sont, ensuite, **transférés** dans la **solution C** pendant 48 heures à 4 °C et à l'obscurité. La solution C est remplacée à 24 heures. Puis, des **coupes de 100 µm** sont effectuées **au vibratome, montées** sur **lames gélatinées** en présence de la solution C, **séchées** à température ambiante. Lorsque les coupes sont sèches, elles sont **rincées** à l'eau bi-distillée 2 fois 2 minutes, puis, **colorées** dans un bain de **solution de coloration** pendant 10 minutes sous agitation. Cette dernière est un mélange des solutions D, E et d'eau bi-distillée. Les lames sont **rincées** à l'eau bi-distillée 2 fois 4 minutes puis **déshydratées** par passages successifs dans l'éthanol 50 %, 75 %, 95 % puis 100 %, **nettoyées** au xylène et **montées** avec de l'Eukitt.

4.3.4. Quantification des épines dendritiques

Les **structures d'intérêt** sont le **CPFm** avec ses 3 sous régions (le cortex cingulaire antérieur (**CCA**), le cortex prélimbique (**PL**) et le cortex infralimbique (**IL**)) et l'**HIPd** avec ses 3 sous régions (la Corne d'Ammon 1 (**CA1**), la Corne d'Ammon 3 (**CA3**) ainsi que le gyrus denté (**DG**)). La localisation de ces dernières a été observée à l'aide d'un atlas stéréotaxique (Paxinos et Watson, 2007). Les neurones d'intérêt sont des neurones pyramidaux des **couches II/III** pour le CPFm, les **neurones pyramidaux** de la **stratum pyramidale** pour CA1 et CA3, et enfin, les **cellules granulaires** du DG. L'ensemble des neurones sont choisis à l'objectif x2,5 selon 3 critères (Restivo et al., 2006, 2009):

- les **dendrites** doivent être **continues** depuis le corps cellulaire et sans troncature,
- la **coloration** doit être **homogène** le long de l'ensemble des dendrites,
- le **neurone** doit être **isolé** le mieux possible des autres neurones afin d'éviter des interférences possibles lors du comptage.

Si les dendrites naissent à la base du corps cellulaire des cellules pyramidales, elles sont considérées comme des dendrites basales. L'axone, qui se situe également du côté basal, peut aussi constituer un repère. Les dendrites possèdent un tronc généralement court puis se

divisent pour donner l'arborisation dendritique. Plusieurs troncs dendritiques naissent au pôle basal tandis qu'un seul émerge au pôle apical. Les cellules granulaires, elles, ne possèdent que des dendrites apicales.

Pour chaque animal, **6 neurones** ont été choisis au niveau des différentes régions d'intérêt. À l'aide du logiciel Mercator (Explora Nova, La Rochelle, France), une **zone d'exclusion** est définie à une distance de **30µm** du côté basal et à une distance de **50µm** du côté apical. Cela permet d'éliminer une région du neurone pauvre en épines dendritiques. Ensuite, **6 segments de 20µm** de longueur sont placés au niveau des dendrites apicales (n = 3) et basales (n = 3) à une distance maximale du corps cellulaire de 200µm, *Figure 34* (Restivo et al., 2006, 2009).

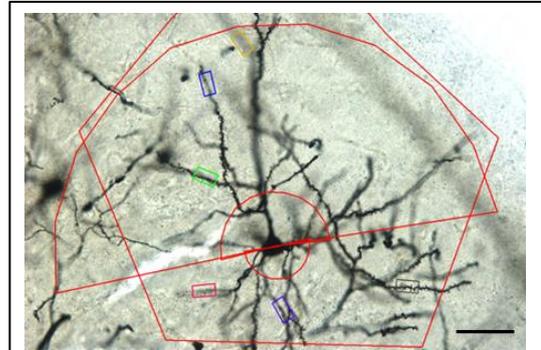


Figure 34 : Maquette de comptage effectuée à l'aide du logiciel Mercator. Permet de délimiter la zone d'exclusion (petits demi-cercles rouge au niveau du corps cellulaire) ainsi que la zone (grand demi-cercle rouge) et les segments de comptage ; échelle : 50µm.

Comme nous l'avons déjà explicité précédemment, il est possible d'observer des épines capables de persister dans le temps (plusieurs mois) et d'autres qui apparaissent et disparaissent en quelques jours. Ils catégorisent ainsi les épines dendritiques en **épines matures stables** dans le temps (*mushroom, branched*) qui sont le **lieu de stockage de la trace mnésique** et qu'ils nomment les **épines de mémoire** et en **épines immatures labiles** (*thin, stubby*) qui permettent l'**acquisition de nouvelles informations** et qu'ils nomment les **épines d'apprentissage** (Bourne et Harris, 2007). De plus, les **filopodes** sont souvent considérés comme les **précurseurs des épines dendritiques**, nous avons décidé de ne pas les comptabiliser dans les épines totales. Ainsi, pour ce projet nous avons comptés deux catégories d'épines dendritiques (*mushroom vs thin/stubby*) à l'objectif à immersion x100 (Restivo et al., 2009 ; Lesburguères et al., 2011). Nous avons, ensuite, fait la somme de ces deux types d'épines pour obtenir le nombre d'épines totales.



Figure 35 : Station d'imagerie Explora Nova utilisée au LNCA.

La **station d'imagerie Explora Nova**, *Figure 35*, est composée d'un **microscope optique** (Leica DM550B) à lumière transmise ou à fluorescence possédant cinq objectifs (x2,5 ; x10 ; x20 ; x40 ; x100), d'une **caméra numérique à haute résolution** (Optronics Microfire), et d'une **platine motorisée** dans les 3 plans (X-Y-Z). Un **ordinateur** est relié à cet ensemble par une carte contrôleur OASIS permettant de piloter le microscope directement depuis le logiciel. Cette station utilise le **programme Mercator** (Explora Nova, La Rochelle, France) qui permet la quantification en temps réel de marqueurs biologiques sur des coupes de tissu tels que les épines dendritiques.

CONTRIBUTIONS
EXPERIMENTALES

Partie 1 :

Lésion ReRh et épines dendritiques

PARTIE 1 : LESION RERH ET EPINES DENDRITIQUES

L'objectif de cette **expérience 1** était d'observer l'impact de la lésion ReRh sur la **plasticité structurale** corticale et hippocampique nécessaire à la persistance d'un souvenir spatial. Pour cela, nous avons effectué, chez le Rat, une **chirurgie stéréotaxique** permettant d'effectuer soit une lésion excitotoxique des noyaux ReRh (ReR), soit une chirurgie contrôle (Sham). Après une période de repos post-chirurgical, une partie des rats a été entraînée puis testée en **piscine de Morris** (groupe mémoire ou « *Learning* » (Learn)), tandis qu'une autre est restée dans sa cage d'élevage sans être exposée à une tâche comportementale (groupe basal ou « *Home Cage* » (HC)). Les animaux du groupe mémoire ont effectué un test de rétention soit **5 jours** (souvenir récent), soit **25 jours** (souvenir ancien) après la fin de l'entraînement. À l'issue de ce dernier, ils sont mis à mort. Les animaux du groupe basal, eux, sont mis à mort à un délai équivalent, c'est-à-dire à un délai post-chirurgical de 4 semaines (délai récent correspondant au délai de 5 jours des rats du groupe mémoire), ou de 7 semaines (délai ancien correspondant au délai de 25 jours des rats du groupe mémoire). Les cerveaux sont extraits, rincés, immergés frais dans la solution d'imprégnation de Golgi avant d'être coupés au vibratome (100µm). Ces coupes sont récupérées sur lame gélatinée afin d'affectuer une coloration de Golgi. Enfin, le comptage des **épines dendritiques** s'effectue dans les sous régions de l'HIPd (CA1, CA3 et DG) et du CPFm (CCA, PL et IL).

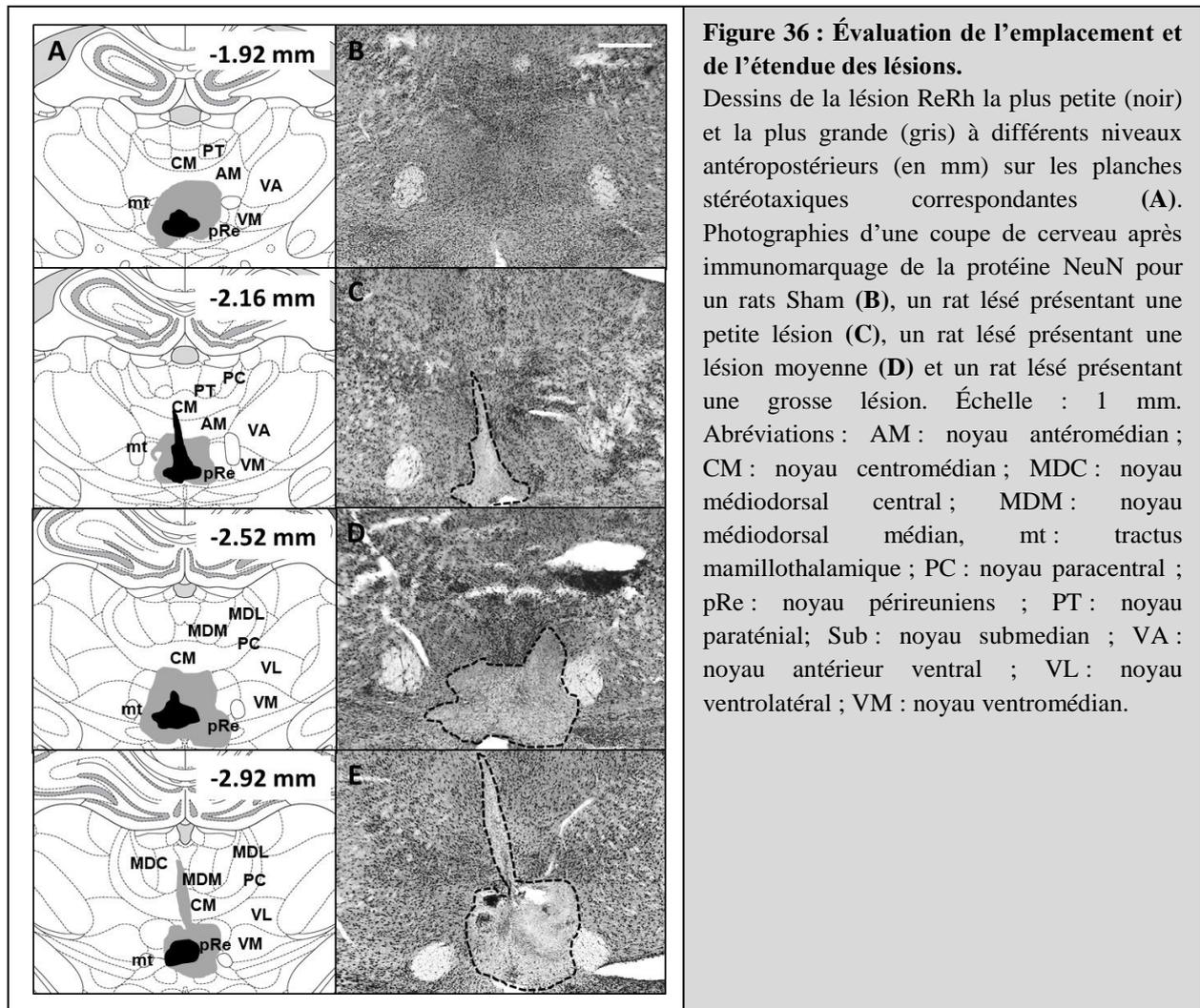
1. Localisation et étendue des lésions

La **localisation** et l'**étendue** des lésions sont illustrées dans la *Figure 36*. Pour l'ensemble des animaux lésés, l'analyse histologique montre que ceux-ci présentent une lésion touchant en moyenne 74% du Re, 49% du Rh, 32% du pRe et 5% des autres noyaux thalamiques.

L'étude s'est effectuée sur 4 groupes:

- un groupe **basal récent** (5 jours) de 16 rats [$n_{\text{Lésion}} = 7$, $n_{\text{Sham}} = 9$],
- un groupe **basal ancien** (25 jours) de 18 rats [$n_{\text{Lésion}} = 9$, $n_{\text{Sham}} = 9$],
- un groupe **mémoire récente** (5 jours) de 20 rats [$n_{\text{Lésion}} = 10$, $n_{\text{Sham}} = 10$],
- un groupe **mémoire ancienne** (25 jours) de 19 rats [$n_{\text{Lésion}} = 9$, $n_{\text{Sham}} = 10$],

De façon générale, la zone lésée atteint également une partie des noyaux adjacents, tels que les noyaux thalamiques submédians, centromédian ou encore antéromédians. Nous ne pouvons donc pas exclure une éventuelle influence de la lésion de ces noyaux sur nos résultats. On peut toutefois souligner que ceux-ci vont dans le même sens que ceux de deux études antérieures (e.g. Loureiro et al., 2012 ; Cholvin et al 2013 ; Ali et al., 2017).



2. Tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris

2.1. Habituation

Les données de la phase d'habituation sont présentées dans la *Figure 37A*. Lors de cette dernière, la **distance parcourue** pour atteindre la plateforme visible diminue progressivement au cours des quatre essais ($F_{3,105} = 85,63$; $p < 0,0001$).

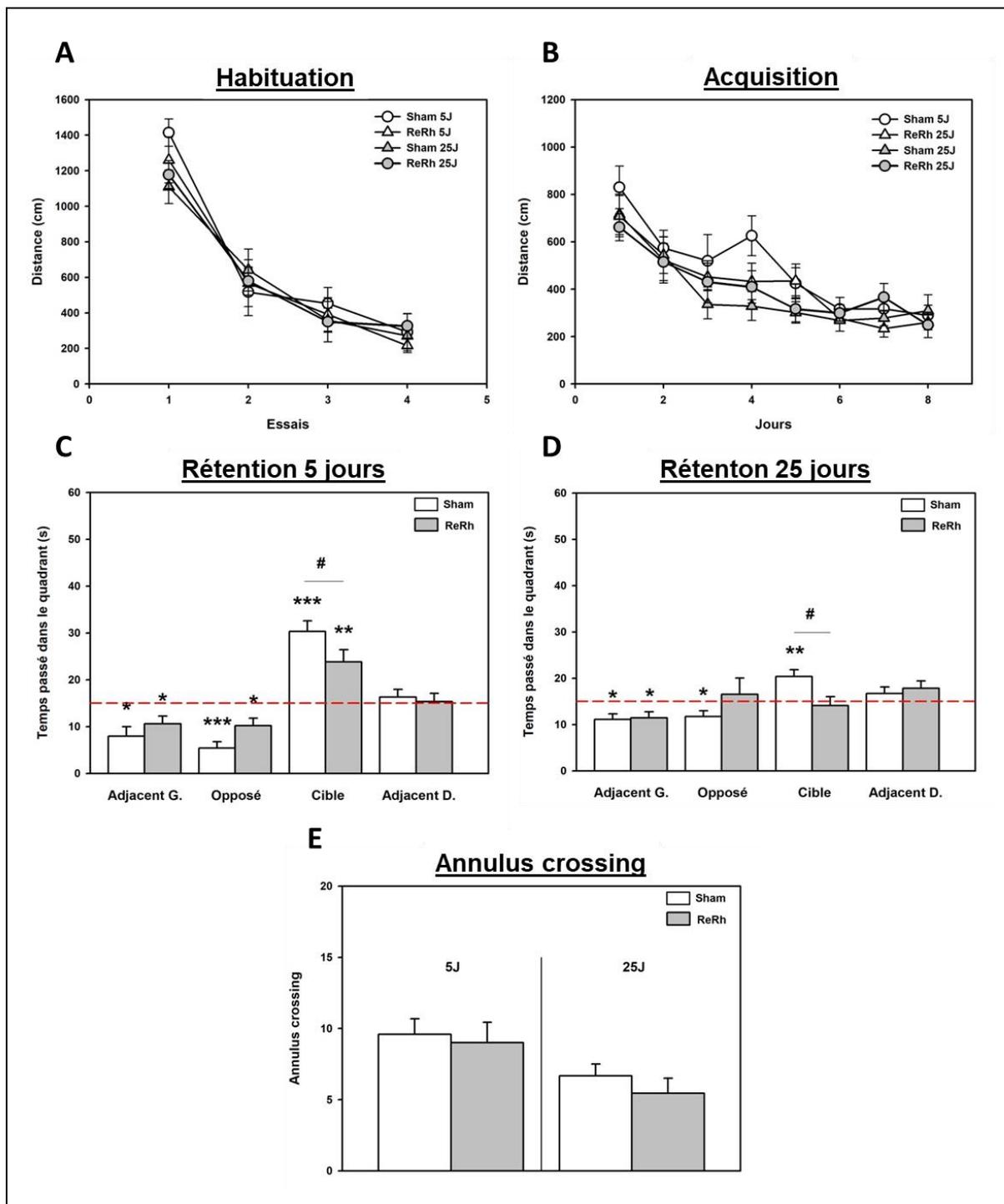


Figure 37 : Performances moyennes des animaux durant la phase d'acquisition et de rétention du test de mémoire spatiale en piscine de Morris pour l'expérience 1. Courbe d'habituation (A) et d'acquisition (B) représentées par la distance moyenne parcourue pour atteindre la plateforme cachée (en cm) pour les rats Sham (blanc) et ReRh (gris) quel que soit le délai de rétention testé (5 et 25 jours). L'allure des courbes montre une réduction de cette distance avec le temps indiquant, respectivement, l'habituation au dispositif et l'apprentissage de la localisation de la plateforme. Test de rétention représenté par le temps passé dans le quadrant cible (en secondes) à 5 jours (C) ou 25 jours (D) pour les rats Sham (blanc) et les rats ReRh (gris). La ligne horizontale hachurée rouge représente le hasard soit 15 secondes. (E) Nombre de passage à travers l'aire entourant la localisation de la plateforme (*annulus crossing*) pour les rats Sham (blanc) et les rats ReRh (gris). * différence significative par rapport au hasard ($p < 0,05$) ; # différence significative par rapport au groupe Sham à 25 jours ($p < 0,05$).

Il n'y a aucun effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,186$, NS), ni du facteur Délai (5J, 25J) ($F_{1,35} = 0,460$, NS), ni de l'interaction Lésion x Délai ($F_{1,35} = 0,458$, NS) sur cette distance. Aucune des autres interactions Essai x Délai, Essai x Lésion, ou encore Essai x Délai x Lésion n'est significative ($F_{3,105} < 1,659$, NS). De même, la **thigmotaxie** n'est affectée ni par la Lésion ($F_{1,35} = 1,373$, NS), ni par le Délai ($F_{1,35} = 0,017$, NS), ni par l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 0,757$, NS). Enfin, pour la **vitesse de nage**, on observe un effet du Délai ($F_{1,35} = 73,436$; $p < 0,0001$), mais pas de la Lésion ($F_{1,35} = 0,061$, NS), ni de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 1,130$, NS). L'analyse *post-hoc* montre que la vitesse des rats Lésion 5 jours est significativement supérieure à celle des rats Lésion 25 jours ($p < 0,0005$) et Sham 25 jours ($p < 0,0005$). Cette différence reste inexplicée.

En résumé, la lésion ReRh ne semble pas impacter les capacités sensorimotrices ou visuelles des animaux.

2.2. Acquisition

Les données de la phase d'acquisition sont présentées dans la *Figure 37B*. Lors de cette dernière, on observe que la **distance parcourue** pour atteindre la plateforme cachée diminue progressivement au cours du temps. En effet, l'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,245} = 25,335$, $p < 0,0001$), mais ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,543$, NS), du Délai ($F_{1,35} = 2,768$, NS) ou encore de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 1,888$, NS). Aucune des autres interactions (Jour x Délai, Jour x Lésion, et Jour x Lésion x Délai) n'est significative ($F_{7,245} < 1,4$, NS). Pour la **latence d'accès à la plateforme**, on observe des résultats similaires à ceux relevés pour la distance parcourue. En effet, l'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,245} = 18,713$, $p < 0,0001$), mais ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,153$, NS), du Délai ($F_{1,35} = 0,111$, NS), ou encore de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 2,705$, NS). Aucune des autres interactions n'est significative ($F_{7,245} < 1,15$, NS).

Ainsi, avec la progression de l'entraînement, on observe un apprentissage de la localisation de la plateforme qui se traduit par l'amélioration des performances des animaux. Celle-ci est reflétée par une diminution de la distance parcourue (en centimètres) ainsi que de la latence (en secondes) pour atteindre la plateforme, et ceci de manière comparable dans tous les groupes (Lésion 5 et 25 jours ; Sham 5 et 25 jours).

Concernant la **thigmotaxie**, l'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,245} = 35,545$; $p < 0,0001$), mais ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,651$, NS), du Délai ($F_{1,35} = 0,106$, NS), ou encore de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 1,207$, NS). Aucune des autres interactions n'est significative ($F_{7,245} < 0,6$, NS).

Ainsi, au fur et à mesure des jours, on observe une habitude des animaux au dispositif expérimental. Celle-ci est traduite par la diminution du temps passé le long des parois de la piscine, et ceci de façon comparable dans tous les groupes (Lésion 5 et 25 jours ; Sham 5 et 25 jours).

Enfin pour la **vitesse de nage**, l'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,245} = 5,303$; $p < 0,0001$), et un effet du Délai ($F_{1,35} = 13,486$; $p < 0,001$), mais aucun effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,649$, NS), ni de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 0,134$, NS). Aucune des autres interactions n'est significative ($F_{7,245} < 1,15$, NS).

En résumé, la lésion des noyaux ReRh n'affecte pas l'acquisition de l'emplacement de la plateforme en piscine de Morris.

2.3. Test de rétention

Les données des tests de rétention à 5 et 25 jours sont présentées dans les *Figures 37C* à *37E*. Pour le **temps passé dans le quadrant cible** (Cible = NO), l'ANOVA à 2 facteurs montre un effet de la Lésion ($F_{1,35} = 9,002$; $p < 0,005$) et un effet du Délai ($F_{1,35} = 21,451$; $p < 0,0001$), mais pas d'effet de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 0,003$, NS). L'analyse *post-hoc* met en évidence que les rats passent significativement moins de temps dans le quadrant cible au délai de 25 jours par rapport à celui de 5 jours, et ceci pour les Sham comme pour les lésés ($p < 0,01$). De plus, le temps passé dans le quadrant cible est significativement inférieur chez les rats Lésion par rapport aux rats Sham, et ce pour les deux délais (5 et 25 jours : $p < 0,05$). Enfin, lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 37C*, l'analyse utilisant le test *t* de Student montre que le temps passé dans le quadrant NO (en secondes) est significativement supérieur au hasard (i.e. 15s), et ce, pour les deux groupes (Sham : $p < 0,0001$ et Lésion : $p < 0,01$). Ce biais, pour le quadrant de la piscine où se situait la plateforme lors de la phase d'acquisition, traduit la capacité de l'ensemble des rats à se rappeler l'emplacement de la plateforme. Lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 37D*, le

temps passé dans le quadrant cible (en secondes) est significativement supérieur au hasard (i.e. 15s) chez les rats Sham ($p < 0,01$), mais pas chez les rats lésés. Cette absence de biais, pour le quadrant de la piscine où se situait la plateforme lors de la phase d'acquisition traduit l'incapacité des rats Lésion à se rappeler l'emplacement de la plateforme.

Par rapport au **temps passé dans le quadrant à droite du quadrant cible** (Adj. D = NE), l'ANOVA à 2 facteurs ne montre pas d'effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,003$, NS), ni du Délai ($F_{1,35} = 0,822$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 0,440$, NS). Enfin, que ce soit lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 37C*, ou lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 37D*, le temps passé dans le quadrant NE n'est pas différent du hasard, et ceci quel que soit le groupe (Sham 5 jours : $p = 0,439$; ReRh 5 jours : $p = 0,847$; Sham 25 jours : $p = 0,258$; ReRh 25 jours : $p = 0,105$).

En ce qui concerne le **temps passé dans le quadrant à gauche du quadrant cible** (Adj. G = SO), l'ANOVA à 2 facteurs ne montre pas d'effet de la Lésion ($F_{1,35} = 0,877$, NS), ni du Délai ($F_{1,35} = 1,582$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 0,560$, NS). Enfin, que ce soit lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 37C*, ou lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 37D*, le temps passé dans le quadrant SO est significativement inférieur au hasard, et ceci quel que soit le groupe (Sham 5 jours : $p < 0,01$; ReRh 5 jours : $p < 0,05$; Sham 25 jours : $p < 0,05$; ReRh 25 jours : $p < 0,05$).

Pour le **temps passé dans le quadrant opposé au quadrant cible** (Opp. = SE), l'ANOVA à 2 facteurs montre un effet de la Lésion ($F_{1,35} = 5,650$; $p < 0,05$) et du Délai ($F_{1,35} = 9,987$; $p < 0,005$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 0,0001$, NS). Enfin, que ce soit lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 37C*, ou lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 37D*, le temps passé dans le quadrant SE est significativement inférieur au hasard pour l'ensemble des groupes (Sham 5 jours : $p < 0,0001$; ReRh 5 jours : $p < 0,05$; Sham 25 jours : $p < 0,05$), sauf pour les rats Lésion 25 jours ($p = 0,663$).

Quant au **nombre d'entrées dans l'annulus**, *Figure 37E*, qui représente un indice de précision de la mémoire, l'ANOVA à 2 facteurs montre un effet Délai ($F_{1,35} = 8,692$, $p < 0,01$), mais pas de la Lésion ($F_{1,35} = 0,461$, NS) ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 0,024$, NS). L'analyse *post-hoc* met en évidence une tendance à la baisse du nombre

de passages dans l'annulus entre les délais de 5 et 25 jours dans le groupe Lésion ($0,05 < p < 0,10$).

Finissons avec la **vitesse de nage** ainsi que la **thigmotaxie** : l'ANOVA à 2 facteurs ne montre pas d'effet du Délai (Vitesse : $F_{1,35} = 0,023$, NS ; Thigmotaxie : $F_{1,35} = 0,092$, NS) ni de la Lésion (Vitesse : $F_{1,35} = 0,479$, NS ; Thigmotaxie : $F_{1,35} = 0,709$, NS). Seul le paramètre vitesse de nage met en évidence un effet de l'interaction Délai x Lésion (Vitesse : $F_{1,35} = 6,666$; $p < 0,05$; Thigmotaxie : $F_{1,35} = 0,144$, NS). Cependant, l'analyse *post-hoc* ne met aucun effet en évidence.

En résumé, la lésion ReRh n'empêche pas le rappel d'un souvenir récent (5 jours), mais elle prévient celui d'un souvenir ancien (25 jours).

3. Plasticité structurale dans le cortex préfrontal médian

Comme nous l'avons précisé au début de cette partie, nous avons effectué le comptage des épines dendritiques dans les sous-régions du CPFm et de l'HIP. Pour cela, nous avons effectué le comptage de manière indépendante sur les dendrites apicales et basales. De plus, nous avons classé les épines dendritiques en 2 catégories : d'un côté, les épines considérées comme immatures qui regroupent les épines de type *thin et stubby*, et d'un autre, les épines considérées comme matures qui regroupent les épines de type *mushroom* ramifiées ou non (Bourne et Harris, 2007). La somme des deux représente les épines totales. Pour la présentation des résultats nous décrivons donc chacune des catégories décrites ci-dessus.

3.1. Cortex cingulaire antérieur (CCA)

3.1.1. Dendrites apicales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 6,404$; $p < 0,05$) et du Délai ($F_{1,40} = 12,409$; $p < 0,005$), mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 0,414$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,40} < 3,30$, NS).



Anterior Cingulate Cortex

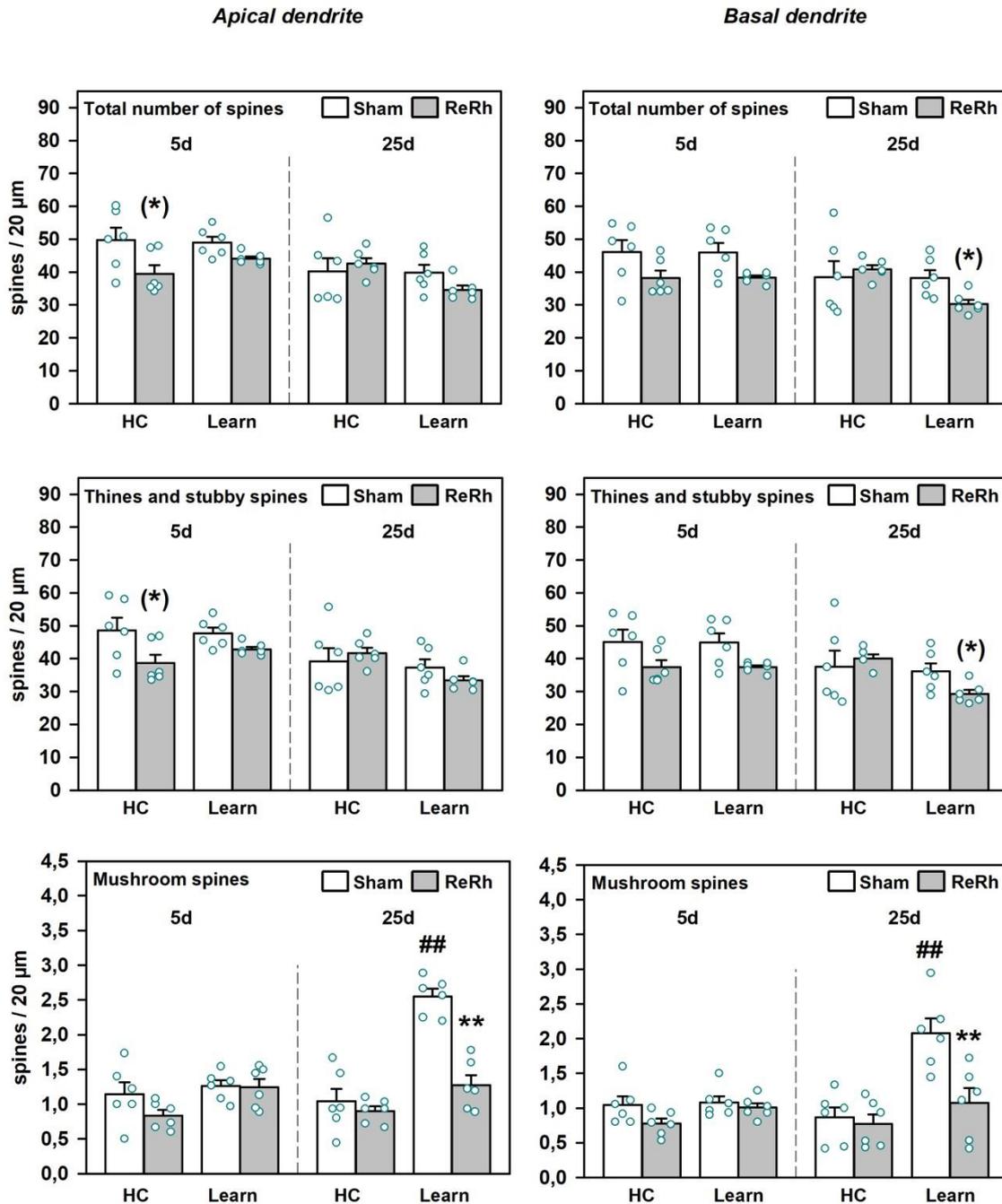


Figure 38 : Plasticité structurale dans le cortex cingulaire antérieure (CCA). Représentation de la densité numérique des épines dendritiques par segment de 20 μ m pour les dendrites apicales (gauche) et basales (droite) soit pour les épines dendritiques totales (en haut), soit pour les épines dendritiques de type *thin* et *stubby* (milieu), soit pour les épines dendritiques de types *mushroom* (en bas) pour les rats non lésés Sham (blanc) et les rats lésés ReRh (gris). Les cercles bleus représentent les valeurs moyennes individuelles. ** p<0.005, *** p<0.0005 (différence significative par rapport au groupe sham = effet de la lésion) ; # p<0.05, ## p<0.005, ### p<0.0005 (différence par rapport au groupe en condition basale = effet de l'apprentissage).

Globalement, l'apprentissage n'impacte pas le nombre d'épines, la lésion le diminue, et ce nombre est plus faible au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines tend à diminuer chez les rats Lésion non entraînés par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($0,05 < p < 0,10$). De plus, le nombre d'épines tend à diminuer chez les rats Sham au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours, qu'ils aient été entraînés ou non ($0,05 < p < 0,10$).

L'ANOVA du nombre d'épines de type *thin et stubby* montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 5,140$; $p < 0,05$) et du Délai ($F_{1,40} = 13,480$; $p < 0,001$), mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 0,949$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,40} < 3,54$, NS). Globalement, l'apprentissage n'impacte pas le nombre d'épines, la lésion le diminue, et ce nombre est plus faible au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines tend à diminuer chez les rats Lésion non entraînés par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($0,05 < p < 0,10$). De plus, le nombre d'épines tend à diminuer chez les rats Sham au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours, qu'ils aient été entraînés ou non ($0,05 < p < 0,10$).

Pour les épines de type *mushrooms*, l'ANOVA à 3 facteurs montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 45,129$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 23,643$; $p < 0,0001$), et du Délai ($F_{1,40} = 12,618$; $p < 0,001$). L'ensemble des interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 5,597$; $p < 0,05$), Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 14,324$; $p < 0,001$), Lésion x Délai ($F_{1,40} = 9,402$; $p < 0,005$) et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} = 15,931$; $p < 0,0005$) est significatif. Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et ce nombre est plus élevé au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement à 25 jours ($p < 0,0005$). Ainsi, chez ces animaux, le nombre d'épines est significativement plus élevé au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, cette augmentation au délai de 25 jours n'apparaît pas ($p < 0,0005$) ; le nombre d'épines est au niveau basal.

En résumé, au cours de cette expérience, nous avons observé plusieurs effets au niveau des dendrites apicales dans le CCA, Figure 38.

En condition basale, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) tend à diminuer le nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais n'affecte pas celles de la catégorie mushroom. Cette tendance, n'apparaissant que pour le délai de 5 jours, est retrouvée au niveau du nombre total d'épines dendritiques. En condition mémoire, l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom, mais pas de type thin et stubby, ceci à 25 jours seulement. Cette augmentation n'est pas retrouvée au niveau du nombre total d'épines dendritiques. La lésion ReRh (Sham vs Lésion) abolit cette augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom.

3.1.2. Dendrites basales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 7,364$; $p < 0,01$) et du Délai ($F_{1,40} = 7,212$; $p < 0,05$), mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 1,897$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,40} < 1,96$, NS). Globalement, l'apprentissage n'impacte pas le nombre d'épines, la lésion le diminue, et ce nombre est plus faible au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines tend à diminuer chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 25 jours ($0,05 < p < 0,10$).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type thin et stubby** montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 6,504$; $p < 0,05$) et du Délai ($F_{1,40} = 7,977$; $p < 0,01$), mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 2,634$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,40} < 2,48$, NS). Globalement, l'apprentissage n'impacte pas le nombre d'épines, la lésion le diminue, et ce nombre est plus faible au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines tend à diminuer chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 25 jours ($0,05 < p < 0,10$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche le nombre d'épines tend à diminuer par rapport à leur contrôles, mais seulement à 25 jours ($0,05 < p < 0,10$).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type mushroom** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 19,640$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 12,794$; $p < 0,001$) et du Délai ($F_{1,40} = 4,731$; $p < 0,05$). Les interactions Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 9,717$; $p <$

0,005) et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} = 7,485$; $p < 0,01$) sont significatives, au contraire des interactions Apprentissage x Lésion et Lésion x Délai ($F_{1,40} < 3,46$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et ce nombre est plus élevé au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement à 25 jours ($p < 0,0005$). Ainsi, chez ces animaux, le nombre d'épines est significativement plus élevé au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, cette augmentation au délai de 25 jours n'apparaît pas ($p < 0,0005$) ; le nombre d'épines est au niveau basal.

En résumé, au cours de cette expérience, nous avons observé plusieurs effets au niveau des dendrites basales dans le CCA, Figure 38.

En condition basale, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) n'affecte pas le nombre d'épines dendritiques, quel qu'en soit le type. En condition mémoire, l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne, chez les rats Sham et à 25 jours seulement, une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom, mais sans affecter le nombre d'épines de type thin et stubby. Cette augmentation n'est pas retrouvée au niveau du nombre total d'épines dendritiques. La lésion ReRh (Sham vs Lésion) empêche l'augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom. Cet effet n'apparaît pas au niveau du nombre total d'épines dendritiques. De plus, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) tend à diminuer le nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby en condition mémoire, mais à 25 jours seulement.

3.2. Cortex prélimbique (PL)

3.2.1. Dendrites apicales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 6,416$; $p < 0,05$) et de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 18,022$; $p < 0,0005$), mais pas du Délai ($F_{1,40} = 3,616$, NS). Les interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 13,559$; $p < 0,001$) et Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 4,699$; $p < 0,05$) sont significatives, au contraire des interactions Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 4,00$, NS).

Prelimbic cortex

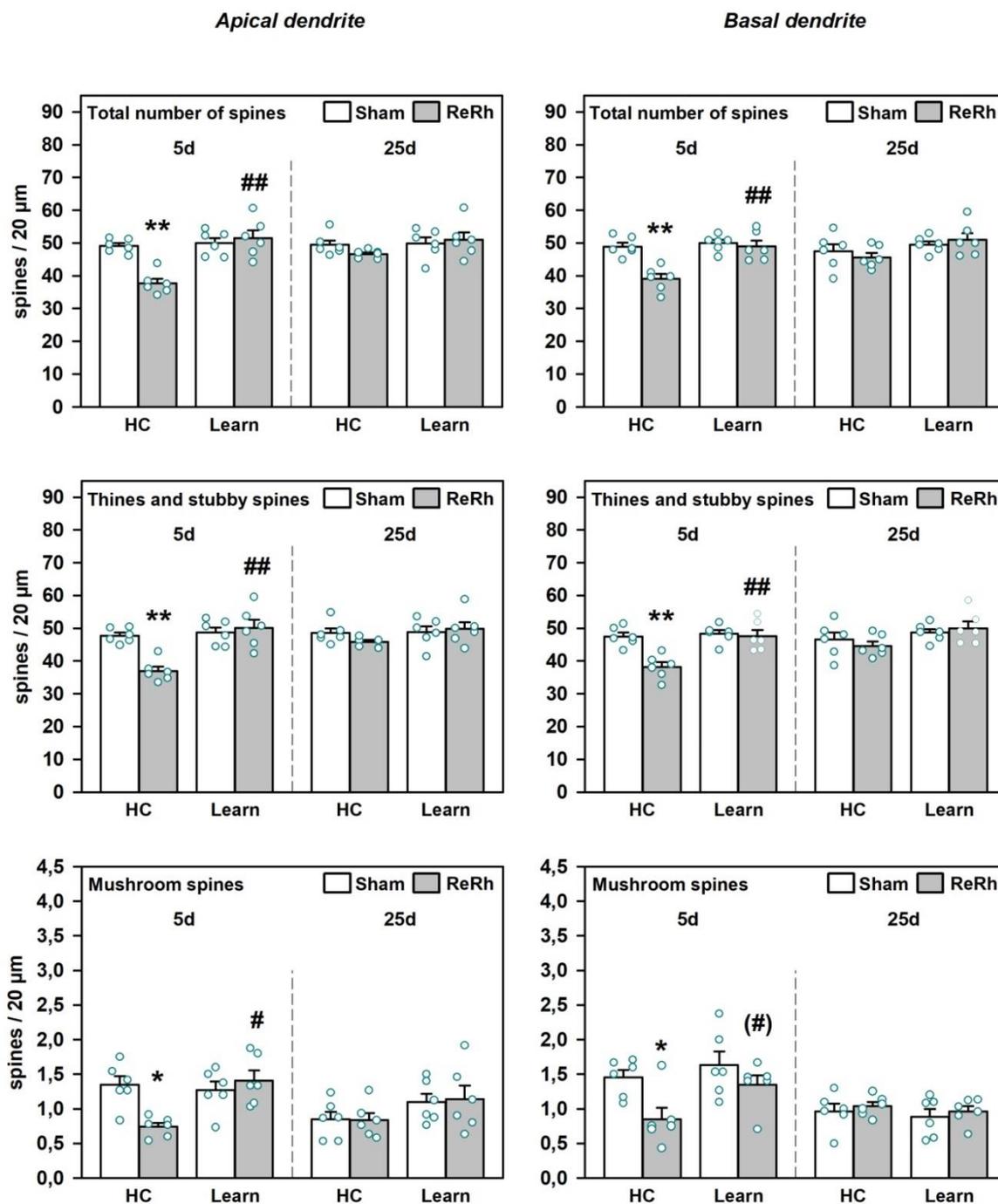


Figure 39 : Plasticité structurale dans le cortex prélimbique (PL). Représentation de la densité numérique des épines dendritiques par segment de 20 μ m pour les dendrites apicales (gauche) et basales (droite) soit pour les épines dendritiques totales (en haut), soit pour les épines dendritiques de type *thin* et *stubby* (milieu), soit pour les épines dendritiques de types *mushroom* (en bas) pour les rats non lésés Sham (blanc) et les rats lésés ReRh (gris). Les cercles bleus représentent les valeurs moyennes individuelles. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$ (différence significative par rapport au groupe sham = effet de la lésion); # $p < 0.05$, ## $p < 0.005$, ### $p < 0.0005$ (différence par rapport au groupe en condition basale = effet de l'apprentissage).

Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines tandis que la lésion le diminue ; le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Seuls les animaux lésés non entraînés montrent une augmentation significative du nombre d'épines au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,0005$).

L'ANOVA du nombre d'épines de type ***thin et stubby*** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 16,234$; $p < 0,0005$), de la Lésion ($F_{1,40} = 6,051$; $p < 0,05$), et du Délai ($F_{1,40} = 4,425$; $p < 0,05$). Les interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 12,516$; $p < 0,005$) et Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 4,744$; $p < 0,05$) sont significatives, au contraire des interactions Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 3,46$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue et le délai ne l'impacte pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Seuls les animaux lésés non entraînés montrent une augmentation significative du nombre d'épines au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,0005$).

L'ANOVA du nombre d'épines de type ***mushroom*** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 10,014$; $p < 0,005$) et du Délai ($F_{1,40} = 5,405$; $p < 0,05$), mais pas de la Lésion ($F_{1,40} = 1,414$, NS). L'interaction Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 4,873$; $p < 0,05$) est significative, au contraire des interactions Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 3,68$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, le délai le diminue, et la lésion ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement à 5 jours ($p < 0,05$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement plus bas par rapport à leur contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,05$). Seuls les animaux Sham non entraînés montrent une tendance à la baisse du nombre d'épines au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($0,05 < p < 0,10$).

En résumé, au cours de cette expérience, nous avons observé plusieurs effets au niveau des dendrites apicales dans le PL, Figure 39.

En condition basale, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) entraîne une diminution du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais aussi de type mushroom à 5 jours seulement. En condition mémoire, l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais aussi de type mushroom, chez les rats Lésion à 5 jours seulement.

3.2.2. Dendrites basales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 6,412$; $p < 0,05$) et de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 16,943$; $p < 0,0005$) , mais pas du Délai ($F_{1,40} = 2,323$, NS). Les interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 7,475$; $p < 0,01$) et Lésion x Délai ($F_{1,40} = 5,542$; $p < 0,05$) sont significatives, au contraire des interactions Apprentissage x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 1,61$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et le délai ne l'impacte pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,001$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,001$). Seuls les animaux lésés non entraînés montrent une augmentation significative du nombre d'épines au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,01$).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type thin et stubby** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 15,846$; $p < 0,0005$), de la Lésion ($F_{1,40} = 5,563$; $p < 0,05$), mais pas du Délai ($F_{1,40} = 3,364$, NS). De plus, les interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 7,026$; $p < 0,05$) et Lésion x Délai ($F_{1,40} = 4,426$; $p < 0,05$) sont significatives, au contraire des interactions Apprentissage x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 1,41$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue et le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,005$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours



($p < 0,005$). Seuls les animaux lésés non entraînés montrent une augmentation significative du nombre d'épines au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,01$).

L'ANOVA du nombre d'épines de type *mushroom* montre un effet significatif de la Lésion ($F_{1,40} = 4,202$; $p < 0,05$) et du Délai ($F_{1,40} = 16,119$; $p < 0,0005$), mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 2,160$, NS). Les interactions Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 5,386$; $p < 0,05$) et Lésion x Délai ($F_{1,40} = 8,415$; $p < 0,01$) sont significatives, au contraire des interactions Apprentissage x Lésion et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 0,84$, NS). Globalement, l'apprentissage n'impacte pas le nombre d'épines, tandis que le délai et la lésion le diminuent. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines tend à augmenter chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement à 5 jours ($0,10 < p < 0,05$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement plus bas par rapport à leur contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,05$). Le nombre d'épines est significativement plus bas au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours chez les animaux Sham entraînés ($p < 0,005$) ou non ($p < 0,05$).

En résumé, au cours de cette expérience, nous avons observé plusieurs effets au niveau des dendrites basales dans le PL, Figure 39.

En condition basale, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) entraîne une diminution du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais aussi de type mushroom, ceci au délai de 5 jours seulement. En condition mémoire, l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais aussi de type mushroom chez les rats Lésion au délai de 5 jours seulement.

3.3. Cortex infralimbique (IL)

3.3.1. Dendrites apicales

L'ANOVA du nombre d'épines totales ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,34} = 0,001$, NS), de la Lésion ($F_{1,34} = 0,299$, NS), ou du Délai ($F_{1,34} = 0,062$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,34} < 0,34$, NS).

Infralimbic Cortex

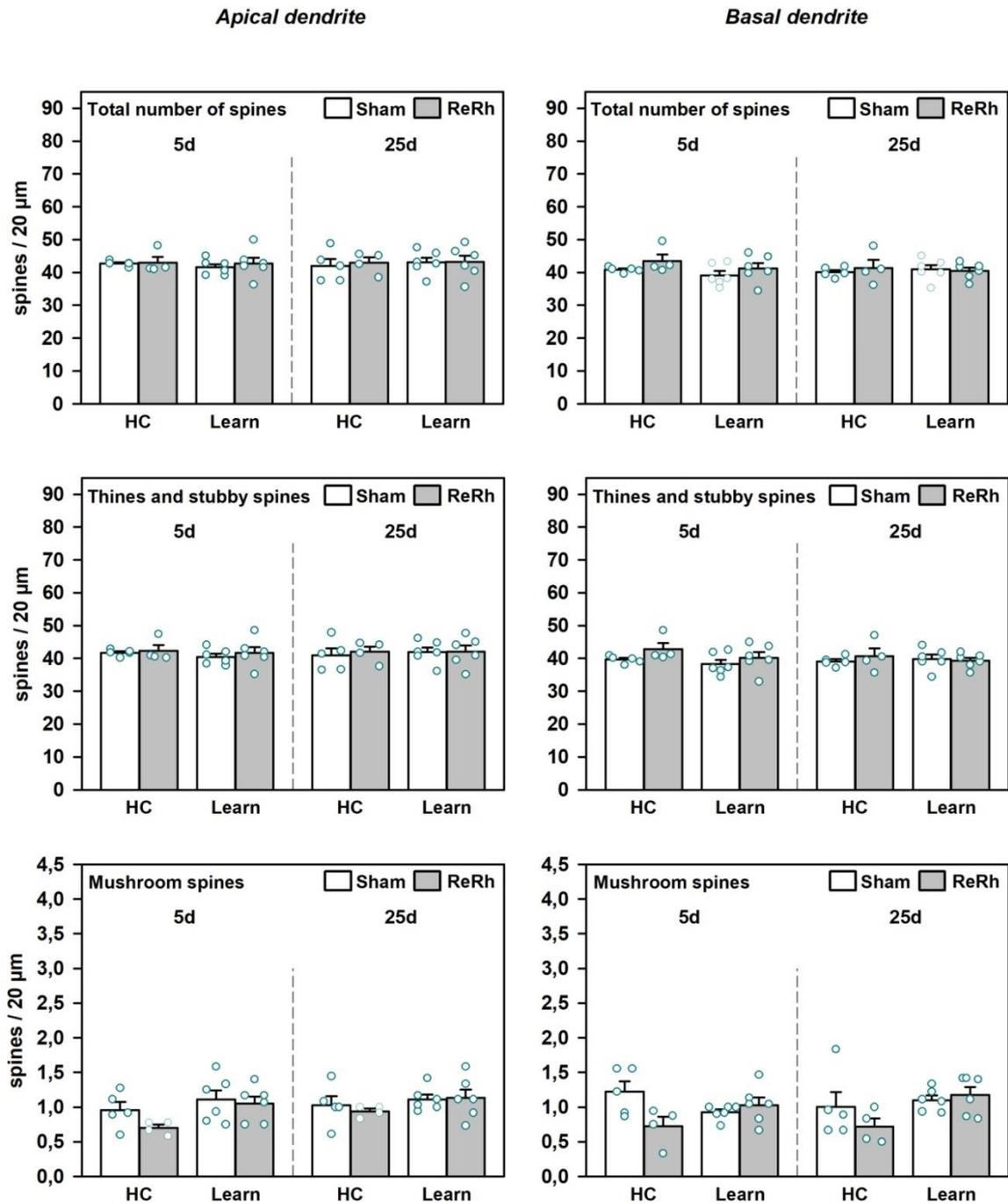


Figure 40 : Plasticité structurale dans le cortex infralimbique (IL). Représentation de la densité numérique des épines dendritiques par segment de 20µm pour les dendrites apicales (gauche) et basales (droite) soit pour les épines dendritiques totales (en haut), soit pour les épines dendritiques de type *thin* et *stubby* (milieu), soit pour les épines dendritiques de types *mushroom* (en bas) pour les rats non lésés Sham (blanc) et les rats lésés ReRh (gris). Les cercles bleus représentent les valeurs moyennes individuelles. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$ (différence significative par rapport au groupe sham = effet de la lésion) ; # $p < 0.05$, ## $p < 0.005$, ### $p < 0.0005$ (différence par rapport au groupe en condition basale = effet de l'apprentissage).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *thin et stubby*** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,34} = 0,037$, NS), de la Lésion ($F_{1,34} = 0,433$, NS) ou du Délai ($F_{1,34} = 0,032$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,34} < 0,43$, NS).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *mushroom*** montre un effet de l'Apprentissage ($F_{1,34} = 6,133$; $p < 0,05$), mais pas de la Lésion ($F_{1,34} = 1,522$, NS), pas plus que du Délai ($F_{1,34} = 1,549$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,34} < 0,98$, NS).

En résumé, au cours de cette expérience, nous n'avons observé aucun effet au niveau des dendrites apicales dans l'IL, Figure 40.

3.3.2. Dendrites basales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,34} = 1,008$, NS), ni de la Lésion ($F_{1,34} = 1,891$, NS), ou encore du Délai ($F_{1,34} = 0,214$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,34} < 0,93$, NS).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *thin et stubby*** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,34} = 1,311$, NS), ni de la Lésion ($F_{1,34} = 2,349$, NS), ou encore du Délai ($F_{1,34} = 0,256$, NS). Aucune des interactions Apprentissage x Lésion, Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai n'est significative ($F_{1,34} < 1,03$, NS).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *mushroom*** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,34} = 2,503$, NS), ni de la Lésion ($F_{1,34} = 2,903$, NS), ou du Délai ($F_{1,34} = 0,066$, NS). L'interaction Apprentissage x Lésion ($F_{1,34} = 7,400$; $p < 0,05$) est significative, au contraire des interactions Apprentissage x Délai, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,34} < 2,39$, NS). Cependant, l'analyse *post-hoc* ne met en évidence aucun effet.

En résumé, au cours de cette expérience, nous n'avons observé aucun effet au niveau des dendrites basales dans l'IL, Figure 40.

4. Plasticité structurale dans l'hippocampe dorsal

4.1. Corne d'Ammon 1 (CA1)

4.1.1. *Dendrites apicales*

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 49,007$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 27,658$; $p < 0,0001$), mais pas du Délai ($F_{1,40} = 0,328$, NS). L'interaction Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 12,431$; $p < 0,005$) est significative, au contraire des interactions Apprentissage x Lésion, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 3,13$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, et ce aux deux délais (5 jours : $p < 0,005$; 25 jours : $p < 0,05$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, ce nombre est également augmenté, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Ainsi, chez ces animaux, le nombre d'épines est significativement plus bas au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,05$). Chez les rats lésés non entraînés le nombre d'épines est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,005$).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *thin et stubby*** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 40,858$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 24,018$; $p < 0,0001$), mais pas du Délai ($F_{1,40} = 0,114$, NS). L'interaction Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 11,892$; $p < 0,005$) est significative, au contraire des interactions Apprentissage x Lésion, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 1,78$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham et lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours (Sham : $p < 0,005$; ReRh: $p < 0,0005$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement diminué par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,01$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, seule une tendance à la diminution est observée au délai de 5 jours ($0,1 < p < 0,05$). Ainsi, chez les animaux lésés non entraînés,

le nombre d'épines est significativement plus élevé au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,05$).

L'ANOVA du nombre d'épines de type *mushroom* montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 63,029$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 23,986$; $p < 0,0001$) et du Délai ($F_{1,40} = 6,970$; $p < 0,05$). Les interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 9,983$; $p < 0,005$), Lésion x Délai ($F_{1,40} = 5,334$; $p < 0,05$) et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} = 25,490$; $p < 0,0001$) sont significatives, au contraire de l'interaction Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 2,327$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, tandis que la lésion le diminue, et ce nombre est plus faible au délai de 25 jours comparativement à celui de 5 jours. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, et ce aux deux délais (5 jours : $p < 0,005$; 25 jours : $p < 0,0005$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, ce nombre est également augmenté, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,0005$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche le nombre d'épines est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 25 jours ($p < 0,0005$). Ainsi, chez ces animaux, le nombre d'épines dendritiques est significativement plus bas au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,0005$).

En résumé, au cours de cette expérience, nous avons observé plusieurs effets au niveau des dendrites apicales dans la région CA1 de l'hippocampe dorsal, Figure 41.

En condition basale, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) entraîne une diminution du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais pas de type mushroom, et cela à 5 jours seulement. En condition mémoire récente (5 jours), l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais aussi de type mushroom, chez les rats Sham et Lésion. En condition mémoire ancienne (25 jours), l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom, mais pas de type thin et stubby chez les rats Sham uniquement. Cette augmentation est retrouvée au niveau du nombre total d'épines dendritiques. La lésion ReRh (Sham vs Lésion) empêche cette augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom.

CA1

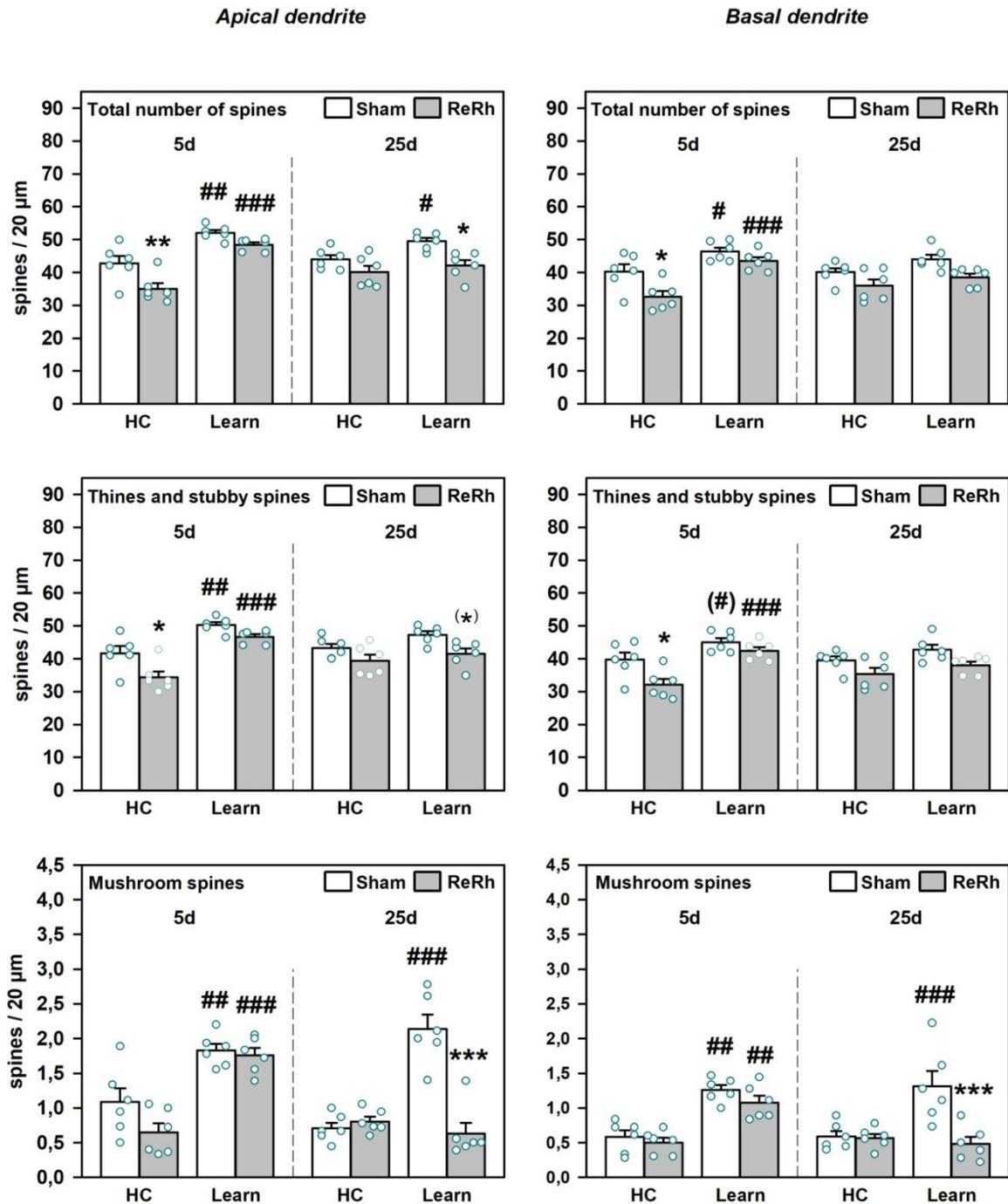


Figure 41 : Plasticité structurale dans la Corne d'Ammon 1 (CA1). Représentation de la densité numérique des épines dendritiques par segment de 20µm pour les dendrites apicales (gauche) et basales (droite) soit pour les épines dendritiques totales (en haut), soit pour les épines dendritiques de type *thin* et *stubby* (milieu), soit pour les épines dendritiques de types *mushroom* (en bas) pour les rats non lésés Sham (blanc) et les rats lésés ReRh (gris). Les cercles bleus représentent les valeurs moyennes individuelles. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$ (différence significative par rapport au groupe sham = effet de la lésion) ; # $p < 0.05$, ## $p < 0.005$, ### $p < 0.0005$ (différence par rapport au groupe en condition basale = effet de l'apprentissage).

4.1.2. Dendrites basales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 28,590$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 21,004$; $p < 0,0001$) mais pas du Délai ($F_{1,40} = 0,860$, NS). L'interaction Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 5,538$; $p < 0,05$) est significative, au contraire des interactions Apprentissage x Lésion, Lésion x Délai et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} < 1,97$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham et lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours (Sham : $p < 0,05$; ReRh : $p < 0,0005$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement diminué par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,05$).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *thin et stubby*** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 24,614$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 19,075$; $p < 0,0001$) mais pas du Délai ($F_{1,40} = 0,686$, NS). L'interaction Apprentissage x Délai ($F_{1,40} = 4,998$; $p < 0,05$) est significative, au contraire des autres interactions ($F_{1,40} < 1,57$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue, et le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats lésés ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,001$). Chez les rats lésés non entraînés, ce nombre est significativement diminué par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,05$).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type *mushroom*** montre un effet significatif de l'Apprentissage ($F_{1,40} = 37,194$; $p < 0,0001$), de la Lésion ($F_{1,40} = 13,008$; $p < 0,001$) mais pas du Délai ($F_{1,40} = 2,295$, NS). Les interactions Apprentissage x Lésion ($F_{1,40} = 8,804$; $p < 0,01$) et Apprentissage x Lésion x Délai ($F_{1,40} = 5,253$; $p < 0,05$) sont significatives, au contraire des autres interactions ($F_{1,40} < 3,81$, NS). Globalement, l'apprentissage augmente le nombre d'épines, la lésion le diminue et le délai ne l'impact pas. L'analyse *post-hoc* montre que le nombre d'épines est significativement plus élevé chez les rats Sham ayant appris la tâche par rapport à leurs homologues non entraînés, et ce aux deux délais (5 jours : $p < 0,001$; 25 jours : $p < 0,0005$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, ce nombre est également

augmenté, mais seulement au délai de 5 jours ($p < 0,01$). Chez les rats lésés ayant appris la tâche, le nombre d'épines est significativement plus bas par rapport à leurs contrôles, mais seulement au délai de 25 jours ($p < 0,0005$). Ainsi, chez ces animaux, le nombre d'épines dendritiques est significativement plus bas au délai de 25 jours par rapport au délai de 5 jours ($p < 0,01$).

En résumé, au cours de cette expérience, nous avons observé plusieurs effets au niveau des dendrites basales dans CA1, Figure 41.

En condition basale, la lésion ReRh (Sham vs Lésion) entraîne une diminution du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby, mais pas de type mushroom, et cela à 5 jours seulement. En condition mémoire récente (5 jours), l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom et tend à augmenter le nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby chez les rats Sham. Cette augmentation est retrouvée au niveau du nombre total d'épines dendritiques. Chez les rats Lésion, l'apprentissage entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type thin et stubby mais aussi de type mushroom. En condition mémoire ancienne (25 jours), l'apprentissage (basale vs mémoire) entraîne une augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom, mais pas de type thin et stubby, chez les rats Sham uniquement. Cette augmentation n'est pas retrouvée au niveau du nombre total d'épines dendritiques. La lésion ReRh (Sham vs Lésion) abolit cette augmentation du nombre d'épines dendritiques de type mushroom.

4.2. Corne d'Ammon 3 (CA3)

4.2.1. Dendrites apicales

L'ANOVA du nombre d'épines **totales** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 1,506$, NS), de la Lésion ($F_{1,39} = 0,652$, NS), ou encore du Délai ($F_{1,39} = 1,427$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 1,82$, NS).

L'ANOVA du nombre d'épines **de type thin et stubby** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 1,309$, NS), de la Lésion ($F_{1,39} = 0,690$, NS), ou encore du Délai ($F_{1,39} = 1,658$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 1,79$, NS).

CA3

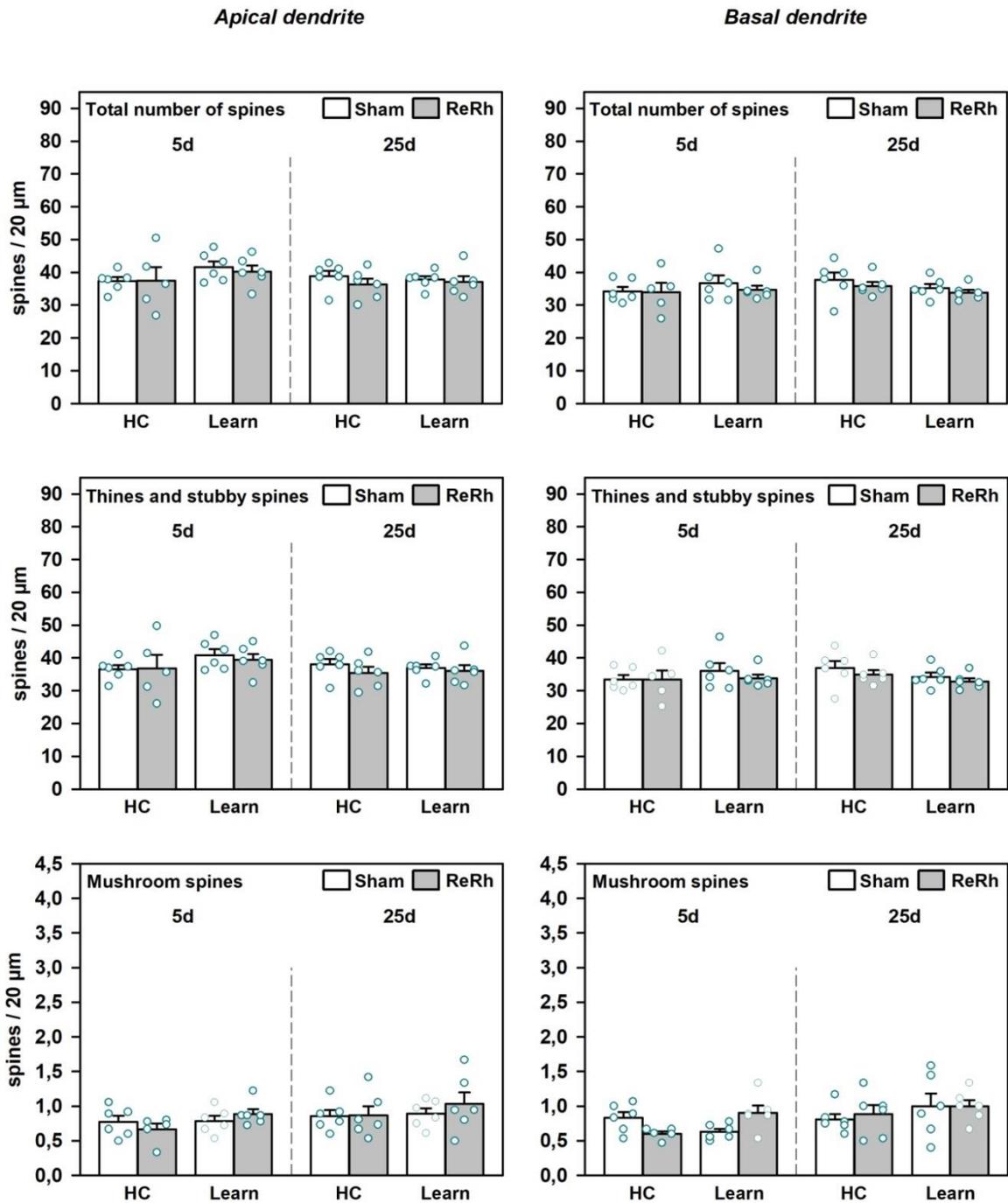


Figure 42 : Plasticité structurale dans la Corne d'Ammon 3 (CA3). Représentation de la densité numérique des épines dendritiques par segment de 20μm pour les dendrites apicales (gauche) et basales (droite) soit pour les épines dendritiques totales (en haut), soit pour les épines dendritiques de type *thin* et *stubby* (milieu), soit pour les épines dendritiques de types *mushroom* (en bas) pour les rats non lésés Sham (blanc) et les rats lésés ReRh (gris). Les cercles bleus représentent les valeurs moyennes individuelles. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$ (différence significative par rapport au groupe sham = effet de la lésion) ; # $p < 0.05$, ## $p < 0.005$, ### $p < 0.0005$ (différence par rapport au groupe en condition basale = effet de l'apprentissage).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type mushroom** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 2,181$, NS), de la Lésion ($F_{1,39} = 0,251$, NS), ou encore du Délai ($F_{1,39} = 3,417$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 1,35$, NS).

En résumé, au cours de cette expérience, nous n'avons observé aucun effet au niveau des dendrites apicales dans CA3, Figure 42.

4.2.2. Dendrites basales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 0,073$, NS), de la Lésion ($F_{1,39} = 1,228$, NS), ou encore du Délai ($F_{1,39} = 0,348$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 2,49$, NS).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type thin et stubby** ne montre aucun effet de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 0,124$, NS), de la Lésion ($F_{1,39} = 1,283$, NS), ou du Délai ($F_{1,39} = 0,198$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 2,61$, NS).

L'ANOVA du nombre d'**épines de type mushroom** montre un effet du Délai ($F_{1,39} = 5,712$; $p < 0,05$) mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 1,785$, NS) ni de la Lésion ($F_{1,39} = 0,167$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 3,77$, NS).

En résumé, au cours de cette expérience, nous n'avons observé aucun effet au niveau des dendrites basales dans CA3, Figure 42.

4.3. Gyrus Denté (DG)

4.3.1. Dendrites apicales

L'ANOVA du nombre d'**épines totales** montre un effet de la Lésion ($F_{1,39} = 7,971$; $p < 0,01$) mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 0,571$, NS) ni du Délai ($F_{1,39} = 0,064$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 3,43$, NS).

DG

Apical dendrite

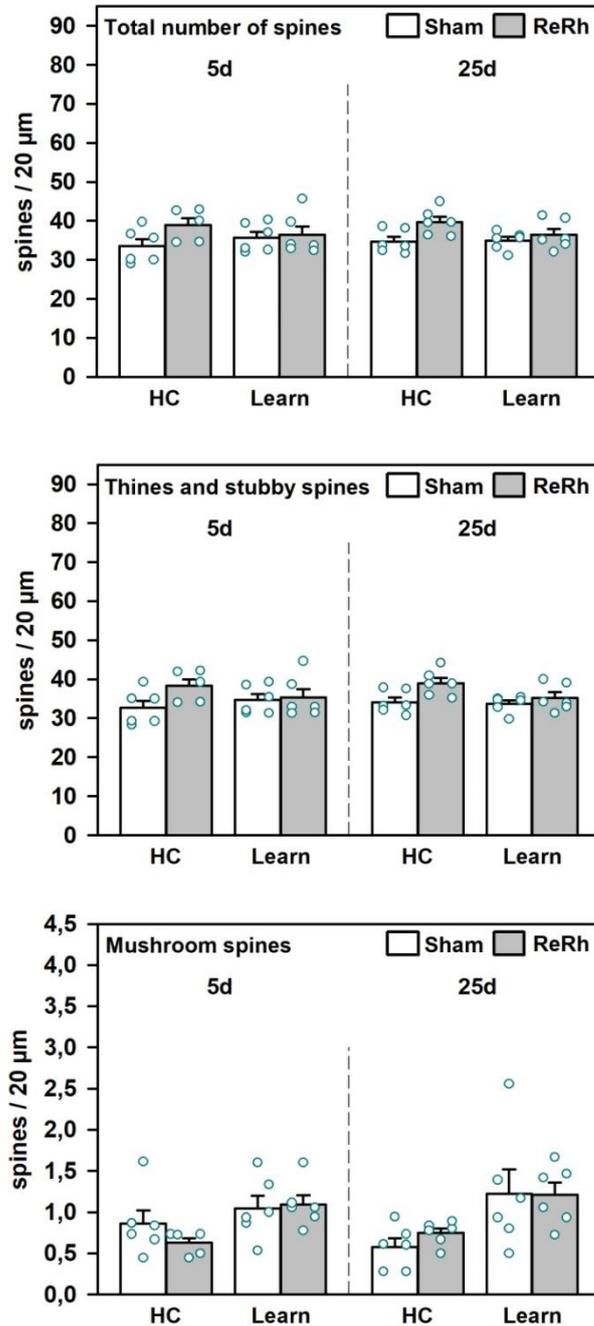


Figure 43 : Plasticité structurale dans le Gyrus Denté (DG). Représentation de la densité numérique des épines dendritiques par segment de 20μm pour les dendrites apicales (gauche) et basales (droite) soit pour les épines dendritiques totales (en haut), soit pour les épines dendritiques de type *thin* et *stubby* (milieu), soit pour les épines dendritiques de types *mushroom* (en bas) pour les rats non lésés Sham (blanc) et les rats lésés ReRh (gris). Les cercles bleus représentent les valeurs moyennes individuelles. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$ (différence significative par rapport au groupe sham = effet de la lésion) ; # $p < 0.05$, ## $p < 0.005$, ### $p < 0.0005$ (différence par rapport au groupe en condition basale = effet de l'apprentissage).

L'ANOVA du nombre d'épines de type *thin et stubby* montre un effet de la Lésion ($F_{1,39} = 8,313$; $p < 0,01$) mais pas de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 1,374$, NS) ni du Délai ($F_{1,39} = 0,052$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 3,64$, NS).

L'ANOVA du nombre d'épines de type *mushroom* montre un effet de l'Apprentissage ($F_{1,39} = 15,764$; $p < 0,0005$) mais pas de la Lésion ($F_{1,39} = 0,005$, NS) ni du Délai ($F_{1,39} = 0,088$, NS). Aucune des interactions n'est significative ($F_{1,39} < 1,11$, NS).

En résumé, au cours de cette expérience, nous n'avons observé aucun effet au niveau des dendrites apicales dans le DG, Figure 43.

Partie 2 :

Expériences
complémentaires

1. Lésion ReRh et marqueurs de plasticité

Cette deuxième expérience a été réalisée dans le cadre d'une **collaboration** avec Claire RAMPON, Directeur de Recherche 2 de l'équipe REMEMBeR au Centre de Recherche sur la Cognition Animale (CRCA – UMR5169), Toulouse. Cette collaboration avait pour but d'identifier les **mécanismes** par lesquels les noyaux ReRh contribuent à la **persistance d'un souvenir spatial** chez le Rat à travers différentes approches et notamment l'étude de la **plasticité structurale**. Cette dernière peut prendre différentes formes comme une modification du nombre et/ou de la structure des **synapses**, un changement de la densité et/ou de la forme des **épinés dendritiques**, une modification de la longueur et/ou de la complexité de l'**arbre dendritique**, ou encore la modification du nombre de neurones (i.e. **neurogénèse**). Comme nous venons de le voir dans la première partie des résultats, l'**expérience 1** nous a permis d'étudier l'impact de la lésion ReRh sur la **plasticité structurale** corticale et hippocampique nécessaire à la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat par l'**étude de la densité** et de la **morphologie des épinés dendritiques**. L'objectif de cette **expérience 2** est à nouveau d'étudier l'impact de la lésion ReRh sur la **plasticité structurale** corticale et hippocampique nécessaire à la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat, mais cette fois par l'**étude de marqueurs synaptiques** (e.g. synaptophysine, synaptopodine, PSD95) et de la **neurogénèse** (collaboration Claire RAMPON).

Pour cela, nous avons effectué, chez le Rat, une **chirurgie stéréotaxique** permettant d'effectuer soit une lésion excitotoxique des noyaux ReRh (ReRh), soit une chirurgie contrôle (Sham). Après une période de repos post-chirurgical, les animaux sont soumis à une **injection de BrdU** (100 mg/kg) par jour pendant 3 jours. Puis, une partie des rats est entraînée en **piscine de Morris** (groupe mémoire ou « *Learning* » (Learn)), tandis qu'une autre reste dans sa cage d'élevage sans être exposée à la tâche comportementale (groupe basal ou « *Home Cage* » (HC)). Les animaux du groupe mémoire effectuent un test de rétention soit **5 jours** (souvenir récent), soit **25 jours** (souvenir ancien) après l'entraînement, puis ils sont **mis à mort** immédiatement par perfusion intracardiaque de paraformaldéhyde (PAF) 4%. Les animaux du groupe basal sont mis à mort à un délai équivalent, c'est-à-dire à un délai soit de 4 semaines post-chirurgicale (délai récent correspondant au délai 5 jours du groupe mémoire), soit de 7 semaines (délai ancien correspondant au délai 25 jours du groupe mémoire). Enfin,

les cerveaux sont extraits, post-fixés, cryoprotégés, congelés et coupés à 40 μ m au cryostat. Une partie de ce matériel biologique a été envoyé au CRCA-UMR5169 pour l'étude de la neurogénèse, alors qu'une seconde partie de ce matériel biologique a été conservé au laboratoire pour l'étude des marqueurs de plasticité.

1.1. Localisation et étendue des lésions

La **localisation** et l'**étendue** des lésions sont illustrées dans la *Figure 36*. Pour l'ensemble des animaux lésés, l'analyse histologique montre que ceux-ci présentent une lésion touchant en moyenne 78% du Re, 52% du Rh, 70% du pRe et 13% des autres noyaux thalamiques.

L'étude s'est donc effectuée sur 4 groupes:

- un groupe **basal récent** (5 jours) de 11 rats [$n_{\text{Lésion}} = 5$, $n_{\text{Sham}} = 6$],
- un groupe **basal ancien** (25 jours) de 10 rats [$n_{\text{Lésion}} = 4$, $n_{\text{Sham}} = 6$],
- un groupe **mémoire récente** (5 jours) de 18 rats [$n_{\text{Lésion}} = 9$, $n_{\text{Sham}} = 9$],
- un groupe **mémoire ancienne** (25 jours) de 24 rats [$n_{\text{Lésion}} = 12$, $n_{\text{Sham}} = 12$],

De façon générale, la zone lésée atteint également une partie des noyaux adjacents, tels que les noyaux thalamiques submédiants, centromédian ou encore antéromédiants. Nous ne pouvons donc pas exclure une éventuelle influence de la lésion de ces noyaux sur nos résultats.

1.2. Tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris

1.2.1. Habituation

Suite à un problème d'ordre technique, les données de l'habituation n'ont pu être analysées.

1.2.2 Acquisition

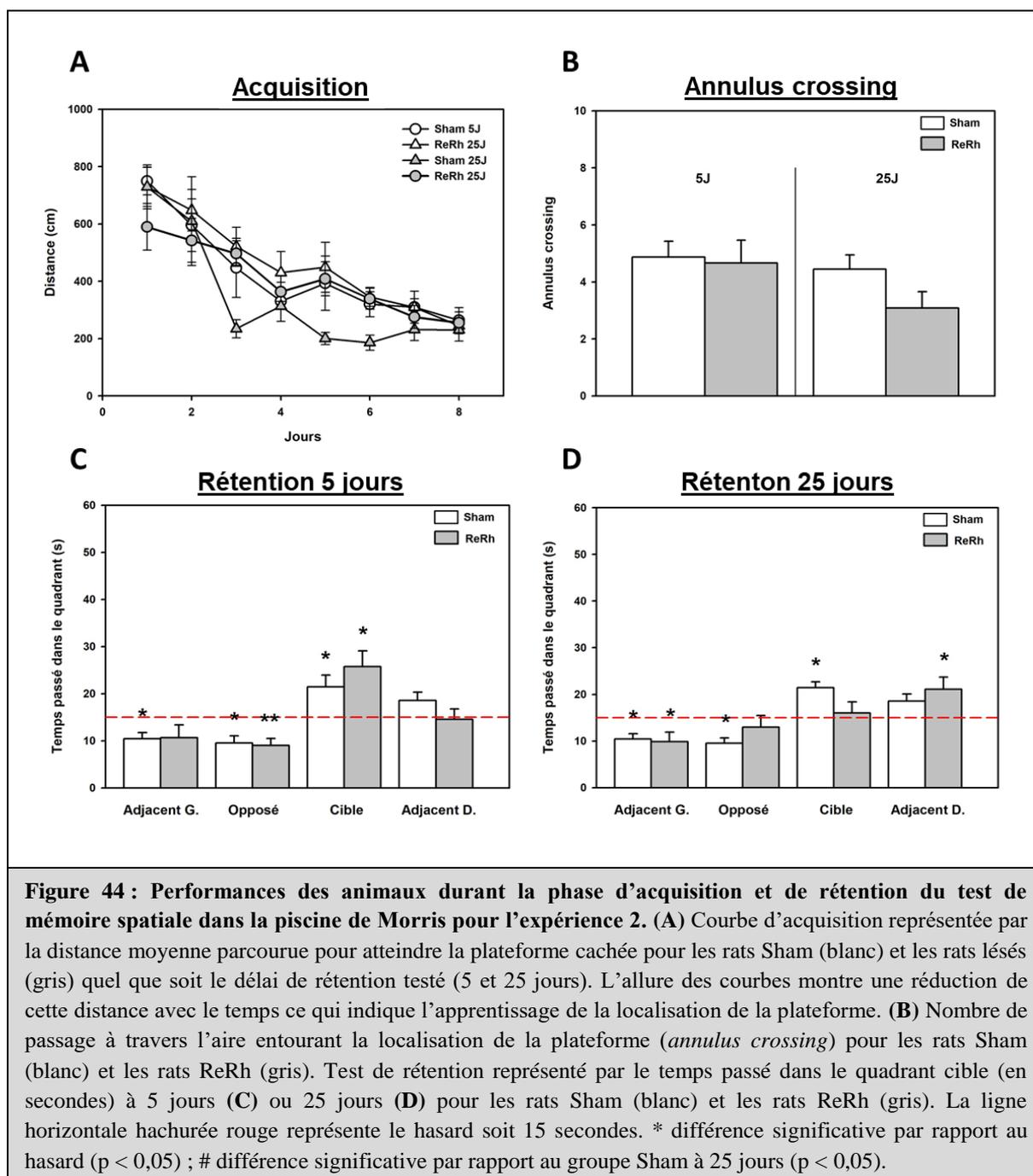
Les données de la phase d'acquisition sont présentées dans la *Figure 44A*. Lors de cette dernière, on observe que la **distance parcourue** pour atteindre la plateforme cachée diminue progressivement au cours du temps. L'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,210} = 30,010$, $p < 0,0001$), mais ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,30} = 2,288$, NS),

du Délai ($F_{1,30} = 4,062$, NS), ou encore de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,30} = 0,274$, NS). L'interaction Jour x Lésion ($F_{7,210} = 2,153$; $p < 0,05$) est significative, ce qui n'est pas le cas des interactions Jour x Délai et Jour x Lésion x Délai ($F_{7,210} < 1,18$, NS). Pour la **latence d'accès à la plateforme**, l'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,210} = 24,274$, $p < 0,0001$) et un effet de la Lésion ($F_{1,30} = 6,605$; $p < 0,05$), mais ne montre aucun effet du Délai ($F_{1,30} = 0,671$, NS), ou encore de de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 0,196$, NS). L'interaction Jour x Lésion ($F_{7,210} = 2,090$; $p < 0,05$) est significative, ce qui n'est pas le cas des interactions Jour x Délai et Jour x Lésion x Délai ($F_{7,210} < 1,76$, NS). Ainsi, au fur et à mesure des jours, on observe un apprentissage de la localisation de la plateforme qui se traduit par l'amélioration des performances des animaux. Celle-ci est reflétée par une diminution de la distance parcourue (en centimètres) ainsi que de la latence (en secondes) pour atteindre la plateforme et ceci de manière comparable dans tous les groupes (Lésion 5 et 25 jours ; Sham 5 et 25 jours).

Concernant la **thigmotaxie**, l'ANOVA à 3 facteurs met en évidence un effet Jour ($F_{7,210} = 34,325$; $p < 0,0001$), et un effet Délai ($F_{1,30} = 5,578$; $p < 0,05$), mais pas de la Lésion ($F_{1,30} = 1,722$, NS), ni de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,30} = 0,016$, NS). Aucune des autres interactions n'est significative ($F_{7,245} < 1,79$, NS). Ainsi, à mesure que l'entraînement progresse, on observe une habituation des animaux au dispositif expérimental. . Celle-ci est traduite par la diminution du temps passé le long des parois de la piscine et ceci de façon comparable dans tous les groupes (Lésion 5 et 25 jours ; Sham 5 et 25 jours).

Enfin pour la **vitesse de nage**, l'ANOVA à 3 facteurs ne met en évidence aucun effet Jour ($F_{7,210} = 1,452$, NS), ni du Délai ($F_{1,30} = 3,187$, NS), Lésion ($F_{1,30} = 3,392$, NS), ou encore de l'interaction Délai x Lésion ($F_{1,35} = 0,086$, NS). Aucune des autres interactions n'est significative ($F_{7,210} < 1,28$, NS).

En résumé, la lésion des noyaux ReRh n'impacte pas l'acquisition de l'emplacement de la plateforme en piscine de Morris.



1.2.3. Test de rétention

Les données des tests de rétention à 5 et 25 jours sont présentées dans les *Figures 44B* à *44D*. Pour le **temps passé dans le quadrant cible** (Cible = NO), *Figure 44B*, l'ANOVA à 2 facteurs montre un effet du Délai ($F_{1,34} = 5,079$; $p < 0,05$), mais pas de la Lésion ($F_{1,34} = 0,012$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,35} = 2,550$, NS). L'analyse *post-hoc* met en évidence que les rats Lésion passent significativement moins de temps dans le quadrant cible au délai ancien (25 jours) qu'au délai récent (5 jours) ($p < 0,05$). De plus, lors

du test de rétention à 5 jours, *Figure 44C*, l'analyse utilisant le test *t* de Student montre que le temps passé dans le quadrant NO (en secondes) est significativement supérieur au hasard (i.e. 15s), et ce, pour les deux groupes ($p < 0,05$). Ce biais, pour le quadrant de la piscine où se situait la plateforme lors de la phase d'acquisition, traduit la capacité de l'ensemble des rats à se rappeler l'emplacement de la plateforme. Lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 44D*, le temps passé dans le quadrant cible (en secondes) est significativement supérieur au hasard (i.e. 15s) uniquement pour le groupe contrôle (Sham : $p < 0,01$ et Lésion : $p = 0,671$). Cette absence de biais pour le quadrant de la piscine où se situait la plateforme lors de la phase d'acquisition traduit l'incapacité des rats Lésion à rappeler cet emplacement.

Pour le temps passé dans le quadrant à droite du quadrant cible (Adj. D = NE), l'ANOVA à 2 facteurs ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,34} = 0,033$, NS), du Délai ($F_{1,34} = 1,821$, NS), ou de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,34} = 2,559$, NS). De plus, lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 44C*, le temps passé dans le quadrant NE n'est pas différent du hasard, et ceci quel que soit le groupe (Sham : $p = 0,086$; ReRh : $p = 0,854$). Enfin, lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 44D*, le temps passé dans le quadrant NE n'est pas différent du hasard pour les rats Sham ($p = 0,092$), ce qui n'est pas le cas des rats Lésion ($p < 0,05$).

Pour le temps passé dans le quadrant à gauche du quadrant cible (Adj. G = SO), l'ANOVA à 2 facteurs ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,34} = 0,053$, NS), ni du Délai ($F_{1,34} = 0,004$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,30} = 0,109$, NS). Enfin, que ce soit lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 44C*, ou lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 44D*, le temps passé dans le quadrant SO est significativement inférieur au hasard (Sham 5 jours : $p < 0,05$; Sham 25 jours : $p < 0,01$; ReRh 25 jours : $p < 0,05$), sauf pour les rats Lésion à 5 jours ($p = 0,152$).

Pour le temps passé dans le quadrant opposé au quadrant cible (Opp. = SE), l'ANOVA à 2 facteurs ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,34} = 0,091$, NS), ni du Délai ($F_{1,34} = 2,098$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,34} = 0,345$, NS). Enfin, que ce soit lors du test de rétention à 5 jours, *Figure 44C*, ou lors du test de rétention à 25 jours, *Figure 44D*, le temps passé dans le quadrant SE est significativement inférieur au hasard pour l'ensemble des groupes (Sham 5 jours : $p < 0,01$; ReRh 5 jours : $p < 0,005$; Sham 25 jours : $p < 0,01$), à l'exception des rats Lésion 25 jours ($p = 0,430$).

Pour le **nombre d'entrées dans l'annulus**, *Figure 44B*, qui représente un indice de la précision de la mémoire, l'ANOVA à 2 facteurs ne montre aucun effet de la Lésion ($F_{1,34} = 1,569$, NS), ni du Délai ($F_{1,34} = 2,583$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F_{1,34} = 0,846$, NS).

Pour la **vitesse de nage** ainsi que la **thigmotaxie**, l'ANOVA à 2 facteurs ne montre pas d'effet de la Lésion (Vitesse : $F_{1,34} = 2,221$, NS ; Thigmotaxie : $F_{1,34} = 0,215$, NS), ni du Délai (Vitesse : $F_{1,34} = 0,497$, NS ; Thigmotaxie : $F_{1,34} = 3,009$, NS), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (Vitesse : $F_{1,34} = 2,687$, NS ; Thigmotaxie : $F_{1,34} = 0,085$, NS).

En résumé, la lésion ReRh n'empêche pas le rappel d'un souvenir récent (5 jours), mais elle prévient celui d'un souvenir ancien (25 jours).

Les études histologiques sur la neurogénèse et les marqueurs de plasticité sont en cours de réalisation.

2. Lésion ReRh et évaluation par IRM anatomique

L'**instillation de NMDA** dans le parenchyme cérébral entraîne la formation d'**œdèmes** (vasogénique et cytotoxique) observables à l'IRM par un **hypersignal**. Très récemment, Cholvin et collaborateurs ont montré, chez le Rat, que la lésion excitotoxique des noyaux ReRh entraînait un hypersignal IRM entre 1 heure et 1 semaine post-chirurgie (Cholvin et al., 2018). Dans cet article, les auteurs concluent que l'utilisation de l'IRM rend possible la **détection spécifique** d'une instillation intra-cérébrale de NMDA permettant ainsi de visualiser la **localisation** et l'**étendue de l'instillation** (Cholvin et al., 2018). Dans le cadre de ma thèse, cette méthode a été mise au point en **collaboration** avec Chrystelle PO, ingénieure de recherche sur la plateforme d'Imagerie et Robotique et Innivation en Santé (IRIS) dirigée par Jean-Paul Armspach du Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur, de l'Informatique et de l'Imagerie (ICube – UMR7357). Le but était d'obtenir des **critères d'inclusion/exclusion** des animaux en se basant sur le **volume** et la **localisation** de l'**hypersignal IRM**, et ce, 24 heures après l'intervention chirurgicale. Pour cela, nous avons effectué, chez le Rat, une **chirurgie stéréotaxique** permettant d'effectuer une lésion excitotoxique des noyaux reuniens et rhomboïde (ReRh). Après 24 heures, les animaux ont

subi l'**IRM anatomique** afin de déterminer le volume et la localisation de l'hypersignal IRM. La localisation et l'étendue des lésions sont ensuite vérifiées par **immunomarquage de la protéine NeuN**.

2.1. Principe de l'IRM

L'**imagerie par résonance magnétique** (IRM) se base sur un phénomène nommé **résonance magnétique nucléaire** (RMN), d'où son nom. Le signal de résonance magnétique nucléaire a pour origine les **noyaux des atomes**. Les noyaux sont constitués de protons et neutrons, regroupés sous le terme de **nucléons**, autour desquels tournent les électrons. Les protons et les neutrons sont animés d'un mouvement collectif complexe, comportant notamment une rotation individuelle, et caractérisé par un **moment cinétique** ou **spin**. Comme toutes les charges électriques en mouvement, ces spins génèrent un champ magnétique, caractérisé par un **moment magnétique total**, *Figure 45*. Cependant seuls les atomes à nombre impair de nucléons possèdent un moment magnétique total. Parmi ces

noyaux à nombre impair de nucléons, les principaux noyaux d'intérêt biologiques sont le noyau d'hydrogène (^1H), de carbone (^{13}C), de fluor (^{19}F), du phosphore (^{31}P) et de sodium (^{23}Na). Les êtres vivants étant

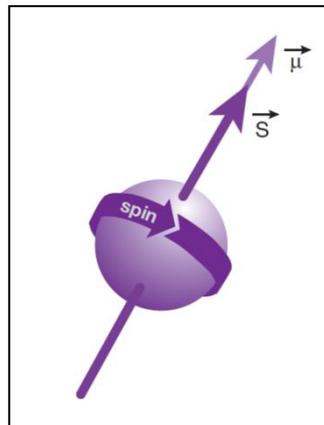


Figure 45 : Représentation schématique d'un élément chargé. L'élément chargé (boule violette) tourne sur lui-même induisant un moment cinétique (*spin*) aligné sur son axe de rotation (*vecteur S*). La charge de l'élément, tournant aussi, induit un moment magnétique (*vecteur u*) lié au moment cinétique et aligné sur son axe de rotation. *Extrait de Comprendre l'IRM 7^{ème} édition de B.Kastler et al. aux éditions Elsevier Masson.*

constitués d'une importante quantité d'eau, l'hydrogène représente environ 2/3 des atomes de l'organisme. Constitué d'un seul proton, ces propriétés magnétiques permettant une acquisition nette d'image, lui conférant un rôle important en imagerie (i.e. IRM protonique).

En **temps normal**, les **protons** sont orientés de façon totalement **aléatoire** dans toutes les **directions** de l'espace. L'application d'un **champ magnétique puissant et stable** (B_0) entraîne l'**alignement** des protons dans le sens de celui-ci. Ce phénomène est parfaitement illustré par l'utilisation d'une boussole, dont l'aiguille indique toujours le Nord sous l'effet du champ magnétique terrestre. Cependant, les protons ne sont pas en alignement parfait avec B_0 . En effet, les protons tournent individuellement sur eux-mêmes autour de B_0 avec un angle

donné : on parle de **précession**. Ce phénomène se déroule selon une fréquence particulière appelée fréquence angulaire de précession (ω_0). Pour schématiser, on peut prendre l'exemple d'un individu se tenant debout sur une plateforme horizontale pivotant sur un axe vertical. Cette personne, tournant sur elle-même, a le bras droit tendu vers le haut dans l'axe de son corps. Dans cette situation, que fait le bras ? À l'image du proton, il est orienté dans la direction de l'axe du corps (i.e. B_0) et tourne autour de cet axe selon un angle donné.

Cet état d'équilibre peut être perturbé par un apport d'énergie. Dans notre cas (IRM), cette énergie est apportée par l'**application d'un champ électromagnétique tournant** (B_1), aussi appelé **onde électromagnétique** ou **radiofréquence**. Pour que l'énergie qu'apporte ce dernier soit transférée au système en équilibre il faut que la fréquence de rotation de B_1 (ω_1) soit égale à la celle des protons dans B_0 (i.e. à la fréquence angulaire de précession) : c'est le phénomène de **résonance magnétique**. Un exemple illustratif de ce phénomène de résonance est celui de la balançoire. Lorsqu'une personne est assise dessus, elle se balance à une fréquence donnée. Pour pouvoir pousser cette personne (i.e. transfert d'énergie), il faut adapter la fréquence de ses propres poussées à la fréquence de balancement. Dans le cadre de l'IRM, cet apport d'énergie produit deux effets : premièrement, une **modification de l'état énergétique** du proton (passage à un état excité), et deuxièmement, un « **basculement** » du proton qui va alors précesser autour de B_1 (proton déphasé) tout en continuant de tourner autour de B_0 . Si l'on reprend l'exemple de l'individu sur la plateforme tournante, B_1 représentera le bras gauche qui sera tendu vers l'avant de façon perpendiculaire à l'axe du corps. Le phénomène de basculement sera représenté par l'abaissement du bras droit (tendu vers le haut représentant B_0) vers le bras gauche (tendu vers l'avant représentant B_1). En pratique, B_1 ne s'implique que sur de courtes périodes de temps (quelques millisecondes) : on parle alors d'**impulsion** (ou excitation). Lorsque l'impulsion est terminée, le système retrouve son état d'équilibre : le proton retrouve son état énergétique et sa position initiale. Respectivement, ce sont les phénomènes de **relaxation longitudinale** (T_1) et de **relaxation transversale** (T_2). Ces modifications, pour retrouver l'état initial, provoquent une **variation du champ magnétique** qui sera recueilli par une antenne (ou bobine) de réception présente dans l'IRM. Ce signal sera transformé en un **signal électrique mesurable**, lui-même transformé en une **image numérique**.

Enfin, une des caractéristiques essentielles de l'IRM est la possibilité de **localiser avec précision** ce signal RMN. Pour cela, on utilisera l'**application de gradients**. Un gradient



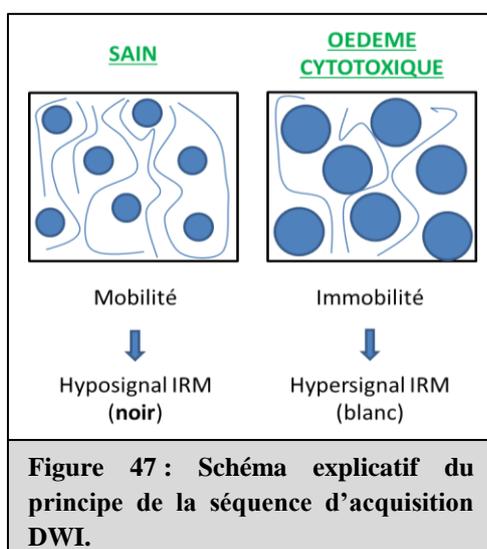
représente le taux de variation (pente) d'une donnée physique dans une direction de l'espace. Par exemple, si la pente d'une route est de 10%, cela signifie que lorsque j'avance horizontalement de 100 mètres, je descends ou monte de 10 mètres. Ce dénivelé correspond au gradient. Dans le cas de l'IRM, ces gradients sont des **gradients de champ magnétique**. Ces derniers sont superposés à B_0 qui en sera modifié. Ainsi, le champ magnétique est augmenté dans la direction du gradient appliqué. Chacune des valeurs prises par le champ magnétique au sein du gradient correspond à une fréquence angulaire de précession précise, et par conséquent, à une position précise des protons dans l'espace. L'application de gradient permet donc un **codage spatial de l'image**. Une image IRM est donc obtenue par l'enchaînement d'impulsions RF et de gradients décrits par une séquence IRM. Selon le paramétrage de cette dernière, il est possible d'observer voire de quantifier différents composés (e.g eau, graisse) ou phénomènes (e.g œdèmes, tumeurs).

Lors de nos expériences, nous avons utilisé un appareil IRM 7 Tesla BioSpec de chez Bruker BioSpin, *Figure 46*, avec deux types de séquences :

- DWI : image pondérée en diffusion (Diffusion Weighted Imaging),
- T2WI : image pondérée en T2 (T2 Weighted Imaging).



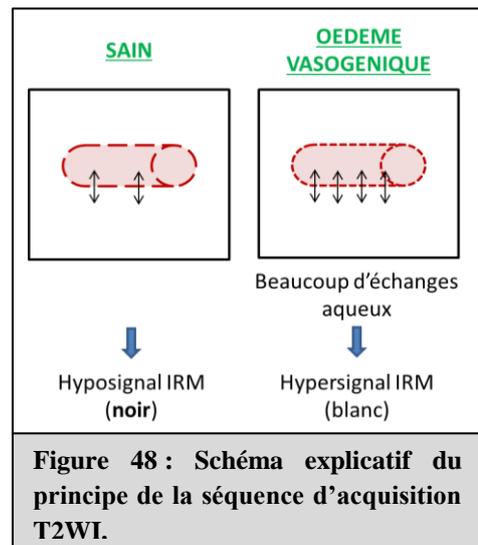
Figure 46 : Appareil IRM 7 Tesla BioSpec de chez Bruker BioSpin.



La **séquence DWI**, *Figure 47*, se base principalement sur le **déplacement microscopique des molécules d'eau** au sein des tissus. En effet, ces dernières sont soumises à des mouvements permanents nommés « mouvements browniens ». Ces mouvements aléatoires peuvent être plus ou moins importants, caractérisant ainsi la **diffusion moléculaire**. C'est pourquoi, plus ces mouvements sont libres de s'effectuer et plus l'agitation moléculaire est importante, traduisant une diffusion

élevée. Dans un **tissu sain**, habituellement, les cellules ont une taille normale permettant ces **déplacements libres**. On parle de « **mobilité** », phénomène traduit par un **hyposignal** IRM observable en noir sur les clichés. Dans le cas des **lésions excitotoxiques** que nous avons effectuées, on observe un gonflement des cellules formant des obstacles qui s'opposent aux déplacements libres : c'est l'**œdème cytotoxique**. Ce phénomène entraîne une réduction de l'agitation moléculaire traduisant une diffusion plus faible. On parle d'« **immobilité** », phénomène traduit par un **hypersignal** IRM observable en blanc sur les clichés.

La **séquence T2WI**, *Figure 48*, se base, sur les différences de temps de relaxation transversale (T2) des tissus. Le T2 est la conséquence d'une interaction des protons entre eux. Ainsi le T2 dans le liquide céphalo-rachidien est plus élevé que dans la matière grise, qui est lui-même plus élevé que dans la matière blanche. Cela se traduit sur les images pondérées en T2 par un hypersignal pour le liquide céphalo-rachidien et un signal moins élevé dans la matière grise et un hyposignal dans la matière blanche. En cas d'**œdème vasogénique**, comme induit après une lésion excitotoxique, la **barrière hémato-encéphalique** (BHE) va devenir plus **perméable** permettant l'**augmentation** des interactions entre **protons** par l'augmentation de l'échange d'eau. Cela se traduira par un **hypersignal** sur les images pondérées T2.



2.2. Résultats

Que ce soit par la séquence DWI (i.e. image pondérée en diffusion) ou la séquence T2WI (i.e. image pondérée en T2), nous avons obtenu des clichés mettant en évidence la présence ou l'absence de l'hypersignal représentatif d'un œdème, respectivement cytotoxique ou vasogénique. Cependant, les images pondérées en diffusion montrent un hypersignal moins intense que celles pondérées en T2. Ainsi, nous avons déterminé le volume de l'hypersignal à l'aide des images pondérées en T2.

Sur la *Figure 49*, nous pouvons observer les images pondérées en diffusion (gauche) et en T2 (milieu), ainsi que la photographie correspondante de l'immunomarquage de la protéine NeuN (droite). Ces clichés nous permettent d'observer que lorsqu'il n'y a **aucun hypersignal** à l'IRM, que ce soit en diffusion ou en T2, nous ne retrouvons **aucune lésion excitotoxique** à l'histologie, *Figure 49A*. À l'inverse, lorsque nous observons un **hypersignal** plus ou moins intense à l'IRM, que ce soit en diffusion ou en T2, nous retrouvons une **lésion excitotoxique** plus ou moins grande à l'histologie, *Figure 49B-H*. Ainsi, ces premières observations suggèrent que les séquences employées pour cette IRM anatomique permettent la **détection spécifique** de la lésion excitotoxique des noyaux ReRh.

De plus, lorsque nous observons un **hypersignal mal localisé** à l'IRM, que ce soit en diffusion ou en T2, nous retrouvons une **lésion excitotoxique mal placée** à l'histologie, *Figure 49B*. Ainsi, les séquences employées pour cet IRM anatomique permettent la **détection spécifique de la localisation spatiale** de la lésion excitotoxique des noyaux ReRh.

Cependant, lorsque nous observons une **petite lésion** sur les coupes histologiques, il est possible d'avoir observé au préalable un **signal IRM intense** (volume important), *Figure 49C*, ou à l'inverse **léger** (volume faible), *Figure 49D*. En effet, l'hypersignal de la *Figure 49C* représente un volume de $8,496\text{mm}^3$ alors que celui de la *Figure 49D* est de $0,864\text{mm}^3$. Ces observations sont aussi vraies pour les lésions de bonne taille, *Figure 49E* ($17,568\text{mm}^3$) - *F* ($8,688\text{mm}^3$), ou grosses, *Figure 49G* ($17,152\text{mm}^3$) - *H* ($47,808\text{mm}^3$). Ainsi, les séquences employées pour cet IRM anatomique **ne permettent pas** d'évaluer précisément l'**étendue des lésions excitotoxiques** des noyaux ReRh. Enfin, le **volume** présente une certaine **variabilité interindividuelle**. En effet, ce dernier varie de $0,664\text{mm}^3$ à $47,808\text{mm}^3$ avec une valeur moyenne de $13,104\text{mm}^3$.

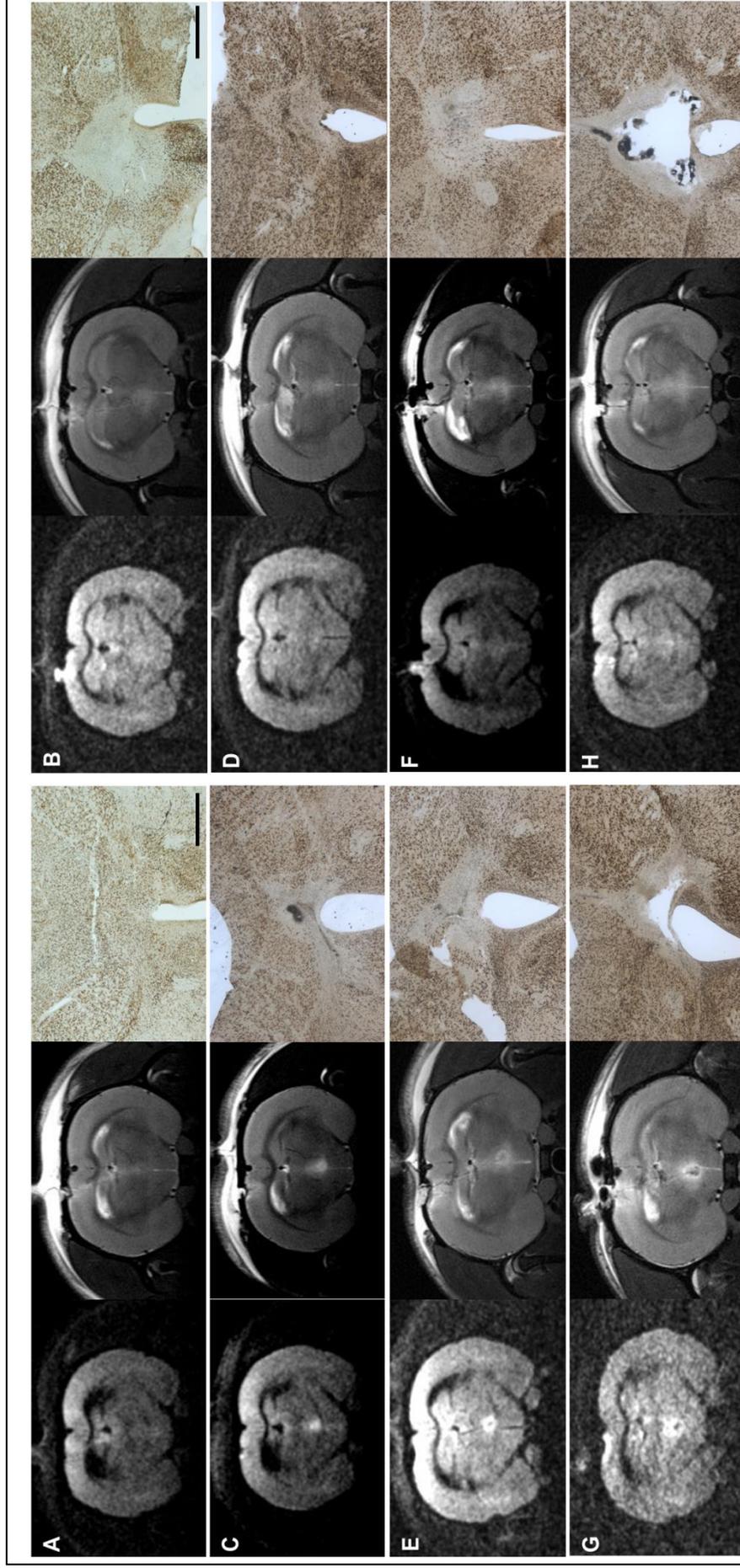


Figure 49 : Comparaison Hypersignal visualisé en IRM vs Lésion visualisée par immunomarquage de la protéine NeuN. Pour chaque groupe d'images (A, B, C, D, E, F, G, H) : image obtenue par la séquence DWI (gauche), image obtenue par la séquence T2WI (milieu), photographie de coupe après immuno marquage de la protéine NeuN (droite). (A) Exemple d'un rat non lésé, (B) Exemple d'un rat dont la lésion est décalée vers la gauche, (C) Exemple d'un rat présentant une petite lésion mais un hypersignal IRM important, (D) Exemple d'un rat présentant une petite lésion avec un hypersignal IRM léger, (E) Exemple d'un rat présentant une bonne lésion mais un hypersignal IRM important, (F) Exemple d'un rat présentant une bonne lésion avec un hypersignal IRM plus léger, (G) Exemple d'un rat présentant une grosse lésion mais un hypersignal IRM important, (H) Exemple d'un rat présentant une grosse lésion avec un hypersignal IRM plus léger. Echelle : 0,5 mm.

DISCUSSION GENERALE
ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette thèse était d'étudier le **rôle** des noyaux **reuniens et rhomboïde** du thalamus dans la **plasticité structurale** corticale et hippocampique nécessaire à la **persistance** d'un souvenir **spatial** chez le Rat. Cette étude s'est appuyée sur des approches comportementales et histologiques comprenant la lésion excitotoxique des noyaux ReRh, la tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris, et l'imagerie quantitative des épines dendritiques visualisées par imprégnation de Golgi.

Ces travaux pointent **cinq faits essentiels**. Tout d'abord, comme déjà démontré auparavant, **la lésion ReRh** n'impacte ni l'apprentissage, ni le rappel d'un souvenir récent (5 jours), mais **altère** celui d'un **souvenir ancien** (25 jours). Deuxièmement, de manière générale, l'**apprentissage** d'une tâche comportementale entraîne une **augmentation** du nombre d'**épines dendritiques**, notamment de types *mushroom*, dans les structures cérébrales nécessaires à la réalisation de la tâche. Troisièmement, les résultats originaux obtenus pour la sous-région CA1 de l'**HIPd** montrent, pour la **première fois**, que ce dernier est impliqué dans la consolidation systémique d'un **souvenir spatial ancien** (i.e., sans désengagement au cours du temps). Quatrièmement, le **déficit de rappel du souvenir ancien**, induit par la lésion ReRh à 25 jours post-acquisition, est **associé** à un **déficit** du nombre d'**épines dendritiques**, notamment de type *mushroom*, dans l'HIPd et le CPFm. Pour finir, ce sont spécifiquement le **CCA** (pour le CPFm) et la sous-région **CA1** (pour l'HIPd) qui sont impliqués dans la **consolidation systémique** d'un souvenir spatial chez le Rat.

Au terme de ce travail, la discussion générale abordera quatre grands points. Le premier concernera les modulations de la densité des épines dendritiques qui sous-tendent la mémoire. Le deuxième sera consacré à l'impact de la lésion ReRh sur la persistance du souvenir spatial. L'implication spécifique du CCA et de la sous-région CA1 sera le sujet du troisième point. Puis, nous aborderons l'implication des noyaux ReRh dans les différentes étapes du processus de construction du souvenir pour, enfin, conclure cette thèse et proposer quelques perspectives.

1. Plasticité structurale

La **consolidation** au sens large comprend deux phénomènes étroitement liés que sont la consolidation **synaptique** et la consolidation **systémique**. Le premier **regroupe** l'ensemble des **processus** (cascades intracellulaires, activation de gènes, synthèses protéiques, etc...) s'effectuant à l'échelle de la **synapse**. Ainsi, comme nous l'avons déjà abordé au cours de ce manuscrit, une **modification de la morphologie** des synapses ou de leur connectivité est appelée **plasticité structurale**. Les **épinés dendritiques**, **petites protubérances** dans l'arborisation dendritique des neurones et **support** de nombreuses **synapses** notamment **excitatrices** (Moser, 1999), sont le **marqueur majeur** de la **plasticité structurale** et le **substrat anatomique** de la formation et du stockage d'une **mémoire** (Engert et Bonhoeffer, 1999 ; Sala et Segal, 2014. Hayashi et al., 2015). La **consolidation systémique** s'effectue de manière **parallèle** et **séquentielle** à la consolidation synaptique (Diekelmann et Born, 2010). Ainsi, l'étude de la densité des épinés dendritiques permettrait de suivre physiquement le souvenir spatial au sein des structures cérébrales.

1.1. Plasticité structurale et mémoire

De manière générale, nous avons pu observer que, chez les tous animaux **ayant subi la tâche comportementale**, le nombre d'**épinés dendritiques**, notamment de type *mushroom*, était **augmenté** dans des régions nécessaires à la tâche. Ainsi, ce résultat suggère que la **formation de nouvelles épinés dendritiques** suite à un **apprentissage** est une modification qui témoigne de la **réorganisation** de certaines connexions dans l'HIP et le CPFm.

Plusieurs études ont déjà démontré un tel lien par le passé. Par exemple, Restivo et collaborateurs ont mis en évidence la formation d'épinés dendritiques dans la sous-région CA1 et le CCA suite à une tâche de mémoire associative. Pour cela, ils ont effectué un conditionnement de peur au contexte chez la Souris avec un test de rétention à 1 jour (souvenir récent) ou à 36 jours (souvenir ancien). Ils ont, ensuite, évalué l'impact de cet apprentissage sur la densité d'épinés dendritiques à l'aide d'une imprégnation de Golgi. Ainsi, ils ont observés que chez les rats conditionnés la densité d'épinés dendritiques était augmentée dans la sous-région CA1 au délai récent alors qu'elle était augmentée dans le CCA au délai ancien uniquement (Restivo et al., 2009). Une autre étude de la même équipe a

confirmé les données obtenues pour le CCA (Aceti et al., 2015) soutenant l'idée que l'apprentissage d'un conditionnement de peur engendre un remodelage des connexions neuronales. Avec notre étude en piscine de Morris, nos résultats étendent ces observations à la mémoire spatiale qui induit la formation d'épines dans CA1 dorsal au temps de mémoire récente et au CCA au temps de mémoire ancienne. Cependant, ils montrent également un nouvel aspect de cette consolidation au niveau des systèmes, en identifiant la formation d'épines dendritiques dans l'HIPd au temps de mémoire ancienne quand celle-ci est de nature spatiale.

Mais ce remodelage est-il nécessaire à la consolidation et au stockage d'un souvenir ? Pour répondre à cette question, Vetere et collaborateurs ont injecté, chez la Souris, un inhibiteur de la spinogénèse (i.e. MEF2), et ce directement dans le CCA, soit 1 jour (phase précoce), soit 42 jours (phase tardive) après un conditionnement de peur au contexte. Ils ont ensuite évalué l'impact de cette inhibition à la fois sur les performances de rappel (i.e. test de rétention soit à 8 jours soit 49 jours post-acquisition) et sur la densité d'épines dendritiques dans le CCA. Les auteurs ont observé que l'injection précoce de MEF2 engendrait un déficit de mémoire lors des tests de rétention que ce soit à 8 jours ou 49 jours. Ce déficit est associé à une diminution significative du nombre d'épines dendritiques dans le CCA. À l'inverse, une injection tardive de MEF2 n'avait aucun impact sur la mémoire ou la densité des épines dendritique à 49 jours (Vetere et al., 2011) Premièrement, ces données suggèrent que les épines dendritiques ne sont pas seulement une conséquence physiologique de l'apprentissage, mais qu'elles sont aussi le support physique de nos souvenirs. Deuxièmement, ces résultats démontrent que ces remodelages structuraux interviendraient précocement dans le processus de consolidation (i.e. à partir de 24 heures). En regard de nos expériences, nos données montrant une augmentation d'épines dendritiques dans CA1 25 jours après l'apprentissage suggèrent qu'une trace se forme et persiste dans l'HIPd en réponse à l'apprentissage spatial.

Cependant, les techniques employées pour ces études ne permettent qu'une mise en évidence globale du phénomène dans une structure donnée. En effet, le comptage des épines dendritiques est effectué sur des neurones colorés et choisis de manière aléatoire sans pour autant savoir s'ils sont impliqués ou non dans la trace qui se forme au cours de l'apprentissage. Ainsi, d'autres études ont mené des analyses plus précises au niveau subcellulaire afin de savoir si les neurones activés par l'apprentissage sont ceux qui forment

des épines dendritiques ou non. Pour cela, Sanders et collaborateurs ont employé des souris transgéniques exprimant la protéine de fusion GFP-GluR1 sous le contrôle du promoteur du gène *c-fos*. GluR1 est intégré dans les membranes des épines dendritiques et est donc un marqueur durable des épines identifié grâce à la GFP. Le contrôle par le promoteur *c-fos* permet d'assurer l'expression de cette protéine de fusion spécifiquement dans les neurones activés au cours de l'apprentissage. Les animaux sont mis à mort 24 heures après un conditionnement de peur au contexte et le comptage des épines dendritiques est effectué à l'aide d'une immunohistochimie fluorescente dirigée contre la GFP. Les auteurs ont observé, par microscopie confocale, que le conditionnement de peur associé au contexte entraîne une perte significative des épines limitée aux neurones actifs lors de l'apprentissage. Cette perte n'apparaît pas chez les animaux « *Home Cage* » ni chez les animaux associés au contexte seulement, alors que les animaux contrôles pseudoconditionnés (i.e. choc électrique non associé à un contexte spécifique) montrent également une élimination d'épines dendritiques touchant cette fois tous les neurones (neurones inactifs et neurones actifs). Les auteurs émettent l'hypothèse que la diminution du nombre d'épines dendritiques observée dans cette dernière condition serait le reflet d'une élimination induite par le stress (e.g. Michelsen et al., 2007; Chen et al., 2010; Bloss et al., 2011; Chen et al., 2012) et que lorsque le conditionnement est associé au contexte, alors la diminution spécifique dans les neurones activés uniquement se ferait par compensation adaptative dans le but de raffiner la connectivité synaptique et l'insertion des récepteurs glutamate. Seuls les nouvelles épines pouvant intégrer les récepteurs AMPA nouvellement synthétisés seraient gardées pour renforcer le réseau (Sanders et al., 2012). Il faut noter que ces expériences ont été réalisées dans CA1 dorsal 24 heures après le conditionnement de peur.

Cela peut sembler en contradiction avec nos résultats ainsi que les études que nous venons d'explicitier. Cependant, une seconde étude employant un système différent mais basée sur le même principe d'étiquetage neuronal n'a pas fourni les mêmes résultats. En effet, Ryan et collaborateurs ont employé des souris transgéniques exprimant la protéine de fusion ChR2-EYFP sous le contrôle du promoteur du gène *c-fos*. Comme précédemment, la présence de ce dernier permet d'assurer l'expression de la protéine spécifiquement dans les neurones activés au cours de l'apprentissage. Après avoir subi un conditionnement de peur au contexte, les animaux reçoivent une injection saline (SAL) ou d'anisomycine (ANI) 24 heures post acquisition et sont mis à mort 24 heures après (i.e. 48 heures post acquisition). Le comptage des épines dendritiques est ensuite effectué sur les neurones actifs au cours de l'apprentissage

à l'aide d'un colorant fluorescent (i.e. biocytine). Les auteurs ont observé, par microscopie confocale, que chez les animaux conditionnés contrôles (SAL) le nombre d'épines dendritiques est augmenté par l'apprentissage d'une mémoire de peur dans le DG. En revanche, chez les animaux conditionnés traités (ANI) il n'y a pas de modulation de la densité des épines dendritiques dans le DG (Ryan et al., 2015). Ainsi, cette étude montre qu'il y a bien une formation d'épines dendritiques suite à un conditionnement de peur, mais que cette dernière aurait plutôt lieu entre 24 heures et 48 heures. L'étude précédente se plaçant au délai de 24 heures, cela pourrait peut-être en partie expliquer les résultats contradictoires observés. L'ensemble de ces expériences nous apprend donc que les épines dendritiques peuvent effectivement se former suite à un conditionnement de peur, mais qu'au délai le plus court (24 heures), c'est plutôt l'effet du stress et une élimination des épines qui est visible au niveau global, même si des épines sont sélectionnées pour former la trace à ce temps d'investigation, alors qu'à un délai plus long (48 heures), l'augmentation des épines en lien avec l'apprentissage peut être objectivé plus facilement. Il est maintenant admis que les réarrangements synaptiques et en particulier la formation d'épines de type *mushroom* nécessaires à la consolidation à long terme d'une mémoire nécessite 1 à 4 jours pour être stabilisés (pour revue Caroni et al., 2014).

En ce qui concerne la mémoire spatiale, une étude récente du laboratoire (Chatterjee et al., 2018) a montré que le nombre d'épines dendritiques de type *mushroom* était augmenté 4 jours après l'apprentissage d'une tâche spatiale en piscine de Morris (4 jours d'acquisition) dans les neurones pyramidaux de la sous-région CA1 chez des souris WT. Nos données obtenues 5 et 25 jours après un apprentissage spatial chez le rat montrent que cet apprentissage entraîne la formation d'épines dendritiques de type *mushroom* dans des structures impliquées dans la tâche comportementale. Ainsi, en accord avec la littérature, nous pouvons en conclure que cette **augmentation** du nombre d'**épines dendritiques reflète** le **réarrangement structural nécessaire** à la formation de la **mémoire** au niveau des **systèmes**. Nous allons maintenant discuter de manière plus approfondie l'implication de l'HIPd dans le stockage d'un souvenir spatial.

1.2. Implication de l'HIPd dans le stockage d'un souvenir spatial

Nous avons montré, chez les rats Sham, i) que le nombre d'**épines dendritiques** de types *thin et stubby* et de type *mushroom* était **augmenté à 5 jours** dans la sous-région **CA1** uniquement chez les rats ayant subi la tâche comportementale, ii) que cette augmentation se **maintenait à 25 jours** pour les épines de type *mushroom* chez ces mêmes animaux. Ainsi, nos données suggèrent, comme attendu, que la sous-région **CA1** serait **impliquée** dans le **stockage d'un souvenir récent** (5 jours), mais aussi dans celui d'un **souvenir ancien** (25 jours), au minimum dans le cas d'un souvenir de type spatial.

Pour qu'un souvenir soit maintenu dans le temps, celui-ci doit être consolidé à l'échelle des systèmes. Cette consolidation systémique nécessite un dialogue entre les diverses structures cérébrales impliquées. Ce dialogue se traduit par l'activation et la réactivation des connexions hippocampo-corticales mises en jeu au moment de l'encodage (pour revue e.g. Frankland et Bontempi 2005 ; Winocur et al. 2010 ; Nadel et Hardt, 2010 ; Preston et Eichenbaum, 2013). Ces réactivations se produisent notamment au cours du sommeil, on parlera alors de réactivation « *off-line* » (Diekelmann et Born, 2010). L'activation des régions cérébrales impliquées dans le rappel du souvenir peut être mesurée par l'étude de l'expression de gènes immédiats précoces comme *c-fos* (Greenberg et Ziff, 1984). Par cette approche, il a été montré, au laboratoire, que quel que soit le délai (récent ou ancien), le rappel du souvenir spatial engendrait une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans la région CA1 de l'HIPd (Lopez et al 2012 ; Klein, Cholvin et al, soumis). Ces résultats suggèrent que quel que soit l'âge du souvenir, l'HIPd, et plus particulièrement sa sous-région CA1, est impliqué dans le rappel du souvenir spatial. Ces données viennent soutenir les résultats obtenus pour l'analyse des épines dendritiques montrant que non seulement l'HIPd est impliqué au cours du rappel, mais qu'en plus de cela il représente un lieu de stockage privilégié d'une partie au moins du souvenir spatial ancien. Ces mêmes données font aussi écho à des données précédentes obtenues au laboratoire qui ont montré que l'inactivation de l'HIPd empêchait le rappel d'un souvenir spatial récent comme ancien (Lopez et al., 2012 ; Cholvin et al 2013).

En revanche, l'ensemble de ces données ne semble pas tout à fait en accord avec une partie de la littérature existante. En effet, selon la théorie standard de la consolidation, il y aurait un désengagement progressif de l'HIP au cours du temps au profit du CPFm (Marr,

1970). Divers articles ont d'ailleurs pu apporter des preuves à l'appui de cette hypothèse. Par exemple, Frankland et collaborateurs ont effectué, chez la Souris, un conditionnement de peur au contexte avec un test de rétention en mémoire récente (1 jour) ou ancienne (30 jours). Ils ont ensuite évalué l'expression de deux protéines ZIF et cFOS reflétant l'activation neuronale. Ainsi, ils ont observé une augmentation du nombre de cellules cFOS positives et ZIF positives lors du rappel d'un souvenir récent, mais pas lors de celui d'un souvenir ancien dans la région CA1 (Frankland et al., 2004). Toujours chez la Souris, Maviel et collaborateurs ont entraîné des souris à retrouver la branche appâtée dans un labyrinthe à 5 branches puis ont, eux aussi, étudié l'expression des protéines cFOS et ZIF. Leur étude a dévoilé des résultats identiques à ceux de l'étude précédente. De plus, ces auteurs ont montré que l'inactivation de l'HIP (i.e. instillation de lidocaïne) juste avant le test de rétention entraînait un déficit de mémoire lors du rappel d'un souvenir récent mais pas lors de celui d'un souvenir ancien (Maviel et al., 2004). Enfin, plus récemment, l'équipe de Bontempi a publié des données semblables chez le Rat dans une tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire (Lesburguères et al., 2011). Ainsi, ces résultats suggèrent bien que l'HIP est impliqué dans le rappel d'un souvenir récent mais pas dans celui d'un souvenir ancien dans le cadre d'une tâche de conditionnement de peur au contexte ou d'une transmission sociale d'une préférence alimentaire.

En suivant l'apparition des épines dendritiques (comme nous l'avons vu au chapitre précédent-, Restivo et collaborateurs ont montré que, chez la Souris, le conditionnement de peur engendre une forte augmentation de la densité des épines dendritiques dans les neurones pyramidaux de la région CA1 à 1 jour uniquement. En effet, au moment du rappel d'un souvenir ancien (36 jours), la densité des épines dendritiques tendait à retrouver le niveau basal (Restivo et al., 2009). Ainsi, ces données suggèrent que le stockage d'un souvenir récent mais pas d'un souvenir ancien s'effectue dans l'HIP, et plus particulièrement dans la sous-région CA1. Ceci est en accord avec les études citées précédemment et vient soutenir la théorie standard de la consolidation.

Nos résultats montrant l'implication de l'HIPd dans le stockage d'un souvenir récent sont totalement en adéquation avec la littérature présente à ce sujet. Cependant, nos résultats montrant pour la première fois l'implication de l'HIPd dans le stockage d'un souvenir ancien sont en contradiction avec cette même littérature. Il faut noter qu'au sein de notre projet, réside une différence majeure par rapport aux études évoquées : la tâche comportementale

employée. En effet, la tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris est un test comportemental avec une composante spatiale très importante (navigation spatiale, tâche complexe) nécessitant probablement une implication plus importante et essentielle de l'HIP (notamment de CA1 présentant des cellules de lieux) en comparaison d'une tâche de conditionnement de peur au contexte, dont la composante spatiale est moindre, ou d'une tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire, dont la composante spatiale est inexistante. En revanche, des études ayant utilisées une tâche spatiale vont dans le sens de nos résultats en montrant que l'expression de la protéine cFOS est aussi augmentée dans l'HIP lors du rappel d'un souvenir ancien que ce soit lors d'une mémoire spatiale en piscine de Morris (e.g. [Teixeira et al., 2006](#) ; [Lopez et al., 2012](#)) ou en labyrinthe radial ([Schlesiger et al., 2013](#)).

1.3. Implication du CPFm dans le stockage d'un souvenir spatial

Chez les rats Sham, nous avons montré que le nombre d'**épinés dendritiques** de type *mushroom* était **augmenté à 25 jours** dans le **CCA** uniquement chez les rats ayant subi la tâche comportementale. Ainsi, ces résultats suggèrent comme attendu que le **CPFm**, et plus particulièrement le **CCA**, serait impliqué dans le **stockage d'un souvenir ancien** (25 jours) dans le cas d'un souvenir de type spatial, comme pour un souvenir non spatial (e.g. [Restivo et al., 2009](#) ; [Lesburguères et al., 2011](#)).

Tout comme pour l'HIPd, l'étude de l'expression de la protéine cFOS dans le contexte d'une mémoire spatiale a été effectuée pour le CPFm au laboratoire. Il a été montré que quel que soit le délai (récent ou ancien), le rappel du souvenir spatial engendrait une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans le CCA ([Klein, Cholvin et al, soumis](#)). Ces résultats suggèrent que quel que soit l'âge du souvenir, le CPFm, et plus particulièrement le CCA, est impliqué dans le rappel du souvenir spatial. Ces données ne sont pas tout à fait en adéquation avec les résultats obtenus pour l'analyse des épinés dendritiques montrant que le CPFm est impliqué uniquement dans le stockage d'un souvenir ancien. Cependant, ces deux analyses n'ont pas pour objectif de démontrer la même chose. En effet, l'analyse de gènes précoces que nous avons effectuée est une étude permettant de mettre en évidence les structures activées lors du rappel. En revanche, l'analyse des épinés dendritiques permet de mettre en évidence les structures où sont stockés les souvenirs au cours de la consolidation systémique. Ainsi, il est tout à fait probable que le CPFm soit activé lors du rappel d'un

souvenir récent (i.e. augmentation du nombre de cellules cFOS positive) sans que la trace mnésique n'y soit encore stockée (i.e. augmentation du nombre d'épines dendritiques). Ces données sont d'ailleurs en accord avec d'autres données obtenues précédemment au laboratoire montrant une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans le CCA au rappel d'un souvenir spatial (piscine de Morris) que ce soit 5 jours ou 25 jours post acquisition (Lopez et al., 2012).

Si nous reprenons les deux études du groupe de Frankland, la première montre une augmentation du nombre de cellules cFOS positive et ZIF268 positive dans la région de CPFm lors du rappel d'un souvenir ancien, mais pas lors de celui d'un souvenir récent (Frankland et al., 2004). Dans la seconde, les auteurs ont obtenu les mêmes résultats et ont aussi montré que l'inactivation du CPFm (i.e. instillation de lidocaïne) n'impacte pas le rappel d'un souvenir récent, mais altère le rappel d'un souvenir ancien (Maviel et al., 2004). Enfin, l'étude de Teixeira et collaborateurs effectuée chez la Souris en piscine de Morris (Teixeira et al., 2006), ou celle de Lesburguères et collaborateurs chez le Rat dans une tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire (Lesburguères et al., 2011), viennent encore soutenir ces données. Enfin, Aceti et collaborateurs, montrent chez la Souris, qu'au cours de la consolidation d'une mémoire de peur, l'implication du CCA augmenterait au fur et à mesure que la mémoire mûrit. En effet, ces auteurs ont observé que le nombre de cellules cFOS positives dans le CCA augmentait au cours du temps (Aceti et al., 2015). Ainsi, ces résultats suggèrent que le CPFm est impliqué dans le rappel d'un souvenir ancien, mais pas dans celui d'un souvenir récent dans le cadre d'une tâche de conditionnement de peur au contexte. Ces données vont à l'encontre des données que nous avons obtenues pour l'analyse de gènes précoces. Des différences dans le modèle animal (souris vs rat) et/ou la tâche comportementale (conditionnement de peur vs piscine de Morris) pourraient être à l'origine de ces variations.

Cependant, certaines études plus récentes tendent à montrer une implication précoce du CPFm dans les processus de mémorisation (e.g. Blum et al., 2006 ; Lee et Solivan, 2008 ; Lesburguère et al., 2011 ; Gonzalez et al., 2013). Ainsi, le CPFm pourrait être impliqué dans le rappel d'une mémoire récente de par son rôle prépondérant dans les fonctions exécutives et notamment le contrôle exécutif au cours du rappel (e.g. Leon et al., 2010 ; Gonzalez et al., 2013). Blum et collaborateurs ont effectué du conditionnement de peur au son chez le Rat avec un test de rétention à 2 jours ou 30 jours. L'inactivation du CPFm (i.e. instillation de

muscimol) entraîne des déficits de mémoire lors du rappel d'un souvenir récent et ancien (Blum et al., 2006). Gonzalez et collaborateurs ont obtenu des données similaires dans une tâche d'évitement passif (Gonzalez et al., 2013), et Lee et Solivan dans une tâche d'appariement spatial dans un labyrinthe radial (Lee et Solivan, 2008). De plus, Lesburguères et collaborateurs ont étudié, chez le Rat, l'implication du cortex orbitofrontal (OFC) au cours d'une tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire, en réalisant un test de rétention à 1 jour (souvenir récent) ou 30 jours (souvenir ancien). Premièrement, lors de l'étude de l'expression de la protéine cFOS 1h après l'acquisition de la tâche, les auteurs observent une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans l'OFC, suggérant que ce dernier est impliqué au cours de l'encodage du souvenir. Deuxièmement, ils ont évalué l'impact d'une inactivation chronique de l'OFC au cours de la phase précoce de la consolidation (de 0 à 12 jours après l'acquisition de la tâche) sur le rappel du souvenir ancien (30 jours). Cette inactivation précoce a engendré un déficit de mémoire à 30 jours ainsi qu'une diminution de la densité des épines dendritiques dans l'OFC à 30 jours. Enfin, l'inactivation de l'OFC avant l'acquisition de la tâche entraîne un déficit de mémoire à 30 jours ainsi qu'une diminution du nombre d'épines dendritiques dans l'OFC à ce délai. Ainsi, les auteurs concluent que l'activation et l'étiquetage corticaux précoces sont des processus essentiels à la stabilisation de la trace mnésique (Lesburguères et al., 2011). Enfin, au sein du laboratoire, une étude précédente pointe aussi l'implication du CPFm dans le rappel d'un souvenir récent. Pour cela, les auteurs ont effectué un test de mémoire spatial en piscine de Morris chez le Rat. Ils ont, ensuite, évalué l'impact d'une inactivation fonctionnelle (instillation de muscimol) du CPFm sur le souvenir récent (1 jour) et l'expression de la protéine cFOS. Ainsi, ils ont observé que l'inactivation du CPFm (250ng de muscimol) engendrait non seulement une diminution importante du nombre de cellules cFOS positives dans les 3 sous-régions du CPFm (attendue suite à une inactivation de la structure) mais surtout un déficit de mémoire lors du rappel récent. (Cholvin et al., 2016).

Concernant les épines dendritiques dans le CPFm, Restivo et collaborateurs ont montré que, chez la Souris, le conditionnement de peur engendrait une forte augmentation de la densité des épines dendritiques dans les neurones pyramidaux du CCA au rappel d'un souvenir ancien (36 jours). En revanche, au rappel d'un souvenir récent (1 jour), la densité des épines dendritiques reste inchangée (Restivo et al., 2009). Cette même équipe de recherche a fourni d'autres données plaçant le CCA au cœur de la mémoire à long terme ancienne. En effet, étudiant plus en détail le lien entre cette augmentation et la formation de la mémoire, les

auteurs ont évalué l'impact de l'inhibition de la spinogénèse dans le CCA sur la mémoire de peur. Comme nous l'avons vu précédemment, les auteurs ont montré que l'injection précoce de MEF2 engendrait un déficit de mémoire lors des tests de rétention quel que soit le délai (8 jours ou 49 jours). Ce déficit est associé à une diminution significative du nombre d'épines dendritiques dans le CCA. Ainsi, les remodelages structuraux interviendraient précocement dans le processus de consolidation. Les auteurs en concluent que ces données renforcent le lien de causalité entre les remodelages structuraux intervenant dans le CCA et la consolidation systémique, tout en plaçant MEF2 au rang de régulateur-clé dans la machinerie moléculaire assurant ces modifications (Vetere et al., 2011). L'ensemble de ces données pointent vers la mise en place de changements structuraux spécifiques au sein du CPFm dans le cadre de la consolidation systémique d'un souvenir de peur, tout comme nous avons pu le montrer pour la première fois au cours de notre expérience pour un souvenir spatial.

En revanche, l'équipe de Bontempi a obtenu des données plus nuancées. En effet, au cours de leur tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire, ces auteurs ont observé une augmentation du nombre d'épines dendritiques à la fois au délai récent (1 jour) et au délai ancien (30 jours) dans l'OFC (Lesburguères et al., 2011). Cependant, de nombreuses différences existent entre nos deux expériences. Notamment, des différences dans la tâche comportementale qu'ont subi les animaux, ainsi que la structure corticale étudiée au cours de l'expérience ou encore la souche de rat employée.

2. Impact de la lésion ReRh sur la plasticité structurale nécessaire à la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat

2.1. Approche comportementale : tâche de mémoire spatiale

Malgré l'implication de plus en plus reconnue d'une partie du thalamus dans la mémoire (pour revue Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2015), le rôle spécifique de ses différents noyaux dans les processus cognitifs n'est pas encore complètement élucidé. Les études ont commencé à s'intéresser aux noyaux antérieurs (e.g. Aggleton et al., 1996 ; Mitchell et Dalrymple-Alford, 2006 ; Tsanov et al., 2011 ; Harland et al., 2014), noyaux intralaminaires (e.g. Mair et al., 1998 ; Newman et Burk, 2005 ; Lopez et al., 2009) ou encore au noyau médiodorsal (e.g. Dolleman Van der Weel et al., 2009 ; pour revue Mitchell, 2015).

Ces dernières années l'intérêt pour les noyaux ReRh s'est intensifié, donnant lieu à un nombre d'articles de plus en plus important sur le sujet. En effet, ces noyaux thalamiques, de par leur position anatomique, sont particulièrement bien placés pour jouer un rôle-clé quand un dialogue entre l'HIP et le CPFm est nécessaire (Vertes et al., 2007 ; Cassel et al., 2013). C'est au laboratoire que les premières données démontrant l'implication des noyaux ReRh au sein du circuit hippocampo-cortico-thalamique dans la persistance d'un souvenir spatial fut apportée (Loureiro et al., 2012). En effet, les auteurs ont mis en évidence que, chez le Rat, la lésion excitotoxique des noyaux ReRh n'empêche pas l'apprentissage de la localisation de la plateforme (piscine de Morris), ni son rappel en mémoire récente (5 jours), mais empêche son rappel en mémoire ancienne (25 jours). Au cours de cette thèse, nous avons obtenus des résultats étayant une conclusion identique. Ainsi, nos données renforcent celles obtenues précédemment et viennent s'ajouter aux preuves déjà existantes de l'implication des noyaux ReRh dans la consolidation d'une mémoire ancienne nécessitant un dialogue hippocampo-cortical (Frankland et Bontempi, 2005). Nos résultats concernant l'apprentissage et la mémoire récente (5 jours) sont également en accord avec une autre étude dans laquelle les auteurs ont montré que, lors d'une tâche de mémoire spatiale, la lésion des noyaux ReRh n'impacte ni l'apprentissage, ni le rappel au délai de 5 jours post-acquisition, au contraire de la lésion de l'HIP qui empêche l'apprentissage et le rappel de la mémoire spatiale (Dolleman-van der Weel et al., 2009).

2.2. Approche histologique : analyse des épines dendritiques

Pour le CPFm, nous avons montré i) que la **lésion des noyaux ReRh prévient l'augmentation** du nombre d'épines dendritiques de type *mushroom* due à l'apprentissage observée chez les rats contrôles dans le CCA, ii) qu'en condition basale, la **lésion des noyaux ReRh diminue** le nombre d'épines dendritiques quel que soit le type dans le PL, mais seulement au délai de **5 jours**, iii) que ce niveau rejoint celui des contrôles lors de la tâche comportementale dans le PL à 5 jours uniquement. Pour l'HIPd, nous avons montré i) qu'en condition basale la **lésion des noyaux ReRh diminue** le nombre d'épines dendritiques de type *thin et stubby* à **5 jours** dans la sous-région CA1 uniquement, ii) que la **lésion des noyaux ReRh abolit l'augmentation** du nombre d'épines dendritiques de type *mushroom* due à l'apprentissage observée chez les rats contrôles dans la sous-région CA1. Ainsi, ces

résultats suggèrent que **les noyaux ReRh** sont **essentiels** à la **mise en place** de la **plasticité structurale** corticale et hippocampique **nécessaire** à la **persistance** d'un souvenir spatial.

Tout d'abord, ces résultats sont en accord avec la baisse des performances de rétention observée chez les animaux lésés lors du rappel d'un souvenir spatial ancien. Il y a donc une corrélation entre le déficit de mémoire au délai de 25 jours et l'absence d'augmentation de la densité des épines dendritiques à ce même délai dans le CCA et la sous-région CA1. Le même type de corrélation 'déficit de mémoire/absence d'épines dendritiques' a déjà été montré pour le souvenir de la signification d'un contexte (e.g. [Vetere et al., 2011](#)).

Deuxièmement, l'étude de l'expression de la protéine cFOS effectuée au laboratoire montre que, pour le CPFm, l'augmentation de l'activité neuronale normalement observée au rappel d'un souvenir ancien est abolie chez les animaux porteurs d'une lésion ReRh dans le CCA ([Klein, Cholvin et al, soumis](#)). Ces résultats suggèrent que l'intégrité des noyaux ReRh est essentielle à l'activité du CCA permettant le rappel d'un souvenir ancien et viennent appuyer ceux obtenus pour l'analyse des épines dendritiques dans le CCA.

En revanche, pour l'HIPd, l'abolition de l'activité neuronale que nous venons de décrire pour le CCA n'a pas lieu dans la sous-région CA1, et ce quel que soit le délai. Ces résultats suggèrent que l'intégrité des noyaux ReRh ne serait pas essentielle à l'activation de la sous-région CA1 lors du rappel d'un souvenir ancien. Ces données pourraient sembler en contradiction avec celles obtenues pour l'étude des épines dendritiques montrant une abolition de l'augmentation du nombre d'épines dendritiques notamment de type *mushroom* dans la sous-région CA1 chez les rats lésés ayant subi la tâche comportementale. Cependant, comme nous l'avons déjà souligné plus haut, l'analyse de la densité des épines dendritiques et de l'expression de la protéine cFOS ne permettent pas d'observer les mêmes phénomènes. La piscine de Morris restant une tâche comportementale à forte composante spatiale, il est tout à fait possible que la région CA1 soit activée par la navigation spatiale effectuée par l'animal dans le dispositif (i.e., comme au cours de l'apprentissage). Ainsi, cette hypothèse pourrait expliquer l'absence d'abolition de l'activité dans CA1 par la lésion ReRh. En revanche, les épines dendritiques étant le support physique du souvenir de la localisation de la plateforme, la lésion ReRh abolit l'augmentation de la densité des épines dendritiques normalement observée et à priori nécessaire, avec l'augmentation de la densité des épines dendritiques dans le CCA, au rappel du souvenir spatial ancien. Enfin, une étude précédente menée au laboratoire a montré que l'inactivation du l'HIPd (i.e. instillation de lidocaïne ou muscimol)

juste avant le test de rétention empêchait les rats de rappeler l'emplacement de la plateforme que ce soit 1 jour, 5 jours ou 25 jours post-acquisition (Lopez et al., 2012 ; Cholvin et al 2013). Ainsi, ces données montrent la nécessité de l'HIPd pour un souvenir spatial quel que soit son âge et viennent soutenir nos résultats de l'analyse des épines dendritiques.

Les souvenirs ne sont pas acquis immédiatement dans leur forme définitive mais subissent un processus progressif de stabilisation au cours du temps. Ce processus requiert un dialogue réciproque entre l'HIP et le CPFm. Cependant, alors que l'HIP projette de manière directe vers le CPFm par une voie monosynaptique (Thierry et al., 2000), cela n'est pas le cas en sens inverse (Jay et Witter, 1991 ; Vertes, 2004 ; Vertes et al., 2006). Ce dialogue ne pouvant avoir lieu directement, il y a donc nécessité d'un relais entre le CPFm et l'HIP. Les noyaux ReRh du thalamus sont idéalement positionnés pour endosser ce rôle de relai, et peut-être même de coordinateur fonctionnel entre le CPFm et l'HIP. En effet, ces noyaux possèdent des projections réciproques denses avec l'HIP et le CPFm (Vertes et al., 2006 ; Vertes et al., 2010), mais surtout, ils possèdent des neurones projetant sur ces deux structures simultanément (Hoover et Vertes, 2012 ; Varela et al., 2014). De plus, ils sont capables de moduler l'activité de l'HIP (e.g. Dolleman-Van Der Weel, 1997 ; Bertram et Zhang, 1999) et du CPFm (Di Prisco et Vertes, 2006 ; Eleore et al., 2011). Ils sont aussi capables de moduler la synchronisation des oscillations cérébrales nécessaires à l'apprentissage (Hartung et al., 2016 ; Hallock et al., 2016 ; Roy et al., 2017 ; Ferraris et al., 2018). Enfin, à l'heure actuelle, un grand nombre d'études a montré leur implication dans diverses sortes de mémoires comme la mémoire de travail (e.g. Hembrook et al., 2012 ; Layfield et al., 2015 ; Hallock et al., 2016 ; Viena et al., 2018), la mémoire associative (e.g. Davoodi et al., 2011 ; Xu et Südhof, 2013 ; Troyner et al., 2018) ou encore la mémoire spatiale à long terme (e.g. Dolleman Van der Weel et al., 2009 ; Loureiro et al., 2012). L'ensemble de cette littérature vient étayer nos résultats et suggère une implication importante des noyaux ReRh dans les processus de mémorisation nécessitant une action conjointe du CPFm et de l'HIP, et, dans notre cas spécifiquement, dans la consolidation systémique d'un souvenir spatial. Récemment, Vetere et collaborateurs ont apporté une preuve supplémentaire de l'implication du noyau Re dans la consolidation systémique. Ces derniers effectuent un conditionnement de peur chez la Souris et évaluent l'impact d'une inactivation des noyaux ReRh (i.e. DREADD) au cours de la consolidation. Ainsi, l'inhibition chronique des noyaux ReRh immédiatement après la phase d'acquisition empêche le rappel d'un souvenir de peur au délai de 10 jours (Vetere et al., 2017).

Comme nous avons pu le voir, selon la tâche comportementale employée (e.g. transmission sociale d'une préférence alimentaire, conditionnement de peur, tâche de mémoire spatiale) les structures cérébrales nécessaires ne sont pas systématiquement les mêmes (e.g. OFC vs CCA, ou implication préférentielle de l'amygdale). En revanche, la nécessité d'un dialogue entre l'HIP et le cortex ne fait aucun doute. L'effet à distance d'une lésion thalamique sur la plasticité synaptique au sein du circuit hippocampo-cortical a déjà été démontré (e.g. [Garden et al., 2009](#) ; [Lopez et al., 2009](#) ; [Harland et al., 2014](#)). Ainsi, dans la première étude les auteurs montrent que, chez le Rat, la lésion des noyaux antérieurs du thalamus entraîne une perte de la plasticité synaptique à long terme (LTD), soit 8 à 10 semaines post-lésion, dans le cortex rétrosplénial ([Garden et al., 2009](#)). Dans la seconde, les auteurs montrent que, chez le Rat, la lésion des noyaux intralaminaires du thalamus n'impacte ni l'apprentissage d'une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris, ni son rappel récent, mais elle empêche son rappel ancien ([Lopez et al., 2009](#)). Enfin, dans la troisième, les auteurs montrent que, chez le Rat, la lésion des noyaux antérieurs du thalamus entraîne un déficit de mémoire spatiale corrélée à une diminution du nombre d'épines dendritiques à la fois dans l'HIP et dans le cortex rétrosplénial suite à l'apprentissage d'une tâche de mémoire spatiale en labyrinthe radial ([Harland et al., 2014](#)).

L'**absence des noyaux ReRh altère le dialogue hippocampo-cortical nécessaire à la modification/renforcement des connexions** au sein de ces deux structures démontrant que l'intégrité du circuit hippocampo-cortico-thalamique est **indispensable** à la **persistance** d'un souvenir spatial chez le Rat.

3. Rôle des différentes sous régions de l'HIP et du CPFm dans la mémoire

3.1. Les sous-régions de l'HIP : CA3 et DG

Nous n'avons montré **aucune modulation** du nombre d'épines dendritiques dans les sous régions **CA3** et **DG** de l'HIPd, que ce soit sous l'effet de l'apprentissage ou de la lésion des noyaux ReRh. Ainsi, ces résultats suggèrent que **ces deux sous-régions** ne sont **pas impliquées** dans le **stockage à long terme** d'un souvenir spatial chez le Rat.

Cependant, l'étude de l'expression de la protéine cFOS effectuée au laboratoire montre que quel que soit le délai (récent ou ancien), le rappel du souvenir spatial engendrait une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans les sous-régions CA3 et DG de l'HIPd (Klein, Cholvin et al, soumis). Ces résultats suggèrent que quel que soit l'âge du souvenir, l'ensemble des sous-régions de l'HIPd est impliqué dans le rappel du souvenir spatial. Ces données ne sont pas tout à fait en adéquation avec les résultats obtenus pour l'analyse des épines dendritiques pointant la sous-région CA1 comme principale région de l'HIPd à soutenir le stockage d'un souvenir, quel que soit son âge. Cependant, comme nous l'avons déjà souligné plus haut, cette étude et celle de la protéine cFOS ne permettent pas d'observer les mêmes phénomènes. Ainsi, les sous-régions CA3 et DG pourraient être impliquées au moment du rappel du souvenir spatial quel que soit l'âge de ce dernier, mais ne pas être nécessaires à son stockage à long terme. En effet, en se basant sur les connexions intrinsèques de l'HIP (voir section 1.2.1. de l'introduction), il est possible d'imaginer que les informations entrant dans l'HIP, à travers notamment le cortex entorhinal, sont transférées *in fine* à la sous-région CA1 après avoir transité à travers le DG et la sous-région CA3 provoquant une activation transitoire de ces derniers sans pour autant qu'ils soient nécessaires au stockage du souvenir.

En ce qui concerne la lésion ReRh, l'étude de l'expression de la protéine cFOS menée au laboratoire ne met en évidence aucun impact, confirmant les résultats obtenus pour l'analyse des épines dendritiques (Klein, Cholvin et al., soumis). La **sous-région CA3** et le **DG** n'étant **pas connectés** aux **noyaux ReRh** (Vertes et al., 2006), cela ne semble pas étonnant de n'observer **aucun effet** de la **lésion** sur l'activité neuronale ou la plasticité structurale de ces deux sous-régions.

3.2. Les sous-régions du CPFm : PL et IL

Nous avons montré i) que l'apprentissage n'engendre **aucune modulation** de la densité d'épines dendritiques dans le **PL** et l'**IL** quel que soit le délai, ii) qu'en condition basale, **la lésion diminue** le nombre d'épines dendritiques quel que soit le type étudié à **5 jours** uniquement dans le **PL**, iii) que cette diminution est **compensée** par l'**apprentissage** chez les rats lésés à **5 jours** uniquement dans le **PL**. Ainsi, ces résultats suggèrent que ces deux sous-régions ne sont **pas impliquées** dans le **stockage à long terme** d'un souvenir

spatial chez le Rat. En revanche, la lésion des noyaux ReRh semble engendrer des **mécanismes compensatoires** au sein du **PL** au délai de **5 jours**.

Cependant, l'étude de l'expression de la protéine cFOS effectuée au laboratoire montre que quel que soit le délai (récent ou ancien), le rappel du souvenir spatial engendrait une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans le PL et l'IL (Klein, Cholvin et al, soumis). Ces résultats suggèrent que quel que soit l'âge du souvenir, l'ensemble des sous-régions du CPFm est impliqué dans le rappel du souvenir spatial. Ces données ne sont pas tout à fait en adéquation avec les résultats obtenus pour l'analyse des épines dendritiques. En effet, celle-ci identifie le CCA comme principale région du CPFm à soutenir le stockage d'un souvenir ancien. Cependant, comme nous l'avons déjà souligné plus haut, cette étude et celle de la protéine cFOS ne permettent pas d'observer les mêmes phénomènes. Ainsi, le PL et l'IL pourraient être impliqués au moment du rappel du souvenir spatial quel que soit l'âge de ce dernier, mais ne pas être nécessaires à son stockage à long terme. Au laboratoire, une étude précédente a cherché à évaluer l'impact d'une inactivation réversible du CPFm (i.e. instillation de muscimol) sur les performances de mémoire spatiale en piscine de Morris chez le Rat. Pour cela, les auteurs ont instillé différentes doses de muscimol (30, 50, 80 et 250 ng) juste avant le test de rétention. Ils ont ensuite évalué l'impact de cette inactivation sur les 3 sous régions du CPFm (CCA, PL, et IL) par l'analyse de l'expression de la protéine cFOS. Pour les faibles doses (30 et 50 ng) ils n'ont observé aucun effet. En revanche, ils ont pu mettre en évidence qu'une réduction de 40 à 60 % de l'activité neuronale du PL et de l'IL associée à une réduction de 76 % de l'activité du CCA provoquée par l'instillation de 80 ng de muscimol n'a pas d'impact sur les performances de rappel 24h post acquisition. À la dose de 250 ng, l'instillation de muscimol entraîne une réduction de 82 à 88 % de l'activité neuronale dans ces trois sous-régions, et les rats ne sont plus capables de rappeler l'emplacement de la plateforme. Ainsi, il serait possible d'incomber ce déficit de mémoire à l'augmentation importante de l'inactivation du PL et de l'IL à la dose de 250 ng. C'est pourquoi, les auteurs en concluent que ces données pourraient indiquer un rôle prépondérant du PL et de l'IL dans le rappel d'un souvenir récent en comparaison au CCA (Cholvin et al., 2016).

L'équipe de Frankland ont montré une augmentation du nombre de cellules cFOS positives dans le PL et l'IL uniquement lors du rappel d'un souvenir ancien (Frankland et al., 2004). Cependant, cette étude a été effectuée chez la Souris à l'aide d'une tâche de mémoire

de peur, dont la composante émotionnelle est beaucoup plus importante qu'en piscine de Morris chez le Rat. Or, le PL et l'IL reçoivent des projections depuis l'Hip (notamment ventral) et l'amygdale, et ils projettent sur des structures sous-corticales limbiques (notamment l'amygdale) (e.g. Vertes, 2004) engendrant un circuit influençable par la composante émotionnelle d'une tâche. Ainsi, le PL et l'IL sont plus étudiés dans le cadre d'une mémoire de peur car ils font partie du circuit cérébral lié à ce type de tâche (e.g. Mueller et al., 2008 ; Chang et Maren, 2010 ; Sierra-Mercado et al., 2011 ; Song et al., 2015 ; Peters et al., 2015 ; Fenton et al., 2015 ; Kim et al., 2015).

4. Rôle des noyaux ReRh dans l'encodage et le rappel ?

Ce projet de thèse visait à montrer l'implication des noyaux ReRh dans la plasticité structurale nécessaire à la consolidation systémique d'un souvenir « *episodic-like* » et nos résultats semblent confirmer cette hypothèse de départ. En revanche, ces résultats ne nous permettent tout de même pas d'infirmer la possibilité que les noyaux ReRh soient aussi impliqués dans les autres étapes du processus de formation d'un souvenir comme l'encodage ou le rappel.

À ce sujet, plusieurs études ont été menées au laboratoire n'apportant pas toutes les mêmes conclusions. La première étude a montré que, chez le Rat, l'inactivation fonctionnelle réversible (i.e. instillation de lidocaïne) des noyaux ReRh juste avant le rappel n'impactait pas les performances des animaux en piscine de Morris, et ce quel que soit le délai de rétention. Les auteurs en concluent que les noyaux ReRh sont essentiels à l'établissement d'un souvenir spatial ancien et non à son rappel (Loureiro et al., 2012). La deuxième étude a montré que, chez le Rat, l'inactivation fonctionnelle réversible (i.e. instillation de muscimol) des noyaux ReRh juste avant le rappel diminue les performances des animaux en piscine de Morris sans empêcher le rappel 1 jour après l'acquisition (Cholvin et al., 2013). Ces résultats suggèrent que les noyaux ReRh seraient impliqués mais pas indispensables au rappel d'un souvenir spatial récent. Enfin, la troisième étude a montré que, chez le Rat, l'inactivation fonctionnelle réversible (i.e. DREADD) des noyaux ReRh juste avant le rappel n'impactait pas la capacité des animaux à rappeler la localisation de la plateforme en piscine de Morris, quel que soit le délai. En revanche, cette inhibition des noyaux ReRh altérerait la précision du souvenir chez les animaux lésés (Quet et al., en préparation) En effet, les animaux lésés passaient

significativement plus de temps dans le quadrant cible mais présentaient un nombre de passages dans la zone de la plateforme (*annulus crossing*) significativement plus bas que les animaux contrôles. Ainsi, ces études tendent à montrer que **les noyaux ReRh** sont bien **impliqués** dans le **rappel** d'un souvenir, **sans être indispensables** à ce dernier. De plus, il semblerait que **les noyaux ReRh** soient essentiellement **impliqués** dans la **précision** d'un souvenir spatial.

L'implication des noyaux ReRh dans la précision d'une mémoire a, par ailleurs, déjà été mise en évidence chez la Souris dans un conditionnement de peur au contexte. En effet, Xu et Sudhök ont montré, chez la Souris, que l'inactivation fonctionnelle du Re (i.e. expression de la toxine tétanique) entraînait une généralisation du souvenir 24h après l'acquisition d'une tâche de conditionnement de peur. Ainsi, les souris exprimaient une peur dans un contexte similaire mais différent de celui employé pour l'acquisition (i.e. qui ne provoque normalement pas de réponse de peur), indiquant une perte de spécificité du souvenir. De plus, par une approche optogénétique, ces auteurs ont montré que la stimulation phasique (30 Hz durant 0,5 secondes toutes les 5 secondes) du Re induit une augmentation de l'expression de la peur dans le contexte dégradé, tandis que la stimulation tonique (4 Hz continu) induit une diminution de l'expression de la peur dans ce même contexte. Ainsi, ces données suggèrent que l'activité du Re au cours de l'acquisition est capable de moduler le niveau de précision avec lequel le souvenir est encodé puis consolidé à long terme (Xu et Sudhök, 2013). Toujours dans cette même étude, les auteurs mettent en évidence que ce rôle pourrait être principalement assuré par les projections du CPFm sur le Re. En effet, ils ont montré que, tout comme pour le Re, l'inactivation spécifique des neurones du CPFm projetant vers le Re (i.e. expression de la toxine tétanique), provoque une généralisation du souvenir 24h après l'acquisition d'une tâche de conditionnement de peur. De plus, l'analyse de l'expression de la protéine cFOS dans le CPFm suite à l'inactivation du Re montre que l'augmentation de cette expression observée dans le CCA suite à la tâche n'est pas visible chez des animaux inactivés (Xu et Sudhök, 2013). Ces résultats montrent que **les neurones du Re** sont capables de **moduler l'activité** du **CPFm** au cours d'une tâche de conditionnement de peur chez la Souris, et que le CPFm comme le Re sont impliqués dans le **contrôle de la spécificité** (le niveau de détails) du souvenir. Cette étude suggère, par ailleurs, que ces phénomènes pourraient être mis en œuvre dès l'**encodage**.

La possibilité que des mécanismes précoces (i.e. lors de la phase d'encodage) s'effectuent au sein du cortex a été approfondie par les travaux de Lesburguères et collaborateurs (2011). Ces auteurs se sont intéressés à la théorie de l'étiquetage et de la capture synaptique (voir section 3.2.3. du premier chapitre de l'introduction) dans le cadre de la consolidation systémique. Pour cela, ils ont employé une tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire. Cette tâche nécessite l'implication à la fois de l'HIP et du cortex. Au niveau cortical, c'est le cortex orbitofrontal (OFC) qui est essentiellement sollicité de par son implication dans le traitement et l'association des informations olfactives (Schoenbaum et Roesch, 2005).

Premièrement, les auteurs ont observé des modulations de la plasticité synaptique (pré et post-synaptiques) dans l'OFC, et ce spécifiquement dans le cas d'un souvenir ancien : la quantité de synaptophysine (i.e. marqueur de plasticité présynaptique) est significativement plus élevée au délai ancien qu'au délai récent, tout comme le nombre d'épines dendritiques. Ainsi, la plasticité structurale est mise en place progressivement au cours de la consolidation (Lesburguères et al., 2011). Pour savoir si cette mise en place progressive est dépendante de l'HIPd, les auteurs ont inactivé de manière chronique l'HIPd (i.e. instillation de CNQX) directement après l'interaction sociale soit précocement (0 à 12 jours post-acquisition) soit tardivement (15 à 27 jours post-acquisition). L'inhibition chronique de l'HIPd entraîne un déficit de rappel pour le souvenir ancien (30 jours) uniquement lorsque l'HIPd est inactivé précocement. De plus, ce déficit de mémoire est accompagné d'une absence des modifications dendritiques observées précédemment dans l'OFC à ce délai. Ainsi, l'HIPd possède un rôle essentiel mais limité dans le temps dans la plasticité structurale mise en place dans l'OFC au cours de la consolidation. Dans le cas d'une inactivation chronique de l'OFC, les performances des animaux sont altérées que l'inhibition soit précoce ou tardive. Ainsi, l'activité corticale semble nécessaire à la fois de manière précoce et de manière tardive pour la dialogue hippocamp-cortical nécessaire au transfert du souvenir et sa stabilisation au sein d'un réseau cortico-cortical, lieu de stockage durable (Lesburguères et al., 2011). Si l'activité séparée de chacune de ces deux structures, ainsi que leur interaction est nécessaire à la formation et à la consolidation du souvenir, les réseaux neuronaux hippocampo-corticaux devraient tous deux être marqués lors de l'encodage. Pour vérifier cette hypothèse, les auteurs ont inactivé l'OFC (i.e. instillation de CNQX) 1 heure avant l'interaction sociale afin d'en tester l'impact sur le rappel à 7 et 30 jours après. Ils ont observé que l'inhibition de l'OFC n'altère pas le rappel d'un souvenir récent mais empêche celui d'un souvenir ancien, tout comme l'augmentation du nombre des épines dendritiques normalement observée. Ainsi, en

bloquant l'étiquetage cortical (i.e. inactivation de l'OFC au cours de l'encodage) Lesburguères et collaborateurs mettent en évidence la nécessité de cet étiquetage à l'établissement du dialogue hippocampo-cortical et au maintien d'un souvenir à long-terme (Lesburguères et al., 2011). Les processus d'étiquetage et de capture synaptique pourraient jouer un rôle essentiel dans la consolidation au sein des systèmes.

Sur la base de la théorie de l'étiquetage neuronal et de la capture synaptique, ainsi que des études que nous venons d'explicitier, il est possible d'imaginer dans notre cas, c'est-à-dire pour un souvenir spatial: i) que lors de la phase d'acquisition, certains neurones du CPFm (r le CCA) et de l'HIPd (la sous-région CA1) soient étiquetés et que certaines synapses soient capturées, ii) que ce processus permettrait la mise en place du dialogue entre CA1 et le CCA au cours des réactivations « *off-line* » du circuits hippocampo-cortical, iii) que ces répétitions permettraient la création et le renforcement des connexions hippocampo-corticales mais aussi ultérieurement cortico-corticales permettant la stabilisation de la trace mnésique distribuée au sein d'un réseaux hippocampo-cortical, iv) que ce phénomène serait traduit par l'augmentation du nombre d'épines dendritiques à la fois dans l'HIPd et le CPFm, mais selon des cinétiques différentes, et enfin v) que la mise en place de ces processus serait **dépendante de l'intégrité des noyaux ReRh** de par leur rôle de relai et de modulateur du circuit hippocampo-cortical.

Ainsi, l'HIP étant nécessaire à l'étiquetage des neurones corticaux, il est permis d'imaginer que la lésion des noyaux ReRh empêcherait la mise en place du dialogue hippocampo-cortical. Ceci provoquerait un déficit ou un étiquetage de mauvaise qualité des neurones du CPFm ainsi qu'un déficit ou une capture défailante des synapses de ces derniers. Ce défaut dans le processus d'encodage pourrait être imperceptible au rappel d'un souvenir spatial récent (e.g. 5 jours), l'HIP étant prépondérant dans l'expression de ce dernier. À l'inverse, le CPFm devenant essentiel à l'expression d'un souvenir spatial au cours du temps, ce défaut entrainerait l'incapacité des rats lésés à rappeler un souvenir spatial ancien (e.g. 25 jours) associé à une absence de plasticité structurale à la fois dans l'HIPd et le CPFm à ce délai. Cette hypothèse pourrait aussi être soutenue par le fait que les noyaux ReRh sont aussi capables de moduler de manière importante l'activité corticale (Dolleman-Van der Weel et al., 1997), mais aussi hippocampique (DiPrisco et Vertes, 2006), ainsi que la synchronisation entre ces activités (e.g. Hartung et al., 2016 ; Hallock et al., 2016 ; Roy et al., 2017 ; Ferraris et al., 2018). Cette synchronisation des oscillations cérébrales étant essentielle lors des

processus d'apprentissage, l'absence de ces noyaux pourrait permettre un apprentissage, certes (i.e. pas de déficit d'apprentissage), mais celui-ci serait de moins bonne qualité, créant un souvenir plus sensible à l'*érosion* du temps. De plus, cette synchronisation est nécessaire lors des réactivations « *off-line* » se produisant lors du sommeil notamment, reconnues comme essentielles à la stabilisation et à la consolidation d'un souvenir au niveau des systèmes (pour revue [Diekelmann et Born, 2010](#)). Ainsi, le rôle des **noyaux ReRh** ne serait pas **spécifiquement** lié à la phase de **consolidation**, mais pourrait l'être aussi à la phase d'encodage du processus mnésique.

1. Conclusions

Cette thèse avait pour objectif d'étudier le rôle potentiel des noyaux ReRh dans la plasticité structurale hippocampo-corticale nécessaire à la consolidation systémique, et donc à la persistance, d'un souvenir spatial chez le Rat. Une approche comportementale a été combinée avec une approche histologique. Grâce aux expériences réalisées chez le Rat au cours de cette thèse, nous avons pu démontrer i) que dans le cas d'un souvenir spatial ou « *episodic-like* », l'**HIPd** reste **engagé quel que soit l'âge** du souvenir, ii) que ce dernier est d'ailleurs un **support physique du stockage du souvenir quel que soit son âge**, iii) que **les noyaux ReRh** du thalamus sont **impliqués** dans la **mise en place** de la **plasticité structurale** dans l'**HIPd** et le **CPFm**, **nécessaire** à la **persistance** d'un souvenir à long-terme.

Ainsi, l'ensemble de ces travaux a permis une meilleure compréhension des interactions s'effectuant au sein d'un circuit hippocampo-cortico-thalamique impliqué dans la consolidation systémique d'un souvenir spatial. Ce travail ouvre ainsi de nouvelles perspectives quant à l'étude de ces noyaux dans les différentes étapes du processus de mémorisation chez l'animal mais aussi dans le cas de l'étude du rôle des noyaux thalamiques en général, noyaux dont l'atteinte chez l'Homme (syndrome de Korsakoff, tumeur, traumatisme, etc) entraîne des déficits cognitifs empiétant notamment sur la sphère mnésique (amnésies antérogrades).

2. Perspectives

2.1. Etudier, au sein du circuit hippocampo-cortico-thalamique, les mécanismes en lien avec la plasticité structurale intervenant dans la consolidation systémique d'un souvenir spatial

À la suite de ce projet de thèse, il me semblerait intéressant de **compléter nos résultats** en évaluant les conséquences de lésion des ReRh faite avant l'acquisition sur plusieurs **marqueurs de plasticité synaptique** comme la GAP43 (protéine présynaptique impliquée dans la croissance axonale et utilisée comme marqueur des synapses nouvellement formées), la PSD95 (protéine postsynaptique impliquée dans la morphologie des épines

dendritiques), la spinophiline (protéine postsynaptique impliquée dans la morphologie des épines dendritiques) ou encore la synaptopodine (protéine postsynaptique présente dans l'appareil épineux et impliquée dans la potentialisation à long terme).

En effet, dans leur étude datant de 2004, Frankland et collaborateurs ont montré que, chez la Souris, le rappel d'un souvenir de peur entraînait une augmentation de GAP43 dans le CPFm (en particulier CCA) à 36 jours. Chez des souris KO pour la CamKII exprimant un déficit de mémoire à 36 jours, cette augmentation de la GAP43 n'est pas présente (Frankland et al., 2004). Lesburguères et collaborateurs ont également montré, chez le Rat, que le rappel à 30 jours d'une préférence alimentaire était accompagné d'une augmentation de l'expression de la synaptophysine dans l'OFC. De plus, l'injection d'un inhibiteur d'histones déacétylases (i.e. sodium butyrate (NaB)) entraîne une amélioration des performances des animaux au rappel de 30 jours qui est accompagnée d'une augmentation de l'expression de la synaptophysine (Lesburguères et al., 2011). Actuellement, la mise au point du marquage et du comptage de la spinophiline est en cours au laboratoire. D'autre part, l'identification de ces marqueurs synaptiques permettrait par la suite de cibler les cascades intracellulaires dans lesquelles ils sont impliqués, et ainsi d'effectuer des analyses plus approfondies de l'impact de la lésion des noyaux ReRh (e.g. analyses des gènes modulant ces cascades intracellulaires).

2.2. Etudier l'implication des noyaux ReRh dans les différentes phases du processus de mémorisation (encodage, consolidation, rappel)

Les résultats rassemblés au cours de ce projet de recherche semblent indiquer un rôle prépondérant des noyaux ReRh dans la phase de consolidation systémique d'un souvenir spatial. Cependant, comme nous l'avons explicité dans la section 4 de cette discussion, il ne nous est pas possible d'exclure une possible **implication dans la phase d'encodage** ou de **rappel** du processus de mémorisation. Afin de **confirmer** ou d'**infirmer** cette hypothèse il serait intéressant d'effectuer des inactivations fonctionnelles réversibles aux différentes phases du processus de mémorisation afin d'en évaluer l'impact sur le rappel d'un souvenir ancien.

Les méthodes permettant d'effectuer des inactivations fonctionnelles réversibles sont nombreuses. Elles comportent, par exemple, l'instillation d'inhibiteurs de canaux sodiques

(lidocaïne), d'agonistes GABAergiques (muscimol) ou d'antagonistes des récepteurs AMPA (e.g. CNQX) ou NMDA (e.g. AP5). Aujourd'hui, des techniques plus récentes ont fait leur apparition comme le DREADD ou l'optogénétique (voir la section 2.3.1. du premier chapitre de l'introduction). Celles-ci permettent d'inactiver (ou d'activer) de manière spécifique et très précise les structures voulues. En revanche, il faudrait avoir recours à une tâche comportementale différente de celle employée jusqu'ici. En effet, la phase de consolidation intervient immédiatement après l'apprentissage. Or, dans notre protocole, et dans les protocoles généralement employés en piscine de Morris, l'apprentissage s'effectue sur plusieurs jours. Il nous est donc impossible de différencier les phases d'acquisition et de consolidation ainsi que les mécanismes qui les sous-tendent. Il serait donc nécessaire d'employer une tâche comportementale où chacune des phases est dissociable d'une autre, et dont la rétention s'étend à très long-terme (mémoire ancienne). Il est possible d'envisager des tâches comportementales comme le conditionnement de peur au contexte (e.g. [Frankland et al., 2004](#) ; [Maviel et al., 2004](#) ; [Restivo et al., 2009](#)) ou encore la transmission sociale d'une préférence alimentaire ([Lesburguères et al., 2011](#)), voire l'inhibition passive. De plus, l'utilisation d'un autre paradigme permettrait de généraliser nos données sur le rôle des noyaux ReRh au sein du circuit hippocampo-cortico-thalamique. L'une de ces techniques pourrait être mise en œuvre afin d'inactiver les noyaux ReRh spécifiquement au cours de l'encodage, de la consolidation ou encore du rappel afin de confirmer ou non leur implication dans ces différentes étapes de la formation du souvenir.

En 2011, l'équipe de Bruno Bontempi a aussi employé ce type d'approche afin de mettre en évidence le recrutement précoce de l'OFC nécessaire à la persistance du souvenir dans leur tâche de transmission sociale d'une préférence alimentaire. Pour cela, les auteurs ont effectué des instillations chroniques de CNQX (antagoniste des récepteurs AMPA) dans l'OFC. Ces instillations ont été réalisées soit de manière précoce (de 0 à 12 jours post acquisition), soit de manière tardive (de 15 à 27 jours post acquisition) et leur impact a été évalué lors d'un test de rétention passé 30 jours après l'acquisition ([Lesburguères et al., 2011](#)). Cette technique pourrait être mise en œuvre afin d'inactiver les noyaux ReRh de manière chronique spécifiquement au cours de la consolidation afin confirmer leur implication dans la consolidation d'un souvenir spatial. Il serait aussi possible d'inactiver les noyaux ReRh de manière aiguë juste au cours de l'encodage ou du rappel afin mettre en évidence ou non leur implication dans ces deux étapes du processus de mémorisation.

Cette année, l'équipe de d'Amy Griffin a étudié l'implication des noyaux ReRh dans les différentes phases de leur tâche de mémoire de travail. Pour cela, les auteurs ont inactivé le noyau Re à l'aide d'un vecteur viral photosensible. Ce dernier a été injecté dans le Re au cours d'une chirurgie stéréotaxique et la fibre optique a été mise en place 4 semaines plus tard au cours d'une seconde chirurgie. Les animaux ont ensuite subi la tâche comportementale de mémoire de travail comprenant 3 phases différentes. Au cours de cette tâche, les auteurs ont inhibé le noyau Re spécifiquement pour l'une ou l'autre des phases, et ils ont évalué l'impact de cette inactivation sur les performances de leurs animaux (Maisson et al., 2018). Cette technique pourrait être mise en œuvre afin d'inactiver les noyaux ReRh spécifiquement au cours de l'encodage ou du rappel de la tâche comportementale afin de vérifier l'implication de ces derniers dans chacune de ces étapes de la formation d'un souvenir.

2.3. Etudier les neurones impliqués spécifiquement dans l'engramme

Au cours de ce projet, nous avons étudié les changements structuraux intervenant au sein du CPFm et de l'HIPd, quel que soit le type de neurones. Cependant, au cours d'une tâche comportementale, l'ensemble des neurones d'une structure cérébrale n'est pas activé. En effet, les expériences sont encodées dans des groupes de cellules nerveuses réciproquement connectées et activées simultanément ; on parle alors d'assemblées neuronales (Hebb, 1949). Afin de confirmer nos résultats, mais surtout dans le but d'aller plus loin dans cette étude, il serait intéressant de **cibler spécifiquement les neurones impliqués** dans le souvenir spatial que l'on étudie.

En 2012, Sanders et collaborateurs ont utilisé des souris transgéniques possédant deux transgènes : l'un d'eux contenant la protéine transactivatrice de la tétracycline sous l'action du promoteur *fos* (*fos-tTA*) ; l'autre contenant l'élément de réponse à la tétracycline couplé à la séquence codante pour la protéine GFP-GluR1 (TetO-GFP-GluR1). Cette dernière correspond à la sous-unité GluR1 des récepteurs glutamatergiques NMDA couplée à la protéine fluorescente verte (GFP). Les animaux ont reçu un régime alimentaire contenant de la doxycycline qui se fixe sur la tTA permettant ainsi de bloquer le système et de ne le faire fonctionner qu'en temps voulu. Quatre jours avant le début de la tâche comportementale, les auteurs ont retiré la doxycycline de l'alimentation des animaux afin de permettre l'étiquetage des neurones lors de la phase d'apprentissage. Au cours de l'apprentissage, l'activité



neuronale va entraîner l'activation du promoteur *fos* et ainsi l'expression de la protéine tTA. Celle-ci va se fixer sur TetO-GFP-GluR1 provoquant à son tour l'expression de la GFP-GluR1 (Sanders et al., 2012). Les auteurs ont ainsi compté les épines dendritiques spécifiquement sur les neurones activés au cours de l'apprentissage. Cette technique pourrait être mise en œuvre afin de confirmer nos résultats en observant les changements structuraux intervenant sur les neurones hippocampiques et corticaux impliqués spécifiquement au cours de l'encodage ou du rappel.

2.4. Evaluer la possibilité d'une récupération fonctionnelle de la lésion à l'aide d'un traitement pharmacologique

À l'heure actuelle, nous savons qu'il est possible d'obtenir une **récupération fonctionnelle** après une lésion des noyaux ReRh. En effet, au laboratoire, Ali et collaborateurs ont montré, chez le Rat, que l'exposition à un environnement enrichi (40 jours) avant d'effectuer la tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris permettait d'empêcher le déficit de mémoire ancienne observé chez les rats lésés (Ali et al., 2017). Or, il existe un lien connu entre l'environnement enrichi et l'acétylation des histones. En effet, Fischer et collaborateurs ont montré, chez la Souris, que l'environnement enrichi entraîne une augmentation des acétylations des histones (Fischer et al., 2007). De plus, des résultats similaires ont été obtenus, chez le Rat, au laboratoire. En effet, les auteurs ont montré que, suite à une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris, le niveau d'acétylation des histones était augmenté chez les rats âgé ayant vécu en environnement enrichi (Neidl et al., 2016).

L'acétylation des histones correspond à l'ajout d'un groupement acétyl (CO-CH₃) sur l'extrémité N-terminale des histones. Ces dernières sont des protéines basiques de faible poids moléculaire s'associant par 8 sous forme de nucléosome autour duquel s'enroule l'ADN. Ainsi, l'état d'acétylation des histones permet de moduler l'état de condensation de la chromatine et ainsi d'influencer la transcription des gènes. En effet, lorsque les histones ne sont pas acétylées, la chromatine est hyper-condensée et l'ADN inaccessible à la machinerie transcriptionnelle (hétérochromatine). À l'inverse, lorsque les histones sont acétylées, leur charge globale ainsi que l'encombrement stérique change, et l'interaction avec l'ADN est moindre. La chromatine est alors décondensée et plus accessible à la machinerie

transcriptionnelle (euchromatine). Cet état d'acétylation est géré par deux types d'enzymes : les histones déacétylase (HDAC) qui, comme leur nom l'indique, vont déacétyler les histones, et les histones acétyltransférase (HAT) qui, elles, vont acétyler les histones. Ainsi, pour reproduire l'effet de l'environnement enrichi il serait possible d'employer un traitement pharmacologique en vue d'augmenter l'acétylation des histones, soit en inhibant les HDAC, soit en activant les HAT.

Nous souhaiterions utiliser une molécule activatrice des HAT: la CSP-TTK21. Cette dernière est composée de l'activateur de HAT (TTK21) fixé sur une nanosphère de carbone (CSP). Cette association permet de rendre la molécule capable de traverser la barrière hématoencéphalique (BHE). Au laboratoire, Chatterjee et collaborateurs ont déjà montré, chez la Souris, que ce traitement permettait une amélioration des performances de mémoire spatiale ancienne lors d'un protocole d'apprentissage léger (Chatterjee et al., 2013). De plus, le traitement de souris modèle de maladie d'Alzheimer avec cette molécule a permis de rétablir la formation d'épines dendritiques de type « *mushroom* » dans la région CA1 hippocampique en réponse à un apprentissage spatial (Chatterjee et al., 2018). Ceci était corrélé avec une restauration de la mémoire spatiale chez ces souris.

En se basant sur l'ensemble de cette littérature, il serait possible de **tester l'effet de CSP-TTK21** sur les performances des animaux lésés. Après une chirurgie stéréotaxique permettant d'effectuer soit une lésion excitotoxique des noyaux ReRh, soit une chirurgie contrôle, les animaux recevraient un traitement chronique à raison d'une injection tous les 8 jours pendant 40 jours (soit 5 injections en tout par animal). L'ensemble des rats subiraient une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris avec un test de rétention à 25 jours afin de tester la mémoire à long-terme ancienne. Il est aussi possible d'imaginer approfondir l'étude en allant étudier les épines dendritiques ou les marqueurs de plasticité afin de faire le lien avec les résultats obtenus au cours de cette thèse. Enfin, pourquoi ne pas pousser les études vers l'épigénétique et la biologie moléculaire pour élucider les mécanismes exacts qui expliquent la réduction des conséquences de la lésion sur la consolidation systémique.

ANNEXE

Ventral midline thalamus lesion hinders spatial remote memory formation by preventing persistence of new hippocampal spines and delayed neocortical spinogenesis

Marie Muguet Klein ^{1,2,3}, Thibault Cholvin ^{1,2,3}, Brigitte Cosquer ^{1,2}, Aurélie Salvadori ^{1,2}, Julia Le Mero ^{1,2}, Lola Kourouma ^{1,2}, Anne-Laurence Boutillier ^{1,2}, Anne Pereira de Vasconcelos ^{1,2,3}, Jean-Christophe Cassel ^{1,2,3,4}

Running title: Ventral midline thalamus & systems consolidation

¹ Université de Strasbourg, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), F-67000 Strasbourg, France

² CNRS, LNCA UMR 7364, F-67000 Strasbourg, France

³ These authors share an equivalent contribution to this manuscript

⁴ **Corresponding author:** Dr. Jean-Christophe Cassel, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), UMR 7364, Université de Strasbourg-CNRS, 12 rue Goethe, F-67000 Strasbourg, France. E-mail: jcassel@unistra.fr

Abstract (249 words)

The ventral midline thalamus contributes to hippocampo-cortical interactions supporting systems-level consolidation of memories. Recent hippocampus-dependent memories rely on remodeling of hippocampal connectivity. Remote memories are underpinned by remodeling of neocortical connectivity. As recent spatial memories do not persist after a lesion of the ventral midline thalamus, we hypothesized that such lesion could interfere with hippocampal and/or neocortical connectivity remodeling. To test this hypothesis, rats of a first experiment were subjected to lesion of the reuniens and rhomboid (ReRh) nuclei, trained in a water maze, and tested in a probe trial 5 or 25 days post-acquisition. Dendritic spines were counted in the dorsal hippocampus and the medial prefrontal cortex (mPFC). Spatial learning resulted in a significant increase of mushroom spines in region CA1. This modification persisted between 5 and 25 days post-acquisition in Sham rats, but not in rats with ReRh lesion. Furthermore, 25 days after acquisition, the number of mushroom spines in the anterior cingulate cortex (ACC) had undergone a dramatic increase in Sham rats, and ReRh lesion precluded this gain. In a second experiment, we found that the increase of c-Fos expression in CA1 accompanying memory retrieval was not affected by the lesion, be it for recent or remote memory. However, in the ACC, the level of retrieval-triggered c-Fos expression observed 25 days post-acquisition was reduced in lesioned rats. We conclude that the lesion of the ReRh disrupts spatial remote memory formation by preventing persistence of early remodeled hippocampal connectivity and/or delayed spinogenesis in the ACC.

Keywords : Anterior cingulate cortex ; c-Fos imaging ; dendritic spines ; Golgi staining ; Hippocampus ; Medial prefrontal cortex ; rat ; spatial memory ; systems-level consolidation ;

Introduction (637 words)

Declarative memories in humans and declarative-like ones in other animals become enduring over a consolidation process known as systems consolidation (e.g., Frankland and Bontempi, 2005; Squire et al., 2015). Closely after encoding, which requires an engagement of prefrontal cortical regions (e.g., Squire et al., 2015), a yet labile memory trace is stored in and retrieved from hippocampal modules. Over time, the hippocampus (Hip) triggers a reorganization of this memory within previously tagged neocortical modules (Lesburguères et al., 2011), whereby the memory becomes robust, lasting, and sometimes independent of the Hip (Frankland and Bontempi, 2005; Squire et al., 2015). Systems consolidation is orchestrated by a functional dialog between the Hip and the medial prefrontal cortex (mPFC), in which the information flow can go monosynaptically from the former to the latter (e.g., Thierry et al., 2000), but requires a relay on the way back to the Hip. Indeed, monosynaptic projections have not been described in this direction (e.g., Vertes, 2004). One such relay could be constituted by the reuniens (Re) and rhomboid (Rh) nuclei. These two ventral midline thalamic nuclei have reciprocal connections with the Hip and mPFC (Cassel et al., 2013). Some of Re neurons even have collaterals projecting to both structures (Hoover and Vertes, 2012; Varela et al., 2014). It is also of interest that communication from the Hip to the PFC occurs at theta frequency via direct projections, whereas communication from the PFC to the Hip occurs at 2-5 Hz frequencies through a relay in the Re nucleus (Roy et al., 2017). Data in the literature indicate that the ReRh nuclei have crucial implications in cognitive processes, especially in tasks requiring a coordinated activation of the Hip and mPFC (e.g., Cassel et al., 2013). For instance, these nuclei take part in the generalization of fear memory attributes (Xu and Südhof, 2013), in strategy shifting (Cholvin et al., 2013), and in spatial working memory tasks (Griffin, 2015). Hallok et al. (2016) showed in a T-maze that good spatial working memory performance required a Re-dependent modulation of HIP-mPFC synchrony. Regarding systems consolidation, Loureiro et al. (2012) found that the ReRh of intact rats exhibited a strong increase of c-Fos expression when the animals had to retrieve a remote spatial memory, not when a recent one was concerned. Furthermore, following fiber-sparing lesion of the ReRh, rats learned a Morris water maze task normally, showed intact performance in a probe trial taxing recent memory (assessed 5-days post-acquisition), but were dramatically impaired when the probe trial taxed remote memory (assessed 25 days post-acquisition; Loureiro et al., 2012). Loureiro et al. also found that reversible inactivation of the ReRh nuclei altered neither recent nor remote memory retrieval, suggesting that it is the systems consolidation process that the lesion has disrupted, not the remote memory retrieval process. Interestingly, the region encompassing the ReRh might also contribute to remote memory processing in humans (Thielen et al., 2015).

Using contextual fear conditioning, and hence a task requiring the Hip, Restivo et al. (2009) investigated in the Hip and mPFC synaptic rearrangements related to systems consolidation. They found that the number of dendritic spines was increased in the Hip, but not in the mPFC at a short post-conditioning delay (1 day), and that an almost opposite picture was observed after a longer delay (30 days). From the aforementioned observations, we hypothesized that if ReRh lesion takes part in systems-level consolidation of spatial memories, we should find i) differences in spine density within the Hip and the mPFC between short (5 days) and long (25 days) delays after the acquisition of a Morris water maze task, ii) prevention by ReRh lesion of these changes at a remote but not a recent time point, and iii) an absence of retrieval-related modifications of c-Fos expression in the mPFC during remote memory testing in rats with ReRh lesion.

Materials and Methods

In the first experiment, we used Golgi staining to investigate the consequences of ReRh lesion on baseline (no learning) and recent vs. remote memory formation-triggered changes in dendritic spine densities in dHip (CA1, CA3 and dentate gyrus) and mPFC (anterior cingulate, infralimbic and prelimbic cortices). In the second experiment, using c-Fos immunostaining, we checked in intact rats if the brain regions in which the dendritic spine densities had undergone modifications were activated during recent vs. remote memory retrieval, and whether the activation pattern was altered by the ReRh lesion.

Subjects

The study conformed to the rules of the European Community council directive of 22 September 2010 (2010-63) and the French Department of Agriculture. All approaches have been validated by a local ethical committee (CREMEAS - authorization n° AL/32/39/02/13). The first and second experiments used 83 and 65 male Long-Evans rats, respectively. Those animals were aged of 3 months and weighting 250-280 g at their arrival in the laboratory.. They were housed in quiet facilities under a 12 h light/dark cycle (light on at 7:00 A.M.) with *ad libitum* access to food and water, controlled temperature (~23°C), and a hygrometry of about 55%. All rats were kept under these conditions for the whole duration of the experiment. Animals were individually handled for 2-3 min each day over 5 consecutive days before surgery, and again before maze training. Part of them have been trained and tested in a water-maze task. The others have been kept in their home cage (HC) as controls for Golgi-Cox staining (Experiment 1) and c-Fos expression (Experiment 2).

Surgical procedure: fiber-sparing excitotoxic lesion

Surgeries were conducted under aseptic conditions as previously described (Chovin et al., 2013; Loureiro et al., 2012). Rats were anesthetized with sodium pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) and secured in a stereotaxic frame (incisor bar: -3 mm). Excitotoxic fiber-sparing lesion targeting the ventral midline thalamus (ReRh) was made using slow microinfusions of 0.1 M N-methyl-D-aspartate (NMDA: 0.1 μ L/site over 2 min, dissolved in phosphate-buffered saline; Sigma- Aldrich) via an infusion needle (0.28 mm in diameter) connected to a motorized infusion pump (CMA 100). After leaving the needle *in situ* for an additional 5 min to ensure diffusion of NMDA into the target structure, it was slowly retracted. The three infusion sites had the following coordinates (in mm): AP = -1.5, -2.1 and -2.7 mm (from bregma, respectively), DV = -7.0, -7.1 and -7.2 mm (from skull, respectively), ML = +1.8, +1.8 and +1.9 mm (from midline of the sagittal sinus, respectively). All coordinates are given according to Paxinos and Watson (2007). We used a ML angle of 15°. The sham-operated controls (Sham) were infused with an equivalent volume of phosphate-buffered saline at exactly the same coordinates. After surgery, rats were allowed to recover under a warm lamp for 20-30 min before being placed back into their home cage, where they were given a two-week rest before the start of the behavioral experiments.

Morris water-maze task

The water maze consisted of a circular pool (diameter 160 cm; height 60 cm) filled with water (21 \pm 1°C). Water was made opaque by addition of powdered milk (about 1.5g/L). The first day consisted in pretraining based on a unique 4-trial session with a visible platform (Figure 1). The platform had a diameter of 11 cm, was painted black and protruded 1 cm above the water surface. It was located in the South-East quadrant of the pool. The rats were started randomly from four different locations at the edge of the pool. During pretraining, a blue curtain surrounded the pool to prevent the use of distal cues and thus incidental encoding of spatial information. This pretraining session facilitates subsequent acquisition of the hidden platform task, rats having already learned that there was an escape platform in the pool. On the next day, the curtain was removed. Rats were then given an 8-day training with four successive acquisition trials per day (intertrial interval, 10–15 s) of a maximum duration of 60 s to learn a new location of the platform, now hidden 1 cm below the water surface (in the North-West quadrant). The sequence of the four different start locations was randomized on each day. During acquisition, a video-tracking system (SMART; PanLab) recorded the distance travelled, average swim speed, latency before reaching the platform, as well as thigmotactic behavior (i.e., the time spent swimming along the edge of the pool). For the probe trial, the platform was removed. The rats were introduced in the pool from a start point never used previously (the North-East) and allowed a 60-s swimming time to explore the

pool. The time spent in the target quadrant (i.e., where the platform was located during acquisition), the number of crossings above the annulus (corresponding to the surface of the platform enlarged by a 10-cm wide annulus) used as an index of memory precision (e.g., Lopez et al., 2012), as well as the latency to reach the former platform location were recorded. Thigmotactic behavior and average swim speed were also collected.

Insert Figure 1 about here

Experiment 1: Effects of learning and ReRh lesion on structural plasticity in the hippocampus and mPFC

NeuN immunohistochemistry to check for the placement and extent of the lesion

Brain preparation and sectioning. Immediately after the water-maze probe test, rats were deeply anesthetized with an overdose of pentobarbital (200 mg/kg i.p.). Home cage rats were killed the same way at the same time. The brains were quickly removed and dissected in three parts: a block of tissue containing the reuniens and rhomboid nuclei was removed with a razor blader and dipped for 4 h in a solution of paraformaldehyde in 0.1M PBS (4%, 4°C). This block was then transferred to a 20% sucrose solution (in 0.1M PBS) for 48 h at 4°C, before being snap-frozen in isopentane (-40°C, 1 min) and stored at -80°C until sectioning. Free-floating coronal sections (40 µm) were cut serially in a cryostat (Microm, HS 500) and stored in cryoprotectant at -20°C before being processed for immunostaining. The two other tissue blocks were used for Golgi cox staining. One extending from +4.00 to +2.52 mm from Bregma encompassed the mPFC. The other, between -1.20 mm to -4.36 mm from Bregma, encompassed the dHip (coordinates according to Paxinos and Watson, 2007).

Immunohistochemistry protocol. NeuN immunochemistry was performed using a mouse anti-NeuN antibody (1:2000, ref MAB377; Millipore) as the primary antibody, and a biotinylated anti-mouse horse antibody (1:500; Vector Laboratories) as the secondary antibody. The protocol is described in Loureiro et al. (2012). Briefly, sections were rinsed three times during 10 min in a PBS merthiolate buffer before being soaked for 1 h in 5% normal donkey serum in PBS containing 0.5% Triton X-100. The sections were subsequently transferred into the primary anti NeuN antibody solution for 18 h at room temperature. Then, they were soaked in a buffer solution containing the secondary antibody. Staining was performed with the avidin-biotin peroxidase method (Vectastain ABC kit; Vector Laboratories) coupled to diaminobenzidine.

Evaluation of *lesion placement and extent*. Serial sections through the thalamic block stained for NeuN were used to visualize the lesion placement and extent (Fig. 2). Lesions were drawn using the relevant plates of the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2007), from where they were replicated on electronic copies of the atlas. Automated pixel counts of the thalamic nuclei in the target regions and of their damaged part were used to estimate the lesion extent, including in regions adjacent to the ReRh. According to Groenewegen and Witter (2004), the Re nucleus is bordered by the so-called perireuniens (pRe). As the Re, the pRe has connections with limbic structures, particularly with the mPFC (Hoover and Vertes, 2012). Acceptable lesions were defined as having damaged at least 50% of the Re nucleus and 25% of the Rh, with limited damage to the other adjacent thalamic regions. After exclusion of animals displaying misplaced NMDA infusion sites or lesion of insufficient extent, the total number of rats in each experimental condition was as follow: 10 rats with ReRh lesion tested for recent memory, 9 rats with ReRh lesion tested for remote memory, 10 sham-operated rats per post-acquisition delay, 14 HC sham rats for each delay, 7 HC rats with ReRh lesions for the short delay, and 9 other ones for the long one. Half HC rats were killed at the same time as the rats of the 5-day post-acquisition delay, the other half being killed at the same time as the rats of the 25-d delay.

Golgi-Cox staining

Tissue preparation. The two tissue blocks including the mPFC and the hippocampus, respectively, were rinsed in bi-distilled water and immersed into impregnation solution made by mixing equal volumes of commercial solutions A (potassium dichromate and mercuric chloride) and B (potassium chromate) and stored for 3 weeks in dark at room temperature. The blocks were then transferred into solution C, in which they were kept for 48 h in darkness, at 4°C. The A, B and C reagents were from FD Neurotechnologies, Inc. Subsequently, coronal sections were cut at a thickness of 100 µm, still in darkness, using a vibratome, and mounted on gelatinized slides in solution C. Then, the slides were dried, rinsed in bi-distilled water, stained in the staining solution, dehydrated in successive baths of ethanol, cleared in xylene, and coverslipped with Eukitt.

Quantification of dendritic spines. Spine density was measured on pyramidal neurons located in layers II/III of the anterior cingulate (ACC), prelimbic (PL) and infralimbic (IL) cortices, and in CA1, CA3, and dentate gyrus (DG) subfields of the dorsal hippocampus. These structures were defined according to the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2007). For each hemisphere, three neurons were chosen in the counting window. To-be-analyzed neurons were selected under a light-transmission microscope (Leica DM550B) using low magnification. Three criteria defined a neuron that can be considered for this experiment (Restivo et al. 2009): (1) the dendrite had to be untruncated, (2) staining and impregnation

had to be homogenous along the entire extent of the dendrite, and (3) neurons had to be easily discernible and relatively well isolated from neighboring impregnated cells. Measurements were performed on apical and basal dendrites in each region, at least 50 μm away from the soma for the apical dendrites, and at least 30 μm away for the basal dendrites, on secondary and tertiary branches. These distances ensured to discard dendritic segments near the soma that are essentially devoid of spines. For each neuron, six 20- μm long segments were randomly selected on apical and basal dendrites. Counting was performed under a 1000x magnification using an oil immersion objective. Only spines that presented a discernable head and neck were counted blind to the experimental conditions. The density of spines was calculated for mushroom spines and, separately, for thin and stubby spines in a single category (Bourne and Harris, 2007).

Experiment 2: Effects of ReRh lesion on neuronal activation after retrieval in the hippocampus and mPFC

NeuN immunohistochemistry to check for the placement and extent of the lesion

Brain preparation and section processing. 90 min after the probe test in the water maze, rats received an overdose of pentobarbital (200 mg/kg i.p.) and were perfused transcardially with a 4% phosphate-buffered (0.1 M) paraformaldehyde (PFA, 4°C) solution. Brains were removed, post-fixed for 4 h (4 % PFA, 4°C) and transferred to a 20% sucrose solution for 48 h at 4°C before being snap-frozen (isopentane, -40°C, 1 min) and stored at -80°C. Free-floating coronal sections (40 μm) were cut in serial sections using a cryostat (Microm, HS 500). These sections were prepared from two tissue blocks including the mPFC and ReRh-dHip (as the two latter structures partly overlap in their antero-posterior extent), respectively (same extent as above). Home Cage (HC) animals were treated exactly the same way and at the same time. Starting at a random position, every sixth section was selected for NeuN immunohistochemistry and the following one for cresyl violet staining (for verification of the location and extent of the lesion). The next section was kept for c-Fos immunohistochemistry. Brain sections dedicated to cresyl violet staining were mounted onto gelatin-coated slides, stained and examined under light microscopy. All sections to be stained for c-Fos expression were collected and stored in cryoprotectants at -20°C before being processed.

Anti NeuN immunohistochemistry protocol. NeuN immunohistochemistry was performed exactly as described above (Experiment 1).

Evaluation of lesion placement and extent. Lesion verifications were performed exactly as for Experiment 1.

C-Fos immunohistochemistry protocol. After exclusion of animals displaying misplaced NMDA infusion sites (n=10), the total number of rats was as follow: for rats with ReRh lesion, recent memory (5d-WM): n = 8; remote memory (25d-WM): n = 8; home cage: n = 6 and 7 at the recent and remote time points (5d-HC and 25d-HC), respectively; for sham-operated rats, recent memory (5d-WM): n= 11; remote memory (25d-WM): n = 10; home cage: n = 8 and 7 at the recent and remote time points (5d-HC and 25d HC), respectively. Sections dedicated to c-Fos immunochemistry were processed at the same time, whatever the group or the delay, with a balanced distribution in each of the 24-well boxes used for staining (including HC rats). These precautions minimized technical bias. The sections were first rinsed three times during 10 min in PBS before being soaked for 1 h in 5% normal donkey serum in PBS, subsequently transferred into the primary anti-Fos rabbit polyclonal antibody (1:4000, Rabbit anti-Fos polyclonal IgG; Santa Cruz, USA) solution for 18 h at room temperature, and then soaked in a buffer solution containing the biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody (1:500, Biotin-SP-conjugated affiniPure Goat anti-rabbit IgG, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA). Staining was revealed with avidin-biotin peroxidase coupled to diaminobenzidine (Lopez et al., 2012).

Stereological analyses of c-Fos labelled sections. The quantitative analyses of c-Fos-positive nuclei were performed in the three mPFC subregions (ACC, PL, IL), as well as in the three dHip areas (CA1, CA3, DG). Quantifications have been performed on eight sections per animal. A single investigator, blind to the rats' treatment, stereologically analyzed all specimens. The overall number of c Fos-immunoreactive neurons was estimated using the optical fractionator technique allowing unbiased counting (West, 1991, 2013). The image analyses system consisted of a Leica DM5500B light microscope coupled to a Microfire CCD color camera (Optronics) equipped with a motorized x-y-z stage control. Stereological analyses were performed using the Mercator software (Explora Nova, La Rochelle, France) and all cell counts were processed online on the video image. The same intensity of light in the microscope as well as the same parameters in the exposure time of the digital camera were used for all sections. For each section, areas of interest were first outlined using a x2.5 objective (Fig. 2), and c-Fos-positive neurons counting was performed using a x100 (1.40 NA) oil-immersed objective (Fig. 7-8). Randomly positioned grids (120 x 120 μm) containing counting frames (40 x 40 μm) equidistant from each other were superimposed in the area to be counted. For each animal, the estimated total number of c-Fos positive nuclei was calculated from the total number of nuclei counted in all optical dissectors. Parameters of the optical fractionator program were as follow: area of counting frame of grid = 40x40 μm , section interval = 240 μm , dissector height = 10 μm and guard zones = 2 μm each (the latter corresponding to upper and lower borders exclusions, the mean section thickness is 14 μm). The coefficients of error reflect the variation in sampling within each animal and represent the

estimated precision of the population size calculated by the optical fractionator (Gundersen et al. 1988); they ranged from 0.04 to 0.14.

Statistical analysis

Water maze acquisition data were analyzed using a three-way ANOVA with Lesion (ReRh vs Sham) and Delay (5 days vs 25 days) as between-subject factors, and Day (1, 2 ...8) as the repeated measure. Probe trial performance was analyzed using a two-way Group X Delay ANOVA. The time spent in the target quadrant during the probe trial was also compared to chance (i.e. 15 s) using a one-sample Student's *t* test. Data of c-Fos quantification were analyzed using a two-way Group X Delay ANOVA for each structure (CA1, CA3, and DG for the dHip, and IL, PL, and ACC for the mPFC). Spine densities were analyzed using a three-way ANOVA with the following factors: Learning (home cage vs learning), Lesion (Sham, ReRh), and Delay (5 vs 25 days). The same approach was used to analyze c-Fos expression data. When appropriate, *post hoc* analyses used a Newman-Keuls test. An effect or a difference was considered significant when $p < 0.05$.

Results of Experiment 1: Water maze training, ReRh lesion and spine density in the hippocampus and prefrontal cortex

Location and extent of ReRh lesions

Figure 2 shows the largest and the smallest ReRh lesion along with photographs of tissue stained for NeuN. Quantification of the lesion extent (volume of damaged tissue) showed that there was, on average (\pm SEM), 74.0 % (\pm 3.0) damage to the Re, 29.7 % (\pm 3.6) to the left pRe, 35.5 % (\pm 4.0) to the right pRe, and 48.7 % (\pm 5.2) to the Rh. Damage to thalamic structures other than the ReRh or pRe ranged generally from non detectable to modest: the lesion encroached onto 24.1 % (\pm 3.6) of the submedian nucleus, and 7.6 % (\pm 1.8) of the anteromedian one. These lesions are comparable to those of our former studies (Ali et al., 2017; Loureiro et al., 2012). Incidental unilateral damage (due to cannula lowering into the brain) to overlying areas of the ILN and mediodorsal thalamic nuclei, hippocampus and cortex was of limited incidence.

Insert Figure 2 about here

After water maze training, recent memory was normal but failed to persist in rats with ReRh lesion

Water maze performance is illustrated in Figure 3. When rats had to swim to a visible platform, we found no significant differences among groups on distances, latencies, thigmotaxis and swimming speed; only a significant overall Trial effect was noticed on distances and latencies, which both became shorter over trials ($F_{3,105} = 85.6$, $p < 0,001$). The ANOVA of the distances to reach the hidden platform during the acquisition phase of the task only showed a significant Day effect ($F_{7,245} = 25.3$, $p < 0,001$), reflecting learning. The absence of significant Lesion ($F_{1,35} = 0.5$, NS) and Delay ($F_{1,35} = 2.8$, NS) effects, and the fact that none of the interactions was significant indicated that the learning curves were not different among experimental groups. Thus, performance during task acquisition was not affected by ReRh lesion. The ANOVA of the latencies confirmed all observations made on distances, and both thigmotaxis and swimming speeds were similar among groups (data not shown). On probe trial performance (i.e., time in the target quadrant), the ANOVA showed a significant Lesion ($F_{1,35} = 9,002$, $p < 0,01$) and a significant Delay ($F_{1,35} = 21,451$, $p < 0,001$) effect, but no significant interaction between the two factors. It is noteworthy, however, that when the time in the target quadrant was compared to chance (i.e., 15 s) within each group, Sham rats performed significantly above chance at both delays ($p < 0.01$), and ReRh rats did so only at the 5-day delay ($p < 0,01$); at the 25-day delay, ReRh rats performed at chance level ($p = 0,664$). Thus, 25 days after training, ReRh rats had forgotten the location of the platform, confirming results of one of our former studies (Loureiro et al., 2012).

Insert Figure 3 about here

Spine density in the dorsal hippocampus

Typical examples of spines are shown in Figure 4. The most significant quantitative data are illustrated in Figures 5. All other data are presented in Tables 1 and 2.

In CA3 and the dentate gyrus of the dorsal hippocampus, the number of thin and stubby spines was not modified by water maze training or post-training delay, but moderately altered by ReRh lesion

Data are shown in Table 1. The ANOVA of the number of thin and stubby spines counted on apical dendrites of region CA3 showed no significant effects of Training ($F_{1,39} = 1.3$, NS), Lesion ($F_{1,39} = 0,7$, NS) or Delay ($F_{1,39} = 1.66$, NS). None of the interactions was significant. The same was found on basal dendrites (Training: $F_{1,39} = 0.1$, NS ; Lesion $F_{1,39} = 1.3$, NS ;



Delay : $F_{1,39} = 0.2$, NS). On apical dendrites of the dentate gyrus, we found a significant Lesion effect ($F_{1,39} = 7.9$, $p < 0.01$), due to a slightly larger number of spines in HC rats with ReRh lesion. None of the interactions was significant.

Insert Figure 4 & Table 1 about here

In CA3 and the dentate gyrus of the dorsal hippocampus, the number of mushroom spines was not modified by water maze training or post-training delay, but there was a moderate ReRh lesion effect

For CA3, the data are illustrated in Figure 4. For the dentate gyrus, they are presented in Table 2. The ANOVA of the number of mushroom spines counted on apical dendrites of region CA3 showed no significant effects of Training ($F_{1,34} = 2.2$, NS), Lesion ($F_{1,34} = 0.3$, NS) or Delay ($F_{1,34} = 3.4$, NS). None of the interactions was significant, indicating that the spine density was affected by none of the three variables. The same was true for the spine density in the dentate gyrus, except that there was a significant overall Training effect ($F_{1,39} = 15.8$, $p < 0,0005$), which was due to higher spine density in learners vs. baseline rats. On basal dendrites of CA3 (see Table 2), none of the main effects and none of the interactions was significant.

Insert Table 2 about here

In CA1 of the dorsal hippocampus, the number of thin and stubby spines was increased by water maze training, but ReRh lesion and post-training delay had no effects

The data are illustrated in Figure 5 and Table 1. The ANOVA of the number of thin and stubby spines counted on apical dendrites of region CA1 showed significant effects of Training ($F_{1,40} = 40.9$, $p < 0.001$) and Lesion ($F_{1,40} = 24.0$, $p < 0.001$), but not of Delay ($F_{1,40} < 1.0$, NS). The Training x Delay interaction was also significant ($F_{1,40} = 11.9$, $p < 0.005$). All other interactions were not significant. Globally, training increased spine density, but only at the shortest delay. ANOVA of thin and stubby spine density on the basal dendrites of region CA1 yielded similar main effects, interactions, and post hoc differences.

In CA1 of the dorsal hippocampus, the number of mushroom spines was dramatically modified by water maze training, ReRh lesion and post-training delay

The data are illustrated in Figure 5 and Table 2. The ANOVA of the number of mushroom spines counted on apical dendrites of region CA1 showed significant effects of Training ($F_{1,40} = 63.0$, $p < 0.001$), Lesion ($F_{1,40} = 24.0$, $p < 0.001$) and Delay ($F_{1,40} = 7.0$, $p < 0.05$). The following interactions were also significant: Training x Lesion ($F_{1,40} = 10.0$, $p < 0.005$), Lesion x Delay ($F_{1,40} = 5.3$, $p < 0.05$), and Training x Lesion x Delay ($F_{1,40} = 25.5$, $p < 0.001$). Post-hoc comparisons showed that, globally, training increased spine density, while the lesion decreased it, as did the delay. In fact, compared to baseline, the number of spines was increased in Sham rats at both delays (5 days: $p < 0.01$; 25 days: $p < 0.001$) and in ReRh rats only at the shortest delay ($p < 0.01$); at the 25-day delay, the number of spines was no longer different from baseline. ANOVA of mushroom spine density on the basal dendrites of region CA1 yielded similar main effects, interactions, and post hoc differences.

Insert Figure 5 about here

Spine density in the medial prefrontal cortex

Typical examples of spines are shown in Figure 6. The most significant quantitative data are illustrated in Figures 7. All other data are presented in Tables 1 and 2.

In the infralimbic cortex, the number of thin and stubby spines was not modified by water maze training, ReRh lesion or post-training delay

The data are illustrated in Figure 6. The ANOVA of the number of thin and stubby spines counted on apical dendrites showed no significant effects of Training ($F_{1,34} = 0.0$, NS), Lesion ($F_{1,34} = 0.4$, NS) or Delay ($F_{1,34} = 0.0$, NS). None of the interactions was significant. On basal dendrites, none of the main effects and none of the interactions was significant.

Insert Figure 6 about here

In the prelimbic cortex, the number of thin and stubby spines was modified by water maze training, ReRh lesion or post-training delay

The data are shown in Table 1. The ANOVA of the number of thin and stubby spines counted on apical dendrites showed significant effects of Training ($F_{1,40} = 16.2$, $p < 0.001$), Lesion

($F_{1,40} = 6.1$, $p < 0.05$) or Delay ($F_{1,40} = 4.4$, $p < 0.05$). Furthermore, the Lesion x Training ($F_{1,40} = 12.5$, $p < 0.01$) and Training x Delay ($F_{1,40} = 4.7$, $p < 0.05$) interactions were significant. These interactions are explained by a number of spines that was decreased in baseline rats with ReRh lesion at the short but not at the long delay, and this decrease was compensated for by water maze training. On basal dendrites there were significant effects of Training ($F_{1,40} = 15.8$, $p < 0.001$) and Lesion ($F_{1,40} = 5.6$, $p < 0.05$), and of the Training x Lesion interaction ($F_{1,40} = 7.0$, $p < 0.05$). The interaction can be interpreted as for the apical dendrites.

In the anterior cingulate cortex, the number of thin and stubby spines was moderately modified by ReRh lesion and post-training delay

The data are illustrated in Figure 7. The ANOVA of the number of thin and stubby spines counted on apical dendrites showed significant effects of Lesion ($F_{1,40} = 5.1$, $p < 0.05$) and Delay ($F_{1,40} = 13.5$, $p < 0.001$). These effects are due to a weaker number of spines in rats with ReRh lesion and to an overall decrease of these spines over the delay. None of the interactions was significant. On basal dendrites there were also significant effects of Lesion ($F_{1,40} = 6.5$, $p < 0.05$) and Delay ($F_{1,40} = 7.9$, $p < 0.01$), but none of the interactions was significant. The main effects can be interpreted as for the apical dendrites.

Insert Figure 7 about here

In the infralimbic cortex, the number of mushroom spines was moderately modified by water maze training

The data are illustrated in Figure 7. The ANOVA of the number of mushroom spines counted on apical dendrites only showed a significant effect of Training ($F_{1,34} = 6.1$, $p < 0.05$), which, overall, reflected a slightly larger number of spines in trained rats. None of the interactions was significant. On basal dendrites, there was only a significant Training x Lesion interaction ($F_{1,34} = 7.4$, $p < 0.05$). The interaction was due to a non significant lesion-induced decrease of number of spines which the training compensated for. None of the main effects and no other interaction were significant.

In the prelimbic cortex, the number of mushroom spines was moderately modified by water maze training, post-training delay, or ReRh lesion

The data are shown in Table 2. The ANOVA of the number of mushroom spines counted on apical dendrites showed significant effects of Training ($F_{1,40} = 10.0$, $p < 0.01$), Delay ($F_{1,40} = 5.4$, $p < 0.05$), and of the Training x Lesion interaction ($F_{1,40} = 4.4$, $p < 0.05$). The Training

effect reflected a higher number of spines in trained rats, and the Delay effect a reduced number after the long delay. The interaction is due a lesion-induced reduction of the spine number in baseline rats at the shortest delay, which training had compensated for. On basal dendrites, there were significant effects of Lesion ($F_{1,40} = 4.3$, $p < 0.05$) and Delay ($F_{1,40} = 16.1$, $p < 0.001$). The Training x Delay ($F_{1,40} = 5.4$, $p < 0.05$) and the Lesion x Delay interactions ($F_{1,40} = 8.4$, $p < 0.01$) were significant, and can be interpreted as for the apical dendrites.

In the anterior cingulate cortex, the number of mushroom spines was dramatically modified by water maze training, post-training delay, and ReRh lesion

The data are illustrated in Figure 7. The ANOVA of the number of mushroom spines counted on apical dendrites showed significant effects of Training ($F_{1,40} = 45.1$, $p < 0.001$), Lesion ($F_{1,40} = 23.6$, $p < 0.001$), and Delay ($F_{1,40} = 12.8$, $p < 0.001$). Furthermore, all interactions among main factors were significant (e.g., Training x Lesion x Delay: $F_{1,40} = 15.9$, $p < 0.001$). The main effects and the interactions are essentially due to the fact that training resulted in a huge increase of the number of spines in Sham rats at the long delay when compared with the shortest one ($p < 0.01$), a modification that was not observed in rats with ReRh lesion. On basal dendrites, statistical analyses led to comparable conclusions: all main effects were significant, and when the interactions were not, they tended towards significance (Training x Lesion: $F_{1,40} = 3.1$, $p = 0.08$; Lesion x Delay : $F_{1,40} = 3.4$, $p = 0.07$).

Results of Experiment 2: ReRh lesion and c-Fos expression

Location and extent of ReRh lesions

Figure 8 shows the largest and the smallest ReRh lesion along with photographs of tissue stained for NeuN. Quantification of the lesion extent (volume of damaged tissue) showed that there was, on average (\pm SEM), 71.9 % (\pm 2.4) damage to the Re, 45.1 % (\pm 4.8) to the left pRe, 40.4 % (\pm 3.6) to the right pRe, and 46,5 % (\pm 4.5) to the Rh. Damage to thalamic structures other than the ReRh or pRe ranged generally from non detectable to modest: the lesion encroached onto 13.6 % (\pm 2.0) of the submedian nucleus, and 6.0 % (\pm 1.9) of the anteromedian one. These lesions are comparable with those of our former studies (Ali et al., 2017; Loureiro et al., 2012) and of our first experiment. Incidental unilateral damage (due to cannula lowering into the brain) to overlying areas of the ILN and mediodorsal thalamic nuclei, hippocampus and cortex was very limited.

Insert Figure 8 about here

Water maze learning and recent memory were normal, but memory did not persist in rats with ReRh lesion

Water maze performance is illustrated in Figure 9. When rats had to swim to a visible platform, we found no significant difference among groups on distances, latencies, thigmotaxis, and swimming speed. A significant overall Trial effect was noticed on distances (and on the other variables), which became shorter over trials ($F_{3,99} = 45.5$, $p < 0.001$). The ANOVA of the distances to reach the hidden platform during the acquisition phase of the task only showed a significant Day effect ($F_{7,231} = 58.5$, $p < 0.001$), which reflected learning. The absence of significant Lesion ($F_{1,33} = 0.1$, NS) and Delay ($F_{1,33} = 0.0$, NS) effects, and the fact that none of the interactions was significant indicated that the learning curves were not different among experimental groups. Thus, task acquisition was not affected by ReRh lesion. The ANOVA of the latencies confirmed all observations made on distances, and thigmotaxis as well as swimming speeds were not divergent among groups. On probe trial performance (i.e., time in the target quadrant), the ANOVA showed no significant overall Lesion effect ($F_{1,33} = 2.8$, NS). The Delay effect, however, was significant ($F_{1,33} = 15.2$, $p < 0.001$) as was the Lesion x Delay interaction ($F_{1,33} = 7.9$, $p < 0.01$). When the time in the target quadrant was compared to chance (i.e., 15 s) in each group, Sham rats performed significantly above chance at both delays ($p < 0.01$), and ReRh rats did so, but only at the 5-day delay ($p < 0.01$); at the 25-day delay, ReRh rats performed at chance level ($p = 0.582$). In other words, 25 days after training, ReRh rats had forgotten the location of the platform, confirming a former of our studies (Loureiro et al., 2012) and, herein, the findings of our first experiment.

Insert Figure 9 about here

Effects of ReRh lesion on c-Fos expression patterns after recent vs. remote memory retrieval

C-Fos expression was increased by training in the dorsal hippocampus, and ReRh lesions slightly reduced it in CA3 and DG subfields

Typical c-Fos expression patterns are shown in Figure 10. The quantitative data are shown in Figure 11. The ANOVA of the number of c-Fos-positive neurons counted in CA1 region only showed a significant effect of Training ($F_{1,57} = 56.6$, $p < 0.001$). All other main effects and all interactions were not significant. Trained rats showed c-Fos expression levels that were dramatically increased (vs. their home cage controls). In CA3 region, there was no significant effect of Lesion ($F_{1,57} = 0.7$, NS) or Delay ($F_{1,57} = 1.66$, NS), but the Training effect was significant ($F_{1,57} = 56.9$, $p < 0.001$), reflecting increased numbers of c-Fos-positive neurons in trained rats. There was also a significant Lesion x Training interaction ($F_{1,57} = 4.7$, $p < 0.05$). This interaction was due to the fact that following ReRh lesion, the Training effect was attenuated. All other interactions were not significant. Finally, in the dentate gyrus, there were no significant Lesion ($F_{1,57} = 2.6$, NS) or Delay ($F_{1,57} = 0.3$, NS) effects, but the Training effect was significant ($F_{1,57} = 40.0$, $p < 0.001$); trained rats showed more c-Fos-positive neurons. There was also a significant Lesion x Training interaction ($F_{1,57} = 5.1$, $p < 0.05$), which was due to a reduced effect of training on the overall c-Fos expression level in ReRh rats as compared to their controls ($p < 0.01$).

Insert Figure 10 & 11 about here

C-Fos expression was increased by training in the medial prefrontal cortex ; the large potentiation of this effect by the delay was substantially reduced by the lesion

The data are illustrated in Figures 12 and 13. The ANOVA of the number of c-Fos-positive neurons counted in the IL cortex showed significant effects of Training ($F_{1,57} = 93.8$, $p < 0.001$) and Delay ($F_{1,57} = 11.1$, $p < 0.01$), not of Lesion ($F_{1,57} = 2.0$, NS). Overall, c-Fos expression levels were larger in trained (vs. home-cage) rats, and larger following remote (vs. recent) memory retrieval. There was also a significant Training x Delay interaction ($F_{1,57} = 17.1$, $p < 0.001$), which was due to a number of c-Fos positive neurons that was larger after 25 d (vs. 5 d) in trained rats. In the prelimbic cortex, the ANOVA showed significant effects of Training ($F_{1,57} = 98.2$, $p < 0.001$) and Delay ($F_{1,57} = 14.5$, $p < 0.001$), not of Lesion ($F_{1,57} = 3.3$, $p = 0.07$). Overall, c-Fos expression levels were larger in trained (vs. home-cage) rats, and larger following remote (vs. recent) memory retrieval. The Lesion x Training ($F_{1,57} = 93.8$, $p <$

0.001) and Delay x Training ($F_{1,57} = 93.8$, $p < 0.001$) interactions were the only ones to be significant. They mainly reflected a reduced Training effect in rats with ReRh lesion and a larger Training effect at the 25 d (vs. 5 d) delay. Finally, in the ACC, the ANOVA showed significant Lesion ($F_{1,57} = 6.7$, $p < 0.01$), Training ($F_{1,57} = 145.6$, $p < 0.001$) and Delay ($F_{1,57} = 17.3$, $p < 0.001$) effects. The main effects were due to c-Fos expression which was lower after the lesion (vs. sham), higher after Training (vs. home cage), and larger for remote (vs. recent) memory retrieval. There were also significant Lesion x Training ($F_{1,57} = 5.9$, $p < 0.05$), Delay x Training ($F_{1,57} = 19.0$, $p < 0.001$), and Lesion x Training x Delay ($F_{1,57} = 5.0$, $p < 0.05$) interactions. The latter interaction was mainly due to a much reduced Training effect in the rats with ReRh after the 25 d (vs. Sham at the same delay).

Insert Figures 12 & 13 about here

Discussion

After ReRh lesion, rats acquire the platform location in a water maze task, remember it after 5 post-acquisition days, but perform at chance after 25 days (Loureiro et al., 2012). Because reversible inactivation of the ReRh did not hinder remote memory retrieval (Loureiro et al., 2012), we hypothesized that the ReRh lesion may have interfered with plasticity mechanisms underlying systems consolidation of the spatial memory. Our current results first confirmed that following ReRh lesion, memory does not persist after normal task acquisition. Second, beside other findings, we established that spatial learning resulted in a significant increase in the number of mushroom spines in region CA1. This increase persisted between 5 and 25 days post-acquisition in Sham rats, but not in ReRh rats. Third, in the ACC of Sham rats, learning had triggered a dramatic increase of the density of mushroom spines after 25 post-acquisition days, which was not observed in the rats with ReRh lesion. Thus, ReRh lesion altered the persistence of mushroom spines grown in CA1 as a result of training, and prevented training-related spinogenesis in ACC of the mPFC. We therefore hypothesized that if these lesion-induced effects were implicated in the absence of systems consolidation of the spatial memory, rats with ReRh lesion, conversely to their sham-operated counterparts, should exhibit evidence for reduced activation in CA1 and/or ACC when tested for remote (not recent) memory retrieval. This is what the c-Fos approach of our second experiment has partly demonstrated. The increase of c-Fos expression due to memory retrieval was not affected by the lesion in CA1, be it for recent or remote memory. However, in the ACC, and also in the PL, the level of c-Fos expression found at 25 days post-acquisition was significantly reduced in rats with ReRh lesion.



Learning and time-dependent spine growth in the dHip and the mPFC

It is sometimes considered that thin or short spines are unstable, whereas large spines, such as mushroom ones, are stable, and therefore would be necessary for memory persistence (e.g., Kasai et al., 2010). For some authors, thin spines are 'learning spines' whereas large ones are 'memory spines' (Bourne and Harris, 2007). Modifications of dendritic spine density in the hippocampus after spatial learning have been described in earlier studies (e.g., Hongpaisen et al., 2007; Moser et al., 1994; O'Malley et al., 2000), although not always in terms of learning-triggered increase (e.g., Ryan et al., 2015; Sanders et al., 2012). Using a contextual fear conditioning task, Restivo et al. (2009) provided evidence for time-dependent neuronal remodeling in both the dHip and the ACC as shown by particular spine formation dynamics in each structure. One day after conditioning, the number of spines counted in stratum radiatum (apical dendrites) and stratum oriens (basal dendrites) of CA1 was increased. At this post-learning delay, in layers II and III of the mPFC, the number of spines was unchanged. At a later time point (i.e., 30 days), the number of spines had substantially decreased in CA1, but increased in the ACC. Similar results have been reported by Abate et al. (2018), who provided evidence for an implication of Ephrin B2, a cell adhesion factor, in plasticity regulation in both the dHip and mPFC. Evidence that such structural remodeling in the mPFC supports remote memory comes from other studies (Cole et al., 2012; Vetere et al., 2011). Interestingly, a hippocampal lesion disrupted both remote memory formation and the increase of spine density in the mPFC, suggesting that cortical plasticity underlying remote memory formation is hippocampus-driven. Furthermore, when remote contextual fear memory requires the mPFC, it no longer depends on the hippocampus (Frankland and Bontempi, 2005).

This observation is at variance with our observations on spatial memory. Indeed, in a previous study, we found that recent spatial memory (tested 5 days post-acquisition) depended on the hippocampus, not on the mPFC (Lopez et al., 2012). However, remote spatial memory (tested 25 days post-acquisition) could be altered by reversible inactivation of either the ACC or the dHip, suggesting a systems consolidation process in which the hippocampus undergoes no time-dependent disengagement, while the mPFC is becoming more and more necessary over time. This finding is highly compatible with our following results: i) water maze training had increased the number of mushroom spines in CA1 of the dHip after 5 post-acquisition days, and this number had not decreased after 20 additional days; ii) the contribution of the dHip to remote spatial memory was further supported by our c-Fos data: in CA1 (and CA3 or DG), there was an increased (and comparable) expression of c-Fos at both post-acquisition delays; iii) in the ACC, the number of mushroom spines was increased dramatically at the remote (not the recent) time point, and iv) c-Fos expression

was larger at the remote as compared with the recent timepoint in the ACC (and the PL) of our sham-operated rats. This is evidence that spatial learning triggers a time- and region-dependent rearrangement of dendritic mushroom spines, which consists in a relatively rapid and persistent increase of spine density in region CA1 of the dHip, and a delayed increase in the ACC of the mPFC.

Not only mushroom spines have been affected by the spatial learning experience. In fact, thin and stubby spines also responded to training, although to a much weaker degree than mushroom spines. They were not affected in the mPFC at our post-acquisition delays. In region CA1 of the dHip, the density of thin and stubby spines was significantly augmented by training, but only after the shortest of both post-acquisition delays. This clearly indicates that thin and stubby spines undergo regulatory influence related to recent memory formation and then, over time, recover a baseline level density. As these spines are sometimes considered as learning spines, this observation could sound surprising. Indeed, when our rats were killed, learning was over since 5 days. However, there is more or less direct evidence in the literature indicating that thin spines can actually be increased after a spatial task has been acquired (e.g., Gonzalez-Ramirez et al., 2014), or that their density may correlate with spatial memory performance (Harland et al., 2014; Pereira et al., 2014; Xu et al., 2017). In one study, thin and even stubby spines were increased once water maze training was completed (Beltran-Campos et al., 2011). Finally, it is noteworthy that treatments (such as a lesion) or aging, which affect the density of mushroom spines, also occasionally affect that of thin spines (e.g., Gonzalez-Ramirez et al., 2014; Harland et al., 2014). Altogether, our results in sham-operated rats indicate that recent spatial memory could be supported by connectivity changes in CA1 of the dorsal hippocampus, which seemingly also contribute to remote memory, a time where connectivity changes have occurred in the mPFC, as memory recall can be disrupted by inactivation of either structure (Lopez et al., 2012).

Effects of ReRh lesion on spine growth and spine persistence

ReRh lesion affects several cognitive processes simultaneously engaging the prefrontal cortex and the hippocampus. These include strategy shifting in a spatial navigation task (Cholvin et al., 2013), generalization of fear memory attributes (Xu and Südhof, 2013), flexible adaptation of goal-directed behavior (Linley et al., 2016), and spatial working memory (Griffin, 2015; Hembrook et al., 2012; Layfield et al., 2015; Maisson et al., 2018). We also know that ReRh lesion interferes with systems-level consolidation by disabling the formation of a remote spatial memory while leaving acquisition and recent memory retrieval unaffected (Loureiro et al., 2012). Our present results not only confirm that after ReRh lesion a spatial reference memory does not become enduring, they also provide new insight into the neurobiological causes of the non persistence of such memory. These causes combine at

least two events: i) the training-triggered remodeling of hippocampal connections, as documented by the increase of dendritic spines in hippocampal region CA1, did not persist between 5 and 25 post-acquisition days, and ii) the time-dependent remodeling of cortical connections which occurs in the mPFC (ACC) and is reflected by the increase of spines between the two delays in control rats, did not occur following ReRh lesion. That these alterations are causal to memory fading is not indisputable. It is noteworthy, however, that the rats in which remodeling of cortical connections was hindered by ReRh lesion were also exhibiting a reduced c-Fos expression in the ACC and PL cortices after the probe trial assessing remote memory. Conversely, c-Fos expression corresponding to recent memory retrieval did not significantly differ from controls. The relationship between the non increase of spine density in the mPFC after ReRh lesion and the remote memory deficit is further supported by data from the literature, although in another task/species: because the transcription factor MEF2 (myocyte enhancer factor) negatively regulates spinogenesis, Vetere et al. (2011) increased its function in the ACC of mice by viral transfection shortly after contextual fear conditioning. When tested 7 days after the transfection, the mice exhibited evidence not only for reduced freezing towards context but also for disrupted spine growth, indicating clearly that the alteration of spinogenesis in the ACC hinders memory formation. Our present results do not enable to attribute the absence of remote memory only to the lack of increased spinogenesis in the ACC and PL. It is well possible that its combination with the non persistent increase of spinogenesis in CA1 was the determinant reason. Indeed, a reversible inactivation of one or the other of these two structures at a remote time point disrupts recall in a water maze probe trial (Lopez et al., 2012). Nevertheless, the fact that following ReRh lesion, c-Fos expression accompanying the probe trial taxing remote spatial memory shows its largest lesion-induced reduction in the ACC is compatible with a higher incidence of the lesion-induced consequences on the reorganization of mPFC connectivity.

Conclusions

We have shown for the first time that lesion of the ReRh disrupts spatial remote memory formation by interfering with two learning-triggered phenomena: persistence of remodeled hippocampal connections and delayed spinogenesis in the mPFC.. These findings point to a need for understanding how the ReRh lesion interferes with the molecular mechanisms driving spinogenesis and spine maturation in the hippocampus and medial prefrontal cortex. Such understanding will extend our knowledge about ventral midline thalamus implications in systems-level memory consolidation, thus helping to unravel how the brain process information to achieve memory storage and persistence.

Acknowledgments:

This work was supported by the Agence Nationale de la Recherche (ANR grant 14-CE13-0029-01), the University of Strasbourg, the CNRS, INSERM, and by the Région Alsace (a territory now belonging to Région Grand Est) which contributed (50%) to the PhD fellowship allocated to M.M.K., as well as by the french government which provided a PhD fellowship to T.C. The authors acknowledge Olivier Bildstein, Daniel Egesi and George Edomwony for their precious contribution to animal care, as well as Mathilde Köhler, Manon Gerum, and Martin Deligny for providing technical help.

Conflict of interest:

The authors have no conflict of interest to declare.

References

Abate G, Colazingari S, Accoto A, Conversi D, Bevilacqua A. 2018. Dendritic spine density and EphrinB2 levels of hippocampal and anterior cingulate cortex neurons increase sequentially during formation of recent and remote fear memory in the mouse. *Behavioural Brain Research*. 344:120-131.

Ali M, Cholvin T, Muller MA, Cosquer B, Kelche C, Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A. 2017. Environmental enrichment enhances systems-level consolidation of a spatial memory after lesions of the ventral midline thalamus. *Neurobiology of Learning and Memory*. 141:108–123.

Beltrán-Campos V, Prado-Alcalá RA, León-Jacinto U, Aguilar-Vázquez A, Quirarte GL, Ramírez-Amaya V, Díaz-Cintra S. 2011. Increase of mushroom spine density in CA1 apical dendrites produced by water maze training is prevented by ovariectomy. *Brain Research*. 1369:119–130.

Bourne J, Harris KM. 2007. Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? *Current Opinion in Neurobiology*. 17:381–386.

Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A, Loureiro M, Cholvin T, Dalrymple-Alford JC, Vertes RP. 2013. The reuniens and rhomboid nuclei: Neuroanatomy, electrophysiological characteristics and behavioral implications. *Progress in Neurobiology*. 111:34–52.

Cholvin T, Loureiro M, Cassel R, Cosquer B, Geiger K, De Sa Nogueira D, Raingard H, Robelin L, Kelche C, Pereira de Vasconcelos A, Cassel JC. 2013. The ventral midline thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal cortical and hippocampal functions. *Journal of Neuroscience*. 33:8772–8783.

Cole CJ, Mercaldo V, Restivo L, Yiu AP, Sekeres MJ, Han JH, Vetere G, Pekar T, Ross PJ, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA. 2012. MEF2 negatively regulates learning-induced structural plasticity and memory formation. *Nature Neuroscience*. 15:1255-64.

Frankland PW, Bontempi B. 2005. The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience*. 6:119–130.

González-Ramírez MM, Velázquez-Zamora DA, Olvera-Cortés ME, González-Burgos I. 2014. Changes in the plastic properties of hippocampal dendritic spines underlie the

attenuation of place learning in healthy aged rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 109:94–103.

Griffin AL. 2015. Role of the thalamic nucleus reuniens in mediating interactions between the hippocampus and medial prefrontal cortex during spatial working memory. *Frontiers Systems Neuroscience* 2015 Mar 10;9:29.

Groenewegen HJ, Witter MP. 2004. Thalamus. In: Paxinos G. *The Rat Nervous System*. 3th ed.

Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B. 1988. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*. 96:857–881.

Hallock HL, Wang A, Griffin AL. 2016. Ventral midline thalamus is critical for hippocampal-prefrontal synchrony and spatial working memory. *Journal of Neuroscience*. 36:8372–8389.

Harland BC, Collings DA, Mcnaughton N, Abraham WC, Dalrymple-Alford JC. 2014. Anterior thalamic lesions reduce spine density in both hippocampal CA1 and retrosplenial cortex, but enrichment rescues CA1 spines only. *Hippocampus*. 24:1232–1247.

Hembrook JR, Onos KD, Mair RG. 2012. Inactivation of ventral midline thalamus produces selective spatial delayed conditional discrimination impairment in the rat. *Hippocampus*. 22:853–860.

Hongpaisan J, Alkon DL. 2007. A structural basis for enhancement of long-term associative memory in single dendritic spines regulated by PKC. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104:19571-19576.

Hoover WB, Vertes RP. 2012. Collateral projections from nucleus reuniens of thalamus to hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat: a single and double retrograde fluorescent labeling study. *Brain Structure and Function*. 217:191–209.

Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi A, Noguchi J. 2010. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends in Neurosciences*. 33 :121–129.

Layfield DM, Patel M, Hallock H, Griffin AL. 2015. Inactivation of the nucleus reuniens/rhomboid causes a delay-dependent impairment of spatial working memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 125 :163–167.

Lesburgueres E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi B. 2011. Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science*. 331:924–928.

Linley SB, Gallo MM, Vertes RP. 2016. Lesions of the Ventral Midline Thalamus Produce Deficits in Reversal Learning and Attention on an Odor Texture Set Shifting Task. *Brain Research*. 1649:110-122.

Lopez J, Herbeaux K, Cosquer B, Engeln M, Muller C, Lazarus C, Kelche C, Bontempi B, Cassel J-C, de Vasconcelos AP. 2012. Context-dependent modulation of hippocampal and cortical recruitment during remote spatial memory retrieval. *Hippocampus*. 22:827–841.

Loureiro M, Lecourtier L, Engeln M, Lopez J, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A. 2012. The ventral hippocampus is necessary for expressing a spatial memory. *Brain Structure and Function*. 217:93–106.

Maisson DJ, Gemzik ZM, Griffin AL. 2018. Optogenetic suppression of the nucleus reuniens selectively impairs encoding during spatial working memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 155:78-85.

Moser MB, Trommald M, Andersen P. 1994. An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91:12673-12675.

O'Malley A, O'Connell C, Murphy KJ, Regan CM. 2000. Transient spine density increases in the mid-molecular layer of hippocampal dentate gyrus accompany consolidation of a spatial learning task in the rodent. *Neuroscience*. 99:229–232.

Paxinos G, Watson C. 2007. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed. Amsterdam ; Boston: Academic Press/Elsevier.

Pereira AC, Lambert HK, Grossman YS, Dumitriu D, Waldman R, Jannetty SK, Calakos K, Janssen WG, McEwen BS, Morrison JH. 2014. Glutamatergic regulation prevents hippocampal-dependent age-related cognitive decline through dendritic spine clustering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 111:18733-18738.

Restivo L, Vetere G, Bontempi B, Ammassari-Teule M. 2009. The formation of recent and remote memory is associated with time-dependent formation of dendritic spines in the hippocampus and anterior cingulate cortex. *Journal of Neuroscience*. 29:8206–8214.

Roy A, Svensson FP, Mazei A, Kocsis B. 2017. Prefrontal-hippocampal coupling by theta rhythm and by 2–5 Hz oscillation in the delta band: The role of the nucleus reuniens of the thalamus. *Brain Structure and Function*. 222:2819-2830.

Ryan TJ, Roy DS, Pignatelli M, Arons A, Tonegawa S. 2015. Engram Cells Retain Memory Under Retrograde Amnesia. *Science*. 348(6238):1007–1013

Sanders J, Cowansage K, Baumgärtel K, Mayford K. 2012. Elimination of dendritic spines with long-term memory is specific to active circuits. *Journal of Neuroscience*. 32(36):12570–12578

Squire LR, Genzel L, Wixted JT, Morris RG. 2015. Memory Consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 7:a021766.

Thielen JW, Takashima A, Rutters F, Tendolkar I, Fernández G. 2015. Transient relay function of midline thalamic nuclei during long-term memory consolidation in humans. *Learning and Memory*. 22:527-531.

Thierry AM, Gioanni Y, Dégénétais E, Glowinski J. 2000. Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus*. 10:411–419.

Varela C, Kumar S, Yang JY, Wilson MA. 2014. Anatomical substrates for direct interactions between hippocampus, medial prefrontal cortex, and the thalamic nucleus reuniens. *Brain Structure and Function*. 219:911–929.

Vertes RP. 2004. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the Rat. *Synapse*. 51:32-58.

Vetere G, Restivo L, Cole CJ, Ross PJ, Ammassari-Teule M, Josselyn SA, Frankland PW. 2011. Spine growth in the anterior cingulate cortex is necessary for the consolidation of contextual fear memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 108:8456-8460.

West MJ, Slomianka L, Gundersen HJG. 1991. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *The Anatomical Record* 231: 482-497.

West MJ. 2013. Getting started in stereology. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2013:287-297.

Xu B, Sun A, He Y, Qian F, Liu L, Chen Y, Luo H. 2017. Running-induced memory enhancement correlates with the preservation of thin spines in the hippocampal area CA1 of old C57BL/6 mice. *Neurobiology of Aging*. 52 :106–116.

Xu W, Südhof TC. 2013. A neural circuit for memory specificity and generalization. *Science*. 339:1290–1295.

Figure captions

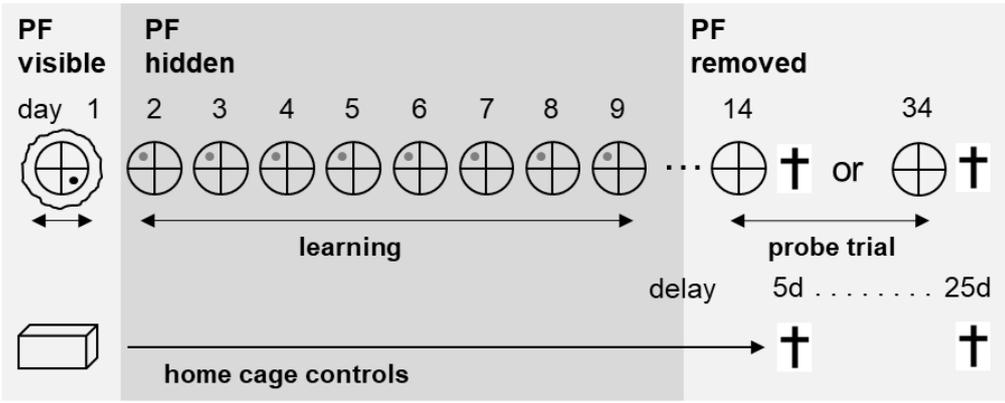


Figure 1: Timeline of behavioral testing in Experiment 1. Training was started with the visible platform 2 weeks after lesion surgery. Recent memory was tested 5 days and remote memory 25 days after the end of task acquisition, thus 14 and 34 days after visible platform (PF) pretraining, respectively. Experiment 2 used the same timeline. Rats were killed after the probe trial in both experiments.

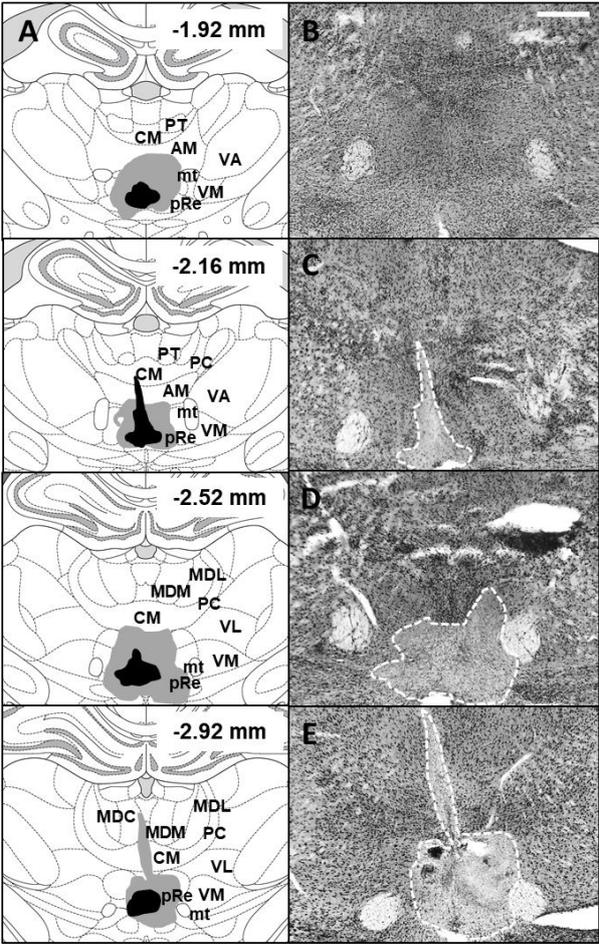


Figure 2: Drawing of the smallest (dark grey) and largest (light grey) ReRh lesions on plates corresponding to coronal sections of the rat brain (A, anteroposterior level given in mm according to Paxinos and Watson, 2007), and photomicrographs illustrating these lesions (C,D,E) on brain sections immunostained for NeuN in Experiment 1. B is showing the same thalamic area in a control animal. C shows a small lesion and E a large one; D an intermediate, typical one. Scale bar = 1 mm. Abbreviations: AM: anteromedial thalamic nucleus; CM: central medial thalamic nucleus; MDC: mediodorsal thalamic nucleus, central part; MDM: mediodorsal thalamic nucleus, medial part; mt: mammillothalamic tract; PC: paracentral thalamic nucleus; pRe: perireuniens

thalamic nucleus; PT: paratenial thalamic nucleus; Sub: submedius thalamic nucleus; VA: ventral anterior thalamic nucleus; VL: ventrolateral thalamic nucleus; VM: ventromedial thalamic nucleus.

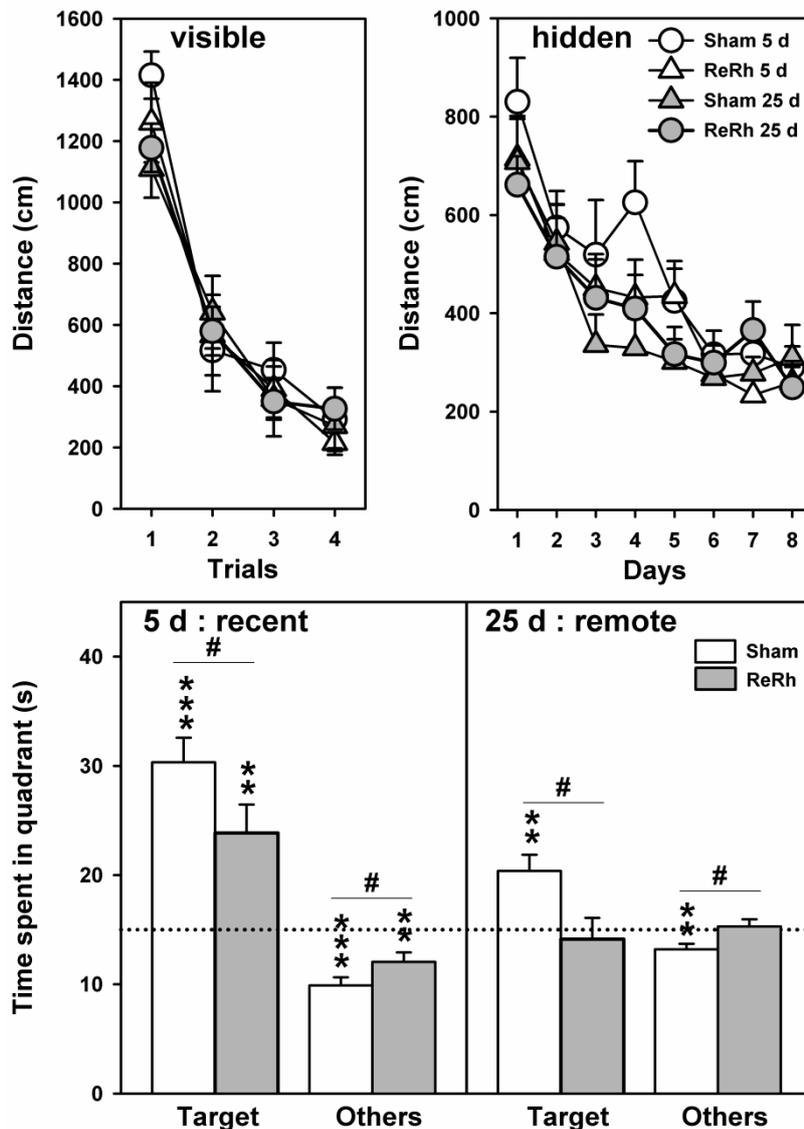


Figure 3: Performance of sham-operated rats (Sham) and rats subjected to excitotoxic lesions of the reuniens and rhomboid nuclei (ReRh) in the MWM task with a visible platform (top left), with a hidden platform (top right), and during the probe trial assessing recent memory at a post acquisition delay of 5 days (5 d; bottom left) or remote memory at a delay of 25 days (25 d; bottom right). In rats with ReRh lesions, the acquisition of the hidden platform task was normal, and the rats remembered the platform location at the 5-day delay. Contrariwise, at the 25-day delay, only sham-operated

rats were able to remember the platform location. Statistical analyses: significantly above chance level (dotted line): ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; significant effect of the lesion: # $p < 0.05$.

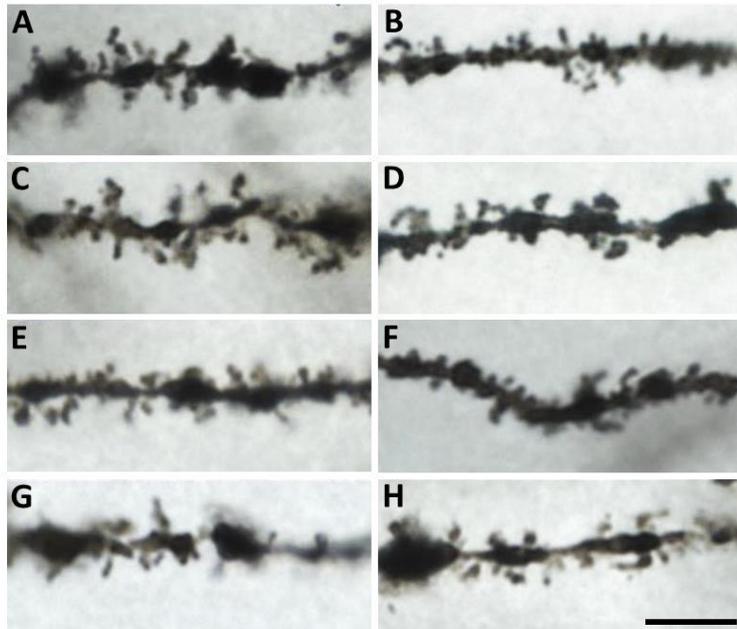


Figure 4: Photomicrographs showing dendritic spines on apical dendrites in CA1 of control rats and rats that were trained (or not) in the water maze and tested in a probe trial 5 or 25 days post-acquisition after a sham-operation or a lesion of the reuniens and rhomboid (ReRh) nuclei. A-D: home cage (HC) control rats; E-H: trained rats. A: HC, Sham, 5 d; B: HC, Sham, 25 d; C: HC, ReRh, 5 d; D: HC, ReRh, 25 d; E: Learn, Sham, 5 d; F: Learn, Sham, 25 d; G: Learn, ReRh, 5 d; H: Learn, ReRh, 25 d. Scale bar = 2 μ m.

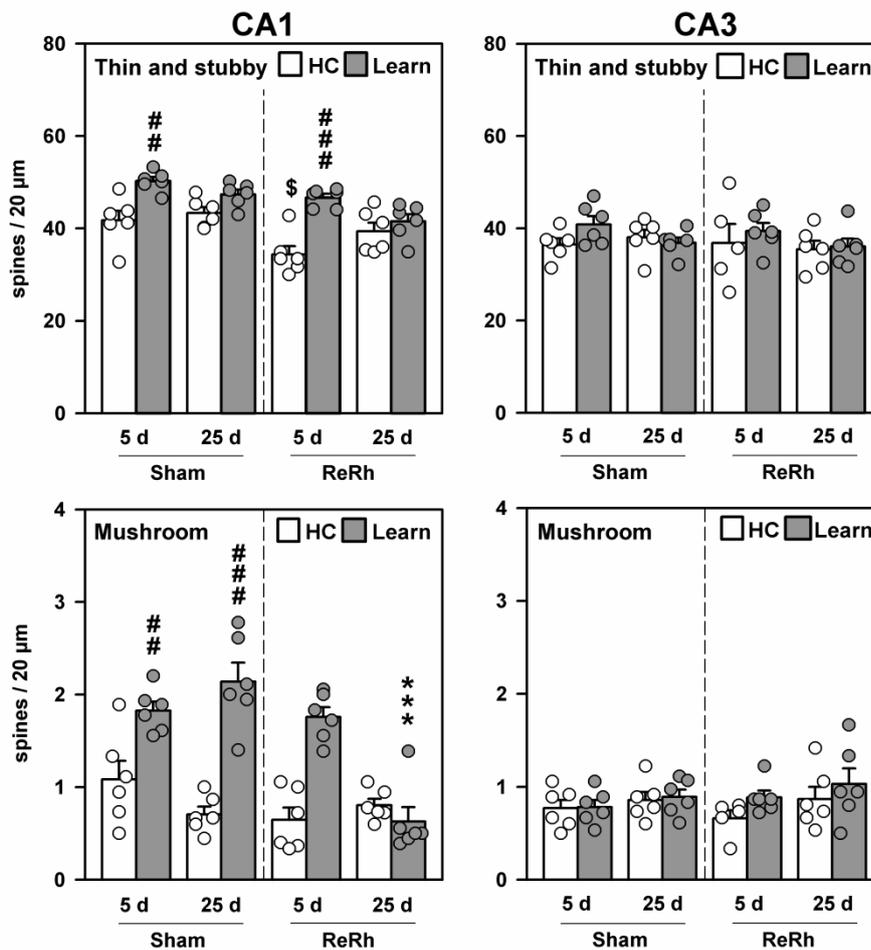


Figure 5: Average spine densities on apical dendrites in regions CA1 and CA3 of the dorsal hippocampus of rats that had been trained (Learn) or not (HC) in a water maze task and subsequently tested in a probe trial 5 days (5 d) or 25 days (25 d) after the end of training. Rats had either been sham-operated (Sham) or subjected to an excitotoxic lesion of the reuniens and

rhomboid nuclei (ReRh) before training. In CA3, there were no significant modifications related to training, lesion or delay. On CA1 apical dendrites, after the 5-day delay, learning had triggered an increase of thin and stubby spine density in both Sham and ReRh animals, a modification no longer observed after 25 days. On CA1 apical dendrites of Sham rats, learning had also triggered an increase in mushroom spine density after both post-acquisition delays. Rats with ReRh lesions showed a comparable change after the shortest delay (5 days); however, after 25 days, the spine density in ReRh animals had returned to the baseline / HC controls level, indicating that the plasticity triggered by learning did not last in the absence of ReRh nuclei. Statistical analyses: significant effect of Training: ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$; significant effect of Lesion: *** $p < 0.001$.

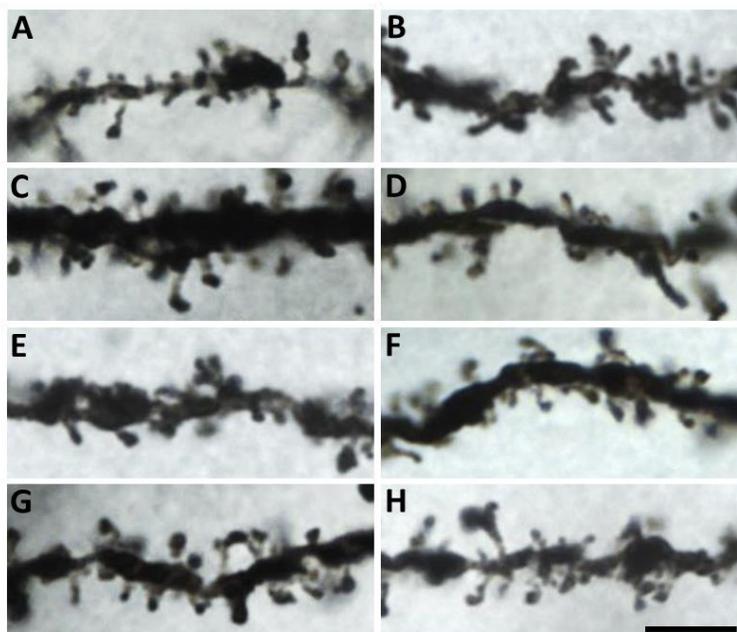


Figure 6: Photomicrographs showing dendritic spines on apical dendrites in ACC of control rats and rats that had been trained in the water maze and subsequently tested in a probe trial 5 or 25 days post-acquisition after a sham-operation or a lesion of the reuniens and rhomboid (ReRh) nuclei. A-D: home cage (HC) control rats; E-H: trained rats. A: HC, Sham, 5 d; B: HC, Sham, 25 d; C: HC, ReRh, 5 d; D: HC, ReRh, 25 d; E: Learn, Sham, 5 d; F: Learn, Sham, 25 d; G: Learn, ReRh, 5 d; H: Learn, ReRh, 25 d. Scale bar = 2 μ m.

HC, ReRh, 25 d; E: Learn, Sham, 5 d; F: Learn, Sham, 25 d; G: Learn, ReRh, 5 d; H: Learn, ReRh, 25 d. Scale bar = 2 μ m.

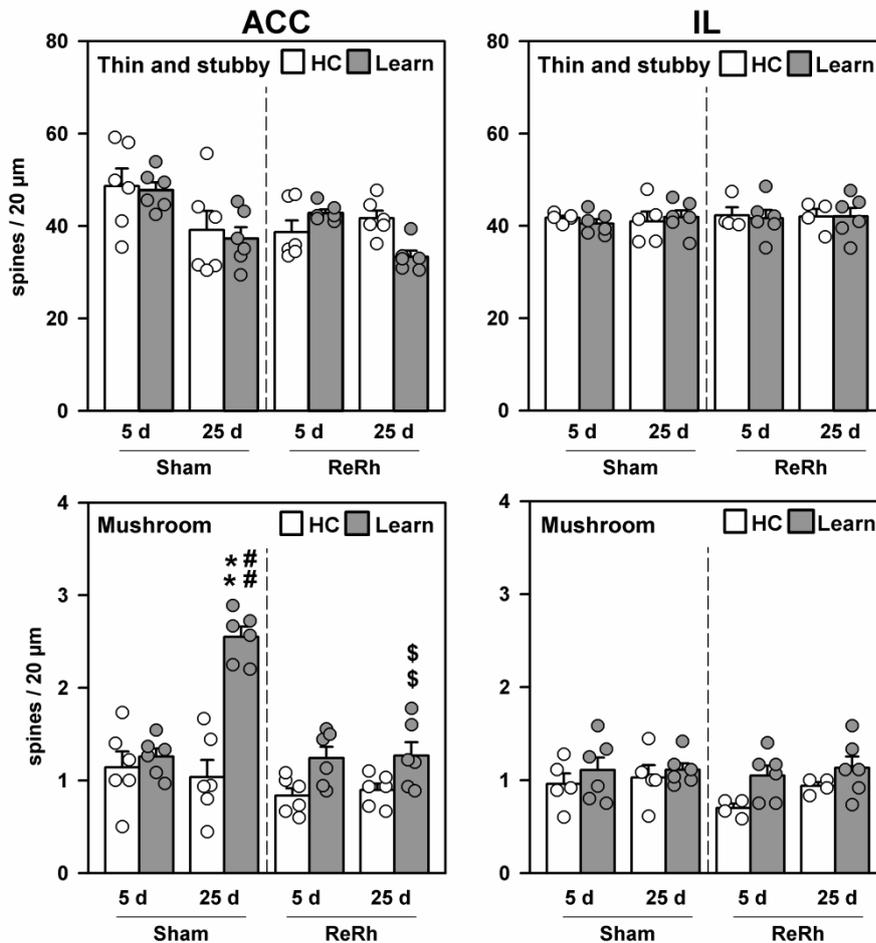


Figure 7: Average spine densities on apical dendrites in the ACC and IL cortices of rats that had been trained (Learn) or not (HC) in a water maze task and subsequently tested in a probe trial 5 d or 25 d after the end of training. Rats had either been sham-operated (Sham) or subjected to an excitotoxic lesion of ReRh nuclei before training. In the IL, there were no significant

modifications related to training, lesion or delay. On ACC apical dendrites of Sham rats, there was no effect of training, lesion or delay on thin and stubby spine density. However, learning had triggered a marked increase in mushroom spine density after the 25 d post-acquisition delay. In ReRh rats, this modification was not detectable, a difference that could account for the intact recent memory and impaired remote memory in ReRh rats. Statistical analyses: significant effect of Training : ## $p < 0.01$; significant effect of Lesion : ** $p < 0.001$.

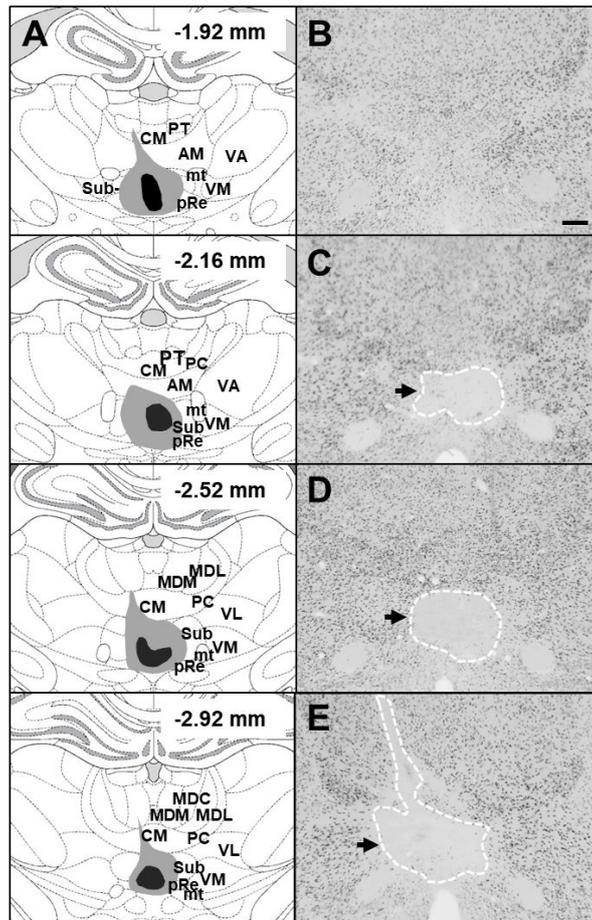


Figure 8: Drawing of the smallest (dark grey) and largest (light grey) ReRh lesions on coronal sections of the rat brain (A: anteroposterior level according to Paxinos and Watson, 2007), and photomicrographs illustrating these lesions (C, D, E, each corresponding to the adjacent drawing; B: control unlesioned animal) on brain sections immunostained for NeuN (in rats from Experiment 2). Scale bar = 1 mm. Abbreviations: see caption of Figure 2.

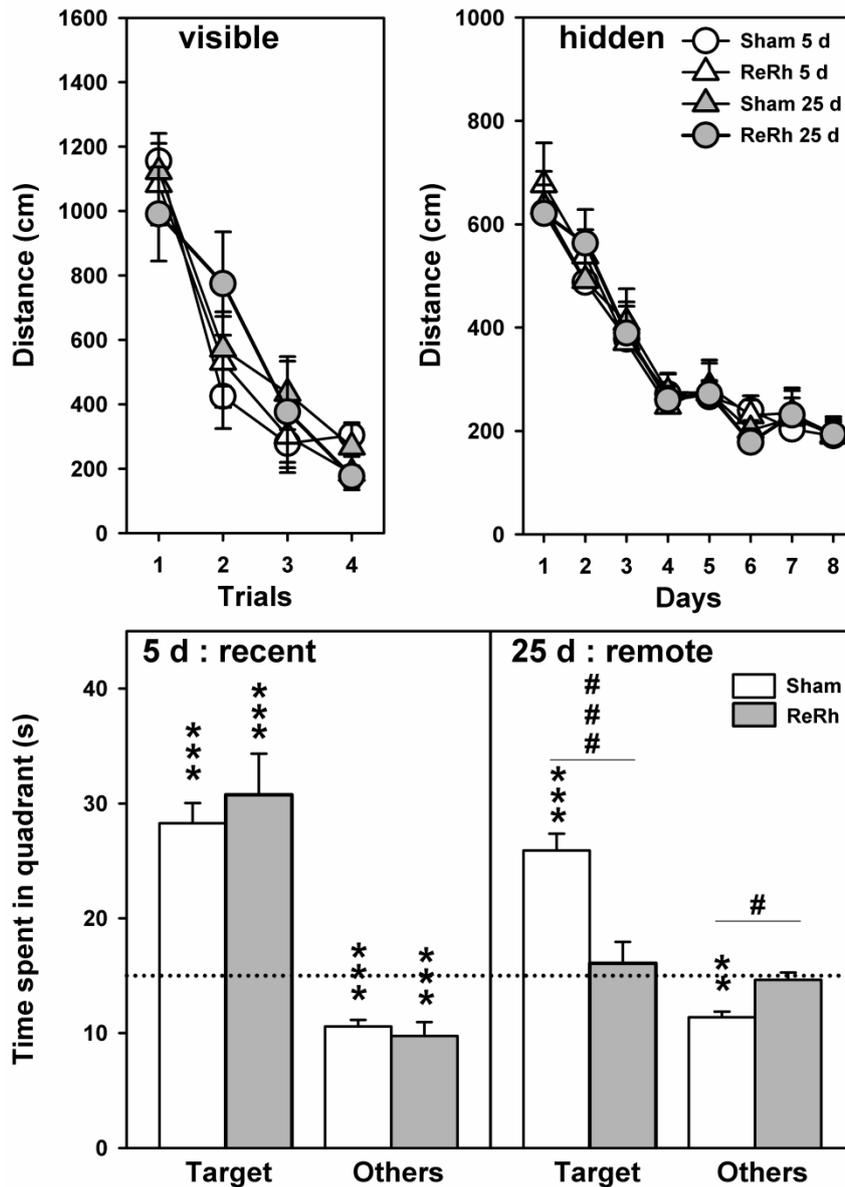


Figure 9: Performance of Sham and ReRh rats in the MWM task with a visible platform (top left), with a hidden platform (top right), and during the probe trial assessing recent memory at a post acquisition delay of 5 days (5 d ; bottom left), or remote memory after 25 days (25 d ; bottom right). Confirming results of experiment 1 (Fig. 3), the acquisition of the hidden platform location was similar in Sham and ReRh animals, and both groups remembered it at the 5-day delay, while at the 25-day delay, only sham-operated rats still remembered the platform location. Statistical analyses: significantly above chance level (dotted line): ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; significant effect of the lesion: # $p < 0.05$.

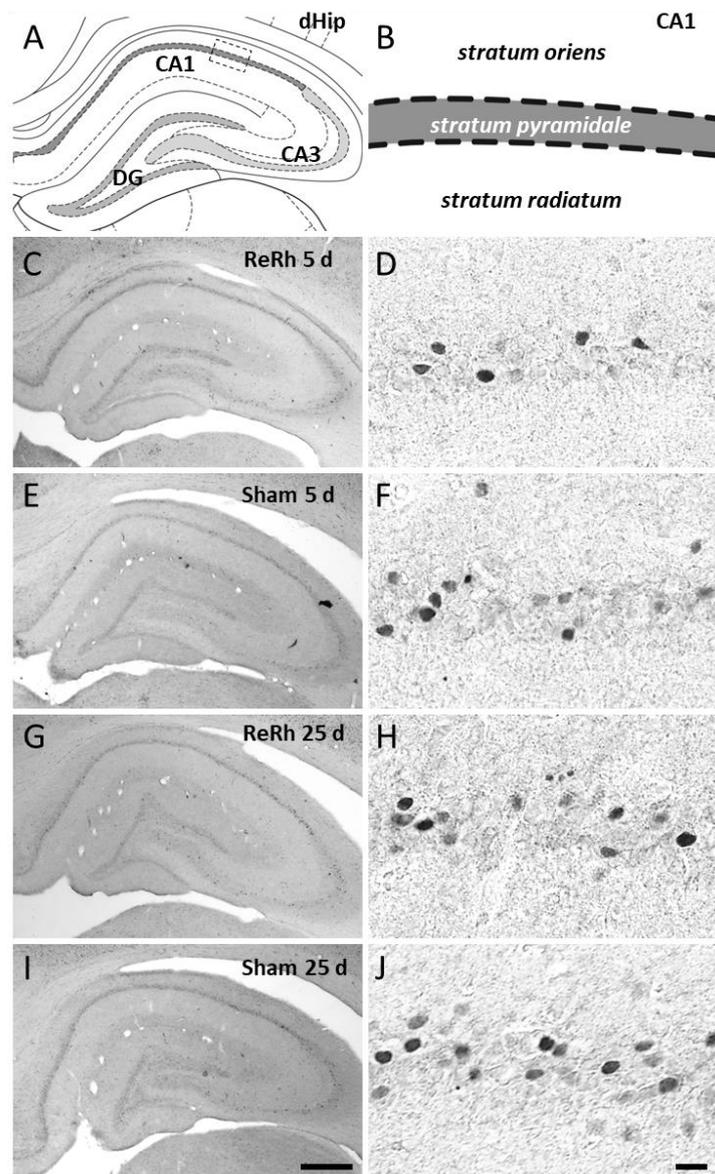


Figure 10: Illustration of c-Fos immunohistochemistry in the dHipp. Regions in which the quantifications were made are shown in the upper panels (A, B) according to Paxinos and Watson (2007). C-J: microphotographs illustrating typical c-Fos immunostaining in the hippocampus of Sham or ReRh rats tested in a probe trial either 5 days (5 d) or 25 days (25 d) after the end of the water maze task acquisition. D, F, H and J are higher magnifications of C, E, G, I, respectively, and corresponding to the region delimited by dotted lines in A. This region is schematically represented in B. Scale bar: photographs on the left, 500 μm ; photographs on the right, 20 μm .

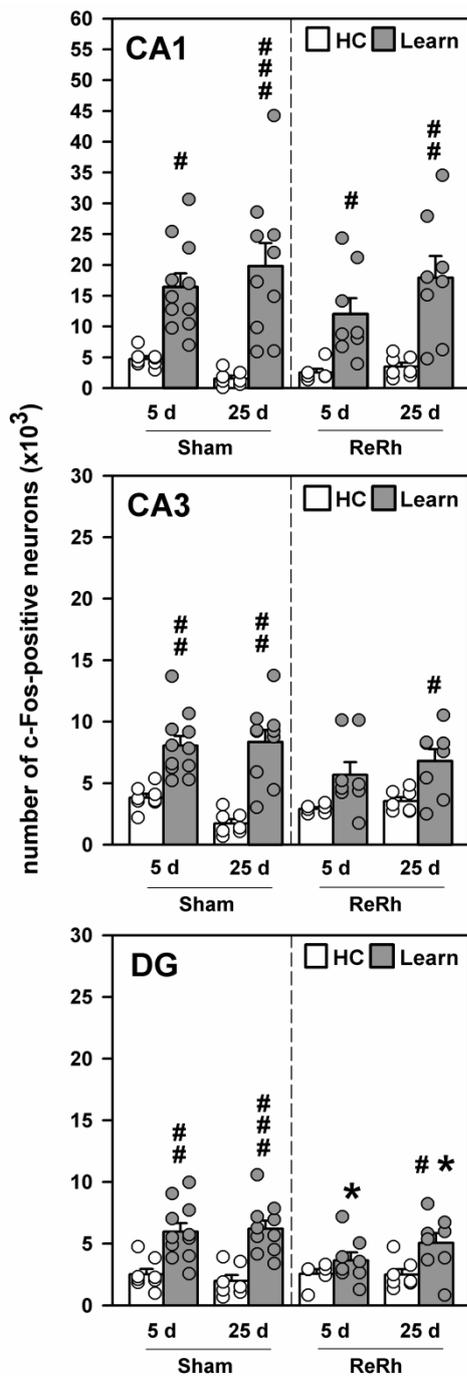


Figure 11: Quantitative analysis of c-Fos-positive nuclei in CA1, CA3 and DG of the dorsal hippocampus after recent (5 d) or remote (25 d) memory retrieval (Learn) as compared to home cage (HC) control rats subjected to a sham-operation (Sham) or an excitotoxic lesion of the reuniens and rhomboid nuclei (ReRh). In rats with ReRh lesions, c-Fos expression was attenuated in the DG at both delays (recent and remote memory). Statistical analyses: significant effect of learning: ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$; significant effect of the lesion: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ (Newman-Keuls test).

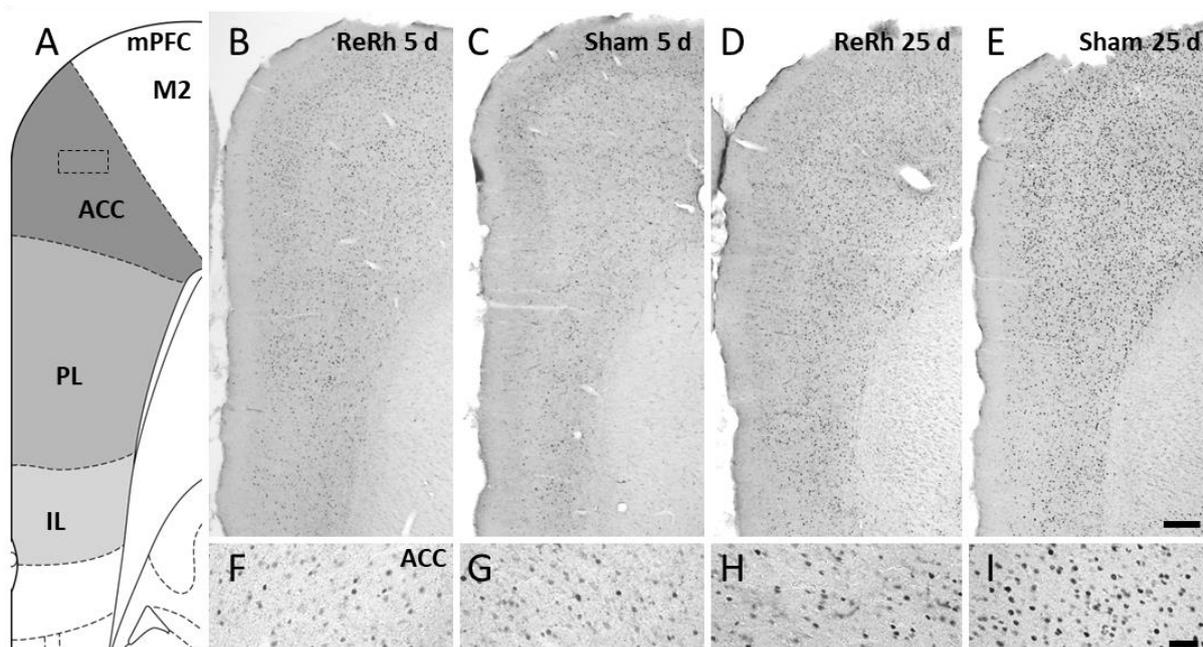


Figure 12: Illustration of c-Fos immunohistochemistry in the mPFC. Regions in which the quantifications were made are shown in the left panel (A) according to Paxinos and Watson (2007), at Bregma + 3 mm (Abbreviations: ACC, anterior cingulate cortex; PL, prelimbic cortex, IL, infralimbic cortex). The other panels (B to I) present microphotographs illustrating typical c-Fos immunostaining in the ACC of Sham or ReRh-lesioned rats which were tested in a probe trial either 5 days (5 d) or 25 days (25 d) after the end of the acquisition in the MWM task. F, G, H, I are higher magnifications of B, C, D, E, respectively; they were taken in the region delimited by dotted lines in A. Scale bar: photographs on the top = 500 μ m; photographs on the bottom = 50 μ m. The increase observed in Sham rats at the 25-day delay was not present in the rats with ReRh lesions.

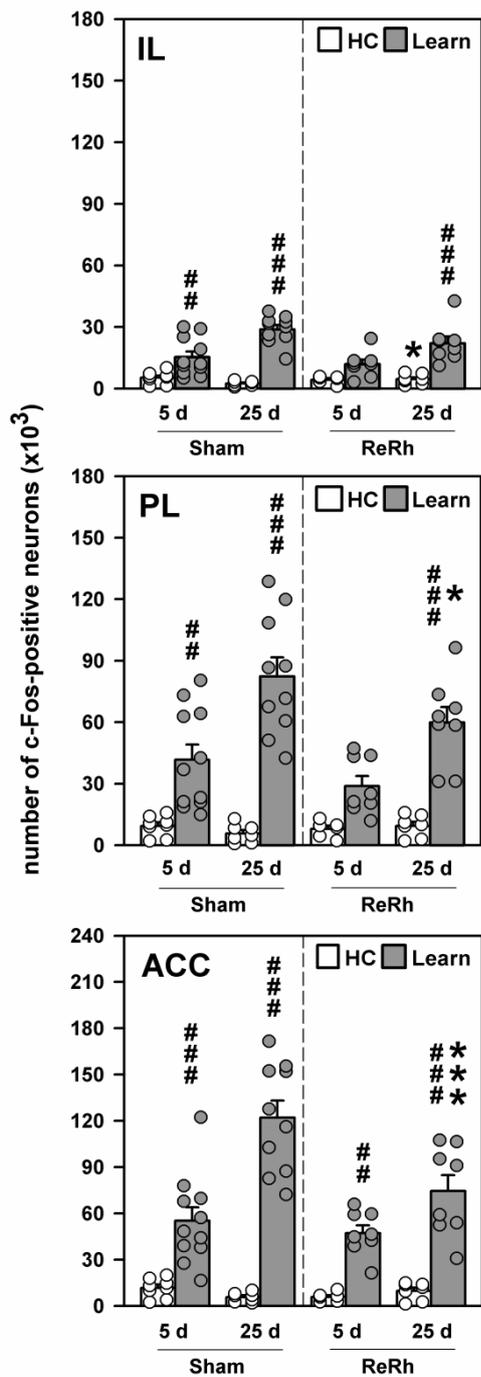


Figure 13: Quantitative analysis of c-Fos-positive nuclei in IL, PL and ACC of the mPFC after recent (5 d) or remote (25 d) memory retrieval (Learn) as compared to home cage (HC) control rats subjected to a sham-operation (Sham) or an excitotoxic lesion of the reuniens and rhomboid nuclei (ReRh). After ReRh lesion, c-Fos expression was attenuated in PL and ACC at the longer delay (remote memory). Statistical analyses: significant effect of learning: ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$; significant effect of the lesion: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ (Newman-Keuls test).

Table 1: Average (\pm SEM) number of thin and stubby dendritic spines/20 μ m segment counted in the three subregions of the medial prefrontal cortex (mPFC) and of the dorsal hippocampus (dHIP) on apical or basal dendrites of rats subjected to sham operations (Sham) or ReRh lesions. The rats were kept in their home cage (HC) or trained in a water maze task and subsequently tested for retention either 5 or 25 days following the end of acquisition (Learn). Statistics: * significant Lesion effect, $p < 0.05$; # significant Training effect, $p < 0.05$.

| Region | Dendrite | Surgery | HC 5 days | HC 25 days | Learn 5 days | Learn 25 days |
|-------------|----------|---------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| <u>mPFC</u> | Apical | Sham | 41.7 \pm 0.4 | 40.9 \pm 2.1 | 40.5 \pm 1.0 | 41.9 \pm 1.4 |
| | | ReRh | 42.3 \pm 1.7 | 42.0 \pm 1.6 | 41.7 \pm 1.8 | 42.1 \pm 1.8 |
| | Basal | Sham | 39.6 \pm 0.5 | 39.1 \pm 0.7 | 38.3 \pm 1.3 | 39.8 \pm 1.3 |
| | | ReRh | 42.8 \pm 1.9 | 40.6 \pm 2.4 | 40.2 \pm 1.7 | 39.3 \pm 0.9 |
| PL | Apical | Sham | 47.8 \pm 0.9 | 48.6 \pm 1.4 | 48.7 \pm 1.5 | 48.8 \pm 1.7 |
| | | ReRh | 36.9 \pm 1.3 * | 45.8 \pm 0.6 | 50.1 \pm 2.5 # | 49.8 \pm 2.1 |
| | Basal | Sham | 47.5 \pm 1.2 | 46.5 \pm 2.1 | 48.3 \pm 1.1 | 48.6 \pm 1.1 |
| | | ReRh | 38.2 \pm 1.5 * | 44.6 \pm 1.3 | 47.6 \pm 1.8 # | 50.0 \pm 2.0 |
| ACC | Apical | Sham | 48.6 \pm 3.8 | 39.2 \pm 4.1 | 47.7 \pm 1.7 | 37.3 \pm 2.5 |
| | | ReRh | 38.7 \pm 2.5 | 41.7 \pm 1.6 | 42.8 \pm 0.8 | 33.4 \pm 1.3 |
| | Basal | Sham | 45.0 \pm 3.7 | 37.6 \pm 4.8 | 44.9 \pm 2.8 | 36.2 \pm 2.4 |
| | | ReRh | 37.4 \pm 2.2 | 40.1 \pm 1.2 | 37.4 \pm 0.6 | 29.3 \pm 1.3 |
| <u>dHIP</u> | Apical | Sham | 36.5 \pm 1.3 | 38.0 \pm 1.6 | 40.8 \pm 1.8 | 36.9 \pm 1.1 |
| | | ReRh | 36.8 \pm 4.1 | 35.4 \pm 1.8 | 39.4 \pm 1.8 | 36.1 \pm 1.7 |
| | Basal | Sham | 33.4 \pm 1.3 | 36.9 \pm 2.2 | 36.1 \pm 2.4 | 34.2 \pm 1.3 |
| | | ReRh | 33.4 \pm 2.8 | 35.0 \pm 1.3 | 33.8 \pm 1.2 | 32.8 \pm 0.9 |
| DG | Apical | Sham | 32.7 \pm 1.8 | 34.1 \pm 1.2 | 34.7 \pm 1.5 | 33.7 \pm 0.9 |
| | | ReRh | 38.3 \pm 1.8 | 39.0 \pm 1.3 | 35.3 \pm 2.2 | 35.2 \pm 1.4 |
| CA1 | Apical | Sham | 41.7 \pm 2.1 | 43.3 \pm 1.3 | 50.2 \pm 0.9 # | 47.3 \pm 1.1 |
| | | ReRh | 34.4 \pm 1.8 * | 39.3 \pm 1.9 | 46.6 \pm 0.8 # | 41.5 \pm 1.5 |
| | Basal | Sham | 39.7 \pm 2.1 | 39.5 \pm 1.2 | 45.1 \pm 1.2 | 42.7 \pm 1.5 |
| | | ReRh | 32.1 \pm 1.7 * | 35.4 \pm 1.9 | 42.4 \pm 1.2 # | 38.1 \pm 1.1 |

Table 2: Average (\pm SEM) number of mushroom dendritic spines/20 μ m segment counted in the three subregions of the medial prefrontal cortex (mPFC) and of the dorsal hippocampus (dHIP) on apical or basal dendrites of rats subjected to sham operations (Sham) or ReRh lesions. The rats were kept in their home cage (HC) or trained in a water maze task and subsequently tested for retention either 5 or 25 days following the end of acquisition (Learn). Statistics: * significant Lesion effect, $p < 0.05$; # significant Training effect, $p < 0.05$.

| Region | Dendrite | Surgery | HC 5 days | HC 25 days | Learn 5 days | Learn 25 days |
|-------------|----------|---------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| <u>mPFC</u> | Apical | Sham | 0.96 \pm 0.12 | 1.03 \pm 0.13 | 1.11 \pm 0.14 | 1.11 \pm 0.07 |
| | | ReRh | 0.70 \pm 0.05 | 0.94 \pm 0.04 | 1.05 \pm 0.10 | 1.13 \pm 0.12 |
| | Basal | Sham | 1.22 \pm 0.15 | 1.00 \pm 0.22 | 0.93 \pm 0.04 | 1.10 \pm 0.07 |
| | | ReRh | 0.73 \pm 0.14 | 0.72 \pm 0.12 | 1.03 \pm 0.11 | 1.17 \pm 0.11 |
| IL | Apical | Sham | 1.35 \pm 0.13 | 0.85 \pm 0.11 | 1.27 \pm 0.13 | 1.10 \pm 0.12 |
| | | ReRh | 0.74 \pm 0.06 * | 0.84 \pm 0.10 | 1.41 \pm 0.15 # | 1.14 \pm 0.19 |
| | Basal | Sham | 1.45 \pm 0.11 | 0.96 \pm 0.11 | 1.64 \pm 0.19 | 0.88 \pm 0.12 |
| | | ReRh | 0.85 \pm 0.16 * | 1.04 \pm 0.06 | 1.35 \pm 0.13 | 0.96 \pm 0.08 |
| PL | Apical | Sham | 1.14 \pm 0.17 | 1.04 \pm 0.18 | 1.26 \pm 0.08 | 2.55 \pm 0.11 # |
| | | ReRh | 0.84 \pm 0.08 | 0.90 \pm 0.07 | 1.24 \pm 0.12 | 1.27 \pm 0.15 * |
| | Basal | Sham | 1.05 \pm 0.12 | 0.86 \pm 0.15 | 1.08 \pm 0.09 | 2.08 \pm 0.21 # |
| | | ReRh | 0.78 \pm 0.07 | 0.77 \pm 0.14 | 1.01 \pm 0.06 | 1.08 \pm 0.21 * |
| ACC | Apical | Sham | 0.77 \pm 0.09 | 0.86 \pm 0.09 | 0.78 \pm 0.07 | 0.89 \pm 0.08 |
| | | ReRh | 0.66 \pm 0.09 | 0.87 \pm 0.13 | 0.89 \pm 0.07 | 1.03 \pm 0.17 |
| | Basal | Sham | 0.83 \pm 0.08 | 0.81 \pm 0.08 | 0.63 \pm 0.04 | 1.00 \pm 0.18 |
| | | ReRh | 0.60 \pm 0.04 | 0.89 \pm 0.13 | 0.91 \pm 0.10 | 1.00 \pm 0.09 |
| <u>dHIP</u> | Apical | Sham | 0.86 \pm 0.16 | 0.57 \pm 0.11 | 1.04 \pm 0.15 | 1.22 \pm 0.29 |
| | | ReRh | 0.63 \pm 0.06 | 0.74 \pm 0.06 | 1.09 \pm 0.11 | 1.21 \pm 0.15 |
| | Basal | Sham | 1.09 \pm 0.20 | 0.71 \pm 0.08 | 1.83 \pm 0.10 # | 2.14 \pm 0.20 # |
| | | ReRh | 0.65 \pm 0.13 | 0.81 \pm 0.07 | 1.76 \pm 0.11 # | 0.63 \pm 0.15 * |
| CA3 | Apical | Sham | 0.58 \pm 0.09 | 0.59 \pm 0.08 | 1.26 \pm 0.07 # | 1.32 \pm 0.22 # |
| | | ReRh | 0.50 \pm 0.07 | 0.57 \pm 0.06 | 1.07 \pm 0.10 # | 0.48 \pm 0.10 * |
| CA1 | Basal | Sham | 0.58 \pm 0.09 | 0.59 \pm 0.08 | 1.26 \pm 0.07 # | 1.32 \pm 0.22 # |
| | | ReRh | 0.50 \pm 0.07 | 0.57 \pm 0.06 | 1.07 \pm 0.10 # | 0.48 \pm 0.10 * |

BIBLIOGRAPHIE

-A-

Abraham WC (2003) How long will long-term potentiation last? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Serie B, Biological sciences* 358:735-744.

Aceti M, Vetere G, Novembre G, Restivo L, Ammassari-Teule M (2015) Progression of activity and structural changes in the anterior cingulate cortex during remote memory formation. *Neurobiology in Learning and Memory* 123:67–71.

Addis DR, Moscovitch M, Crawley AP, McAndrews MP (2004) Recollective qualities modulate hippocampal activation during autobiographical memory retrieval. *Hippocampus* 14:752–762.

Adrian M, Kusters R, Wierenga CJ, Storm C, Hoogenraad CC, Kapitein LC (2014) Barriers in the brain: resolving dendritic spine morphology and compartmentalization. *Frontiers in Neuroanatomy* 8:142-153.

Aggleton JP (2014) Looking beyond the hippocampus: old and new neurological targets for understanding memory disorders. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281:20140565–20140565.

Aggleton JP, Hunt PR, Nagle S, Neave N (1996) The effects of selective lesions within the anterior thalamic nuclei on spatial memory in the rat. *Behavioural Brain Research* 81:189–198.

Aggleton JP, Pearce JM (2001) Neural systems underlying episodic memory: insights from animal research. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Serie B, Biological sciences* 356:425-489.

Aggleton JP, Pralus A, Nelson AJD, Hornberger M (2016) Thalamic pathology and memory loss in early Alzheimer's disease: moving the focus from the medial temporal lobe to Papez circuit. *Brain* 139:1877-1890.

Ali M, Cholvin T, Muller MA, Cosquer B, Kelche C, Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A (2017) Environmental enrichment enhances systems-level consolidation of a spatial memory after lesions of the ventral midline thalamus. *Neurobiology of Learning and Memory* 141: 108–123.

Altman J, Anderson WJ (1972) Experimental reorganization of the cerebellar cortex. I. Morphological effects of elimination of all microneurons with prolonged X-irradiation started at birth. *The Journal of Comparative Neurology* 146:355–406.

Andersen P (2007) *The hippocampus book*. Oxford; New York: Oxford University Press.

Andersen P, Blackstad T, Hulleberg G, et al. 1987b. Changes in spine morphology associated with LTP in rat dentate granule cells. *Proc. Physiol. Soc. PC* 50:P288

Anderson MC, Bunce JG, Barbas H (2016) Prefrontal-hippocampal pathways underlying inhibitory control over memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 134:145-161.

Aracri P, de Curtis M, Forcaia G, Uva L (2018) Enhanced thalamo hippocampal synchronization during focal limbic seizure. *Epilepsia* 9:1774-1784.

Arai R, Jacobowitz DM, Deura S (1994) Distribution of calretinin, calbindin-D28k, and parvalbumin in the rat thalamus. *Brain Research Bulletin* 33:595–614.

Arellano JI, Benavides-Piccione R, Defelipe J, Yuste R (2007) Ultrastructure of dendritic spines: correlation between synaptic and spine morphologies. *Frontiers in Neuroanatomy* 1:131–143.

Arts NJ, Walvoort SJ, Kessels RP (2017) Korsakoff's syndrome: a critical review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 13:2875-2890.

Aspenstrom P (1999) Effectors for the Rho GTPases. *Current Opinion in Cell Biology* 11:95-102.

Atkinson RC, Shiffrin RM (1971) The control of short-term memory. *Scientific American* 225:82–90.

-B-

Ballarini F, Moncada D, Martinez MC, Alen N, Viola H (2009) Behavioral tagging is a general mechanism of long-term memory formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:14599–14604.

Barker GRI, Bird F, Alexander V, Warburton EC (2007) Recognition memory for objects, place and temporal order: A disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *Journal of Neuroscience* 27:2948–2957.

Barker GRI, Warburton EC (2018) A critical role for the nucleus reuniens in long-term, but not short-term associative recognition memory formation. *Journal of Neuroscience* 38:3208-3217.

Bergson H (1911) *Matter and memory* (London: Swan Sonnenschein).

Bertram EH, Zhang DX (1999) Thalamic excitation of hippocampal CA1 neurons: a comparison with the effects of CA3 stimulation. *Neuroscience* 92:15–26.

Bissonette GB, Powell EM, Roesch MR (2013) Neural structures underlying set-shifting: Roles of medial prefrontal cortex and anterior cingulate cortex. *Behavioural Brain Research* 250:91–101.

Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31–39.

Bliss TV, Lomo T (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.

Bloss EB, Janssen WG, Ohm DT, Yuk FJ, Wadsworth S, Saardi KM, McEwen BS, Morrison JH (2011) Evidence for reduced experience-dependent dendritic spine plasticity in the aging prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience* 31:7831–7839.

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

Bokor H, Csaki A, Kocsis K, Kiss J (2002) Cellular architecture of the nucleus reuniens thalami and its putative aspartatergic/glutamatergic projection to the hippocampus and medial septum in the rat. *European Journal of Neuroscience* 16:1227–1239.

Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671–675.

Bourne J, Harris KM (2007) Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? *Current Opinion in Neurobiology* 17:381–386.

Braitenberg V, Schüz A (1991) *Anatomy of the cortex: statistics and geometry*, eds Barlow HB et al. (Springer, Berlin).

Brodmann K (1909) *Vergleichende lokalisationslehre der grosshirnrinde in ihren prinzipien dargestellt auf grund des zellenbaues*. Barth, Leipzig.

Brown VJ, Bowman EM (2002) Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends in Neuroscience* 25:340–343.

Burgess N (2006) Spatial memory: how egocentric and allocentric combine. *Trends in Cognitive Sciences* 10:551–557.

-C-

Cajal SR (1888) Estructura de los centros nerviosos de las aves. *Revista Trimestrial de Histologia Normal y Patologica* 1:1–10.

Cajal SR (1889) Sobre las fibras nerviosas de la capa granulosa del cerebelo. *Revista Trimestral de Histologia Normal y Patologica* 107–118.

Cajal SR (1890) Origen y terminacion de las fibras nerviosas olfatorias. *Gaceta Sanitaria de Barcelona*, ano III 1–21.

Cajal SR (1892) El nuevo concepto de la histologia de los centros nerviosos. *Revista Ciencias Medical de Barcelona*, 18 (nu´meros 16, 20, 22 y 28), 361–376, 457–476, 505–520, 529–541.

Cajal SR (1893) Neue Darstellung vom histologischen Bau des Zentralnervensystem. *Arch. Anat. Entwickl.* 319–428.

Cajal SR (1896) Las espinas colaterales de las células del cerebro tenidas por el azul de metileno. *Revista Trimestrial de Micrografia, Madrid* 1:123–136.

Caroni P, Chowdhury A, Lahr M (2014) Synapse rearrangements upon learning: from divergent-sparse connectivity to dedicated sub-circuits. *Trends in Neuroscience* 37:604–614.

Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A (2015) Importance of the ventral midline thalamus in driving hippocampal functions. *Progress in Brain Research* 219:145–161.

Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A, Loureiro M, Cholvin T, Dalrymple-Alford JC, Vertes RP (2013) The reuniens and rhomboid nuclei: Neuroanatomy, electrophysiological characteristics and behavioral implications. *Progress in Neurobiology* 111:34–52.

Cenquizca LA, Swanson LW (2007) Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews* 56:1–26.

Chang C, Maren S (2010) Strain difference in the effect of infralimbic cortex lesions on fear extinction in rats. *Behavioral neuroscience* 124:391–397.

Chang FLF, Greenough WT (1984) Transient and enduring morphological correlates of synaptic activity and efficacy change in the rat hippocampal slice. *Brain Research* 309:35–46.

Chatterjee S, Mizar P, Cassel R, Neidl R, Selvi RR, Mohankrishna DV, Vedamurthy BM, Schneider A, Bousiges O, Mathis C, Cassel JC, Eswaramoorthy M, Kundu TK, Boutillier AL (2013) A novel activator of CBP/p300 acetyltransferases promotes neurogenesis and extends memory duration in adult mice. *Journal of Neuroscience* 33:10698–10712.

Chatterjee S, Cassel R, Schneider-Anthony A, Merienne K, Cosquer B, Tzeplaeff L, Halder Sinha S, Kumar M, Chaturbedy P, Eswaramoorthy M, Le Gras S, Keime C, Bousiges O, Dutar P, Petsophonsakul P, Rampon C, Cassel JC, Buée L, Blum D, Kundu TK, Boutillier AL (2018) Reinstating plasticity and memory in a tauopathy mouse model with an acetyltransferase activator. *EMBO Molecular Medicine* pii: e8587.

Chazeau A, Giannone G (2016) Organization and dynamics of the actin cytoskeleton during dendritic spine morphological remodeling. *Cellular and Molecular Life Sciences* 73:3053–3073.

Chen Y, Kramar EA, Chen LY, Babayan AH, Andres AL, Gall CM, Lynch G, Baram TZ (2013) Impairment of synaptic plasticity by the stress mediator CRH involves selective destruction of thin dendritic spines via RhoA signaling. *Molecular Psychiatry* 18:485–496.

Chen Y, Rex CS, Rice CJ, Dube CM, Gall CM, Lynch G, Baram TZ (2010) Correlated memory defects and hippocampal dendritic spine loss after acute stress involve corticotropin-releasing hormone signaling. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 107:13123–13128.

Chicurel ME, Harris KM (1992) Three-dimensional analysis of the structure and composition of CA3 branched dendritic spines and their synaptic relationships with mossy fiber boutons in the rat hippocampus. *Journal of Comparative Neurology* 325:169–182.

Choi GB, Stettler DD, Kallman BR, Bhaskar ST, Fleischmann A, Axel R (2011) Driving opposing behaviors with ensembles of piriform neurons. *Cell* 146:1004–1015.

Cholvin T, Giorgi L, Baril N, Brezun J-M, Poucet B, Chaillan FA (2018) Using MRI to predict the fate of excitotoxic lesions in rats. *PLoS ONE* 13:e0200659.

Cholvin T, Loureiro M, Cassel R, Cosquer B, Geige, K, De Sa Nogueira D, Raingard H, Robelin L, Kelche C, Pereira de Vasconcelos A, Cassel JC (2013) The ventral midline thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal cortical and hippocampal functions. *Journal of Neuroscience Official Journal of Society for Neurosciences* 33:8772–8783.

Cholvin T, Loureiro M, Cassel R, Cosquer B, Herbeaux K, de Vasconcelos AP, Cassel JC (2016) Dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex each contribute to the retrieval of a recent spatial memory in rats. *Brain Structure and Function* 221:91–102.

Chudasama Y, Doobay VM, Liu Y (2012) Hippocampal-prefrontal cortical circuit mediates inhibitory response control in the rat. *Journal of Neuroscience* 32:10915–10924.

Clark RE, Broadbent NJ, Squire LR (2005) Hippocampus and remote spatial memory in rats. *Hippocampus* 15:260–272.

Clayton NS, Salwiczek LH, Dickinson A (2007) Episodic memory. *Current Biology* 17:R189–R191.

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

Collingridge GL, Isaac JTR, Wang YT (2004) Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 5:952–962.

Collingridge GL, Kehl SJ, McLennan H (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *Journal of Physiology* 334:33–46.

Cooney JR, Hurlburt JL, Selig DK, Harris KM, Fiala JC (2002) Endosomal compartments serve multiple hippocampal dendritic spines from a widespread rather than a local store of recycling membrane. *Journal of Neuroscience* 22:2215–2224.

Corcoran KA, Quirk GJ (2007) Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 27:840–844.

Cowansag KK, Shuman T, Dillingham BC, Chang A, Golshani P, Mayford M (2014) Direct reactivation of a coherent neocortical memory of context. *Neuron* 84:432–441.

Cox WH (1891) Imprägation des zentralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. *Archiv für mikroskopische Anatomie* 37:16–21.

Czajkowski R, Jayaprakash B, Wiltgen B, Rogerson T, Guzman-Karlsson MC, Barth AL, Trachtenberg JT, Silva AJ (2014) Encoding and storage of spatial information in the retrosplenial cortex. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 111:8661-8666.

-D-

D'Hooge R, De Deyn PP (2001) Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews* 36:60-90.

Dailey ME, Smith SJ (1996) The dynamics of dendritic structure in developing hippocampal slices. *Journal of Neuroscience* 16:2983-2994.

Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28:771-784.

Davoodi FG, Motamedi F, Akbari E, Ghanbarian E, Jila B (2011) Effect of reversible inactivation of reuniens nucleus on memory processing in passive avoidance task. *Behavioural Brain Research* 221:1-6.

Davoodi FG, Motamedi F, Naghdi N, Akbari E (2009) Effect of reversible inactivation of the reuniens nucleus on spatial learning and memory in rats using Morris water maze task. *Behavioural Brain Research* 198:130-135.

De Carlos JA, Borrell J (2007) A historical reflection of the contributions of Cajal and Golgi to the foundations of neuroscience. *Brain Research Reviews* 55:8-16.

De Hoz L, Knox J, Morris RGM (2003) Longitudinal axis of the hippocampus: both septal and temporal poles of the hippocampus support water maze spatial learning depending on the training protocol. *Hippocampus* 13:587-603.

Deller T, Korte M, Chabanis S, Drakew A, Schwegler H, Stefani GG, Zuniga A, Schwarz K, Bonhoeffer T, Zeller R, Frotscher M, Mundel P (2003) Synaptopodin-deficient mice lack a spine apparatus and show deficits in synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:10494-10499.

Deller T, Merten T, Roth SU, Mundel P, Frotscher M (2000) Actin-associated protein synaptopodin in the rat hippocampal formation: localization in the spine neck and close association with the spine apparatus of principal neurons. *Journal of Comparative Neurology* 418:164-181.

Deng W, Mayford M, Gage FH (2013) Selection of distinct populations of dentate granule cells in response to inputs as a mechanism for pattern separation in mice. *Elife* 2:e00312.

Denk W, Strickler JH, Webb WW (1990) Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 248:73-76.

Denny CA, Kheirbek MA, Alba EL, Tanaka KF, Brachman RA, Laughman KB, Tomm NK, Turi GF, Losonczy A, Hen R (2014) Hippocampal memory traces are differentially modulated by experience, time, and adult neurogenesis *Neuron* 83:189–201.

Dent EW, Merriam EB, Hu X (2011) The dynamic cytoskeleton: Backbone of dendritic spine plasticity. *Current Opinion in Neurobiology* 21:175–181.

Derkach V, Baria A, Soderling TR (1999) Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:3269–3274.

Desmond NL, Levy WB (1983) Synaptic associative potentiation/depression: an ultrastructural study in the hippocampus. *Brain Research* 265:21–30.

Desmond NL, Levy WB (1986) Changes in the postsynaptic density with long-term potentiation in the dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology* 253:476–82.

Desmond NL, Levy WB (1988) Synaptic interface surface area increases with long term potentiation in the hippocampal dentate gyrus. *Brain Research* 453:308–14.

Di Prisco GV, Vertes RP (2006) Excitatory actions of the ventral midline thalamus (rhomboid/reuniens) on the medial prefrontal cortex in the rat. *Synapse* 60:45–55.

Diekelmann S, Born J (2010) The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience* 11:114–126.

Dolleman-Van der Weel MJ, Da Silva FL, Witter MP (1997) Nucleus reuniens thalami modulates activity in hippocampal field CA1 through excitatory and inhibitory mechanisms. *Journal of neuroscience* 17:5640–5650.

Dolleman-van der Weel MJ, Morris RGM, Witter MP (2009) Neurotoxic lesions of the thalamic reuniens or mediodorsal nucleus in rats affect non-mnemonic aspects of watermaze learning. *Brain Structure and Function* 213:329–342.

Dolleman-Van Der Weel MJ, Witter MP (1996) Projections from the nucleus reuniens thalami to the entorhinal cortex, hippocampal field CA1, and the subiculum in the rat arise from different populations of neurons. *Journal of Comparative Neurology* 364:637–650.

Duan AR, Varela C, Zhang Y, Shen Y, Xiong L, Wilson MA, Lisman J (2015) Delta frequency optogenetic stimulation of a thalamic nucleus reuniens is sufficient to produce working memory deficits; relevance to schizophrenia. *Biological psychiatry* 77:1098–1107.

Dudai Y (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology* 55:51–86.

Dunaevsky A, Tashiro A, Majewska A, Mason C, Yuste R. (1999) Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:13438–13443.

-E-

Ehlers MD (2003) Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin-proteasome system. *Nature Neurosciences* 6:231–242.

Ehrlich I, Klein M, Rumpel S, Malinow R (2007) PSD-95 is required for activity-driven synapse stabilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America* 104: 4176–4181.

Ekstrom AD, Caplan JB, Ho E, Shattuck K, Fried I, Kahana MJ (2005) Human hippocampal theta activity during virtual navigation. *Hippocampus* 15:881–889.

Ekstrom AD, Kahana MJ, Caplan JB, Fields TA, Isham EA, Newman EL, Fried I (2003) Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature* 425:184–188.

Eleore L, López-Ramos JC, Guerra-Narbona R, Delgado-García JM (2011) Role of reuniens nucleus projections to the medial prefrontal cortex and to the hippocampal pyramidal CA1 area in associative learning. *PLoS ONE* 6:e23538.

Engert F, Bonhoeffer T (1999) Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399:66–70.

Etienne-Manneville S, Hall A (2002) Rho GTPases in cell biology *Nature* 420:629-635.

Euston DR, Gruber AJ, McNaughton BL (2012) The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron* 76:1057–1070.

-F-

Fama R, Pitel AL, Sullivan EV (2012) Anterograde episodic memory in Korsakoff syndrome. *Neuropsychology Review* 22:93-104.

Fanselow MS, Dong HW (2010) Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65:7–19.

Fenton GE, Pollard AK, Halliday DM, Mason R, Bredy TW, Stevenson CW (2014) Persistent prefrontal cortex activity contributes to enhanced learned fear expression in females. *Learning and Memory* 21:55-60.

Ferraris M, Ghestem A, Vicente AF, Nallet-Khosrofiyan L, Bernard C, Quilichini PP (2018) The nucleus reuniens controls long-range hippocampal prefrontal gamma synchronization during slow oscillations. *Journal of Neuroscience* 38:3026-3038.

Fiala JC, Feinberg M, Popov V, Harris KM (1998) Synaptogenesis via dendritic filopodia in developing hippocampal area CA1. *Journal of Neuroscience* 18:8900–8911.

- Fifkova E, Anderson CL (1981) Stimulation-induced changes in dimensions of stalks of dendritic spines in the dentate molecular layer. *Experimental Neurology* 74:621–627.
- Fifkova E, Delay RJ (1982) Cytoplasmic actin in neuronal processes as a possible mediator of synaptic plasticity. *Journal of Cell Biology* 95:345–350.
- Fifkova E, Van Harrefeld A (1977) Long-lasting morphological changes in dendritic spines of dentate granular cells following stimulation of the entorhinal area. *Journal of Neurocytology* 6:211–30.
- Fischer A, Sananbenesi F, Wnag X, Dobbin M, Tsai LH (2007) Recovery of learning and memory is associated with chomatin remodeling. *Nature* 447:178–182.
- Fischer M, Kaech S, Knutti D, Matus A (1998) Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron* 20:847–854.
- Floresco SB, Block AE, Tse MTL (2008) Inactivation of the medial prefrontal cortex of the rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure. *Behavioural Brain Research* 190:85–96.
- Foster M, Sherrington S (1897) *A Textbook of Physiology*, 7th edn, part 3.
- Frankland PW (2004) The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* 304:881–883.
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6:119–130.
- Freire M (1978) Effects of dark rearing on dendritic spines in layer IV of the mouse visual cortex: a quantitative electron microscopical study. *Journal of Anatomy* 126:193–201.
- Frey U, Huang YY, Kandel ER (1993) Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science* 260:1661–1664.
- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H (1988) Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Research* 452:57–65.
- Frey U, Morris RG (1997) Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature* 385:533–536.
- Frey U, Morris RG (1998) Synaptic tagging: implications for late maintenance of hippocampal longterm potentiation. *Trends in Neurosciences* 21:181–188.
- Funahashi S (2006) Prefrontal cortex and working memory processes. *Neuroscience* 139:251–261.

-G-

Gabbott PL, Somogyi J (1994) The 'single' section Golgi impregnation procedure: Methodological description. *Journal of Neurosciences Methods* 11:221–230.

Gabbott PLA, Warner TA, Jays PR., Bacon SJ (2003) Areal and synaptic interconnectivity of prelimbic (area 32), infralimbic (area 25) and insular cortices in the rat. *Brain Research* 993:59–71.

Gabbott PLA, Warner TA, Jays PRL, Salway P, Busby SJ (2005) Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of Comparative Neurology* 492:145–177.

García-López P, García-Marín V, Freire M (2007) The discovery of dendritic spines by Cajal in 1888 and its relevance in the present neuroscience. *Progress in Neurobiology* 83:110–130.

García-López P, García-Marín V, Freire M (2010) Dendritic spines and development: towards a unifying model of spinogenesis - a present day review of Cajal' s histological slides and drawings. *Neural Plasticity* 769207-769233.

Garden DLF, Massey PV, Caruana DA, Johnson B, Warburton EC, Aggleton JP, Bashir ZI (2009) Anterior thalamic lesions stop synaptic plasticity in retrosplenial cortex slices: expanding the pathology of diencephalic amnesia. *Brain* 132:1847–1857.

Gholami S, Lambertz D, Hoheisel U, Mense S (2006) Effects on c-Fos expression in the PAG and thalamus by selective input via tetrodotoxin-resistant afferent fibres from muscle and skin. *Neuroscience Research*. 56:370-278.

Gibb R, Kolb B (1998) A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. *Journal of Neuroscience Methods* 79:1–4.

Gipson CD, Olive MF (2017) Structural and functional plasticity of dendritic spines – root or result of behavior? *Genes, brain, and behavior* 16:101-117.

Glaser EM, Van der Loos H (1981) Analysis of thick brain sections by obverse-reverse computer microscopy: application of a new, high clarity Golgi-Nissl stain. *Journal of Neuroscience Methods* 4: 117–125.

Golgi C (1873) Sulla sostanza grigia del cervello. *Gaz. Med. Ital. Lombardia* 6:244-246.

Gonzalez C, Kramar C, Garagoli F, Rossato JI, Weisstaub N, Cammarota M, Medina JH (2013) Medial prefrontal cortex is a crucial node of a rapid learning system that retrieves recent and remote memories. *Neurobiology of Learning and Memory* 103:19–25.

Goo MS, Sancho L, Slepak N, Boassa D, Deerinck TJ, Ellisman MH, Bloodgood BL, Patrick GN (2017) Activity-dependent trafficking of lysosomes in dendrites and dendritic spines. *The Journal of Cell Biology* 216:2499-2513.

Gordon JA (2011) Oscillations and hippocampal-prefrontal synchrony. *Current Opinion in Neurobiology* 21:486-491.

Gray EG (1959) Electron microscopy of synaptic contacts on dendrite spines of the cerebral cortex. *Nature* 183:1592–1593.

Greenberg ME, Ziff EB (1984) Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the c-fos proto-oncogene. *Nature* 311:433–438.

Griffin AL (2015) Role of the thalamic nucleus reuniens in mediating interactions between the hippocampus and medial prefrontal cortex during spatial working memory. *Frontiers in Systems Neuroscience* 9:29-36.

Groenewegen HJ, Witter MP (2004) Thalamus. In: Paxinos, the Rat Nervous System, third ed.

Grutzendler J, Kasthuri N, Gan WB (2002) Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature* 42: 812–816.

-H-

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

Halliday GM (2009) Thalamic changes in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders* 15:S152-S155.

Hallock HL, Wang A, Griffin AL (2016) Ventral midline thalamus is critical for hippocampal-prefrontal synchrony and spatial working memory. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neuroscience* 36:8372–8389.

Hallock HL, Wang A, Shaw CL, Griffin AL (2013) Transient inactivation of the thalamic nucleus reuniens and rhomboid nucleus produces deficits of a working-memory dependent tactile-visual conditional discrimination task. *Behavioral Neuroscience* 127:860–866.

Halpain S, Hipolito A, Saffer L (1998) Regulation of F-actin stability in dendritic spines by glutamate receptors and calcineurin. *Journal of Neuroscience* 18:9835–9844.

Hámori J (1973) The Inductive Role of Presynaptic Axons in the Development of Postsynaptic Spines. *Brain Research* 62:337–344.

Hampton RR, Hampstead BM, Murray EA (2004) Selective hippocampal damage in rhesus monkeys impairs spatial memory in an open-field test. *Hippocampus* 14:808–818.

Han JH, Kushner SA, Yiu AP, Cole CJ, Matynia A, Brown RA, Neve RL, Guzowski JF, Silva AJ, Josselyn SA (2007) Neuronal competition and selection during memory formation. *Science* 316:457–460.

Han JH, Kushner SA, Yiu AP, Hsiang HL, Buch T, Waisman A, Bontempi B, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA (2009) Selective erasure of a fear memory. *Science* 323:1492–1496.

Harland BC, Collings DA, McNaughton N, Abraham WC, Dalrymple-Alford JC (2014) Anterior thalamic lesions reduce spine density in both hippocampal CA1 and retrosplenial cortex, but enrichment rescues CA1 spines only. *Hippocampus* 24:1232–1247.

Harris KM, Jensen FE, Tsao B (1992) Three dimensional structure of the dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. *Journal of Neuroscience* 12:2685–2705.

Harris KM, Kater SB (1994) Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. *Annual Reviews in Neuroscience* 17:341–371.

Harris KM, Stevens JK (1988) Dendritic spines of rat cerebellar Purkinje cells: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *Journal of Neuroscience* 8:4455–4469.

Harris KM, Stevens JK (1989) Dendritic spines of CA 1 pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *Journal of Neuroscience* 9:2982–2997.

Harris KM, Weinberg RJ (2012) Ultrastructure of synapses in the mammalian brain. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4:a005587.

Hartung H, Brockmann MD, Pöschel B, De Feo V, Hanganu-Opatz IL (2016) Thalamic and entorhinal network activity differently modulates the functional development of prefrontal-hippocampal interactions. *Journal of Neuroscience* 36:3676–3690.

Hayashi Y, Shi SH, Esteban JA, Piccini A, Poncer JC, Malinow R (2000) Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science* 287:2262–2267.

Hayashi-Takagi A, Yagishita S, Nakamura M, Shirai F, Wu YI, Loshbaugh AL, Kuhlman B, Hahn KM, Kasai H (2015) Labelling and optical erasure of synaptic memory traces in the motor cortex. *Nature* 525:333–338.

Hebb DO (1949) *Organization of behavior: a neuropsychological theory*.

Heidbreder CA, Groenewegen HJ (2003) The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorsoventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27:555–579.

Hembrook JR, Mair RG (2011) Lesions of reuniens and rhomboid thalamic nuclei impair radial maze win-shift performance. *Hippocampus* 21:815–26.

Hembrook JR, Onos KD, Mair RG (2012) Inactivation of ventral midline thalamus produces selective spatial delayed conditional discrimination impairment in the rat. *Hippocampus* 22:853–860.

Henke K (2010) A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nature Reviews Neuroscience* 11:523–532.

Herkenham M (1978) The connections of the nucleus reuniens thalami: evidence for a direct thalamo-hippocampal pathway in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 177:589–610.

Herring BE, Nicoll RA (2016) Long-Term Potentiation: From CaMKII to AMPA Receptor Trafficking. *Annual Reviews of Physiology* 78:351–365.

Hersch SM, White EL (1981) Quantification of synapses formed with apical dendrites of Golgi impregnated pyramidal cells: variability in thalamocortical inputs and consistency of the ratios of asymmetrical and symmetrical synapses. *Neuroscience* 6:1043–1051.

Holtmaat A, Wilbrecht L, Knott GW, Welker E, Svoboda K (2006) Experience-dependent and cell-type-specific spine growth in the neocortex. *Nature* 441:979–983.

Hoover WB, Vertes RP (2007) Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function* 212:149–179.

Hoover WB, Vertes RP (2012) Collateral projections from nucleus reuniens of thalamus to hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat: a single and double retrograde fluorescent labeling study. *Brain Structure and Function* 217:191–209.

Horton AC, Ehlers MD (2004) Secretory trafficking in neuronal dendrites. *Nature Cell Biology* 6:585–591.

Hotulainen P, Hoogenraad CC (2010) Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *The Journal of Cell Biology* 189:619–629.

Hsiang HL, Epp JR, van den Oever MC, Yan C, Rashid AJ, Insel N, Ye L, Niibori Y, Deisseroth K, Frankland PW, Josselyn SA (2014) Manipulating a “cocaine engram” in mice. *Journal of Neuroscience* 34:14115–14127.

Hu X, Huang Q, Yang X, Xia H (2007) Differential regulation of AMPA receptor trafficking by neurabin-targeted synaptic protein phosphatase-1 in synaptic transmission and long-term depression in hippocampus. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 27:4674–4686.

-I-

Inoue A, Okabe S (2003) The dynamic organization of postsynaptic proteins: Translocating molecules regulate synaptic function. *Current Opinion in Neurobiology* 13:332–340.

-J-

Jankowski MM, Islam MN, Wright NF, Vann SD, Erichsen JT, Aggleton JP, O’Mara SM (2014) Nucleus reuniens of the thalamus contains head direction cells. *ELife* 3.

Jankowski MM, Passecker J, Islam MN, Vann S, Erichsen JT, Aggleton JP, O'Mara SM (2015) Evidence for spatially-responsive neurons in the rostral thalamus. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 9:256-274.

Jaworski J, Kapitein LC, Gouveia SM, Dortland BR, Wulf PS, Grigoriev I, Camera P, Spangler SA, Di Stefano P, Demmers J, Krugers H, Defilippi P, Akhmanova A, Hoogenraad CC (2009) Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron* 61:85–100.

Jay TM, Witter MP (1991) Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology* 313:574–586.

Jones EG (2007) *The Thalamus*, 2nd Edn, Vol.1–2. Cambridge: Cambridge University Press.

Jones EG, Powell TP (1969) Morphological variations in the dendritic spines of the neocortex. *Journal of Cell Science* 5:509–529.

Josselyn SA, Frankland PW (2018) Memory allocation: mechanisms and function. *Annual Review of Neuroscience* 41:389–413.

Josselyn SA, Kohler S, Frankland PW (2015) Finding the engram. *Nature Review Neuroscience* 16:521–534.

Josselyn SA, Kohler S, Frankland PW (2017) Heroes of the Engram. *Journal of Neuroscience* 37:4647-4657.

-K-

Kafetzopoulos V, Kokras N, Sotiropoulos I, Oliveira JF, Leite-Almeida H, Vasalou A, Sardinha VM, Papadopoulou-Daifoti Z, Almeida OFX, Antoniou K, Sousa N, Dalla C (2018) The nucleus reuniens: a key node in the neurocircuitry of stress and depression. *Molecular Psychiatry* 23:579-586.

Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294:1030–1038.

Kandel ER, Tauc L (1965) Mechanism of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. *The Journal of Physiology* 181:28–47.

Kandel ER, Spencer WA (1961) Electrophysiological properties of an archicortical neuron. *Annals of the New York Academy of Sciences* 94:570-603.

Kandel ER, Spencer WA (1968) Cellular neurophysiological approaches in the study of learning. *Physiological Reviews* 48:65-134.

Kang HW, Kim HK, Moon BH, Lee SJ, Rhyu JJ (2017) Comprehensive review of Golgi staining methods for nervous tissue. *Applied microscopy* 47:63-69.

Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi A, Noguchi J (2010) Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends in Neurosciences* 33:121–129.

Kasai H, Matsuzaki M, Noguchi J, Yasumatsu N, Nakahara H (2003) Structure-stability-function relationships of dendritic spines. *Trends in Neuroscience* 26:360–368.

Kentros CG, Agnihotri NT, Streater S, Hawkins RD, Kandel ER (2004) Increased attention to spatial context increases both place field stability and spatial memory. *Neuron* 42:283–295.

Kim HS, Cho HY, Augustine GJ, Han JH (2016) Selective control of fear expression by optogenetic manipulation of infralimbic cortex after extinction. *Neuropsychopharmacology* 41:1261-1273.

Kirov SA, Sorra KE, Harris KM (1999) Slices have more synapses than perfusion-fixed hippocampus from both young and mature rats. *Journal of Neuroscience* 19:2876–2886.

Kohara K, Tonegawa S (2014) Cell type-specific genetic and optogenetic tools reveal hippocampal CA2 circuits. *Nature Neuroscience* 17:269-279.

Kopec CD, Li B, Wei W, Boehm J, Malinow R (2006) Glutamate receptor exocytosis and spine enlargement during chemically induced long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neuroscience* 26:2000–2009.

Korobova F, Svitkina T (2010) Molecular architecture of synaptic actin cytoskeleton in hippocampal neurons reveals a mechanism of dendritic spine morphogenesis. *Molecular biology of the cell* 21:165–176.

Krettek JE, Price JL (1977) The cortical projections of mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 171:157-191.

Krout KE, Belzer RE, Loewy AD (2002) Brainstem projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 448:53–101.

Kwon JT, Nakajima R, Kim HS, Jeong Y, Augustine GJ, Han JH (2014) Optogenetic activation of presynaptic inputs in lateral amygdala forms associative fear memory. *Learning and Memory* 21:627–633.

-L-

Lamprecht R (2014) The actin cytoskeleton in memory formation. *Progress in Neurobiology* 117:1–19.

Landis DMD, Reese TS (1983) Cytoplasmic organization in cerebellar dendritic spines. *Journal of Cell Biology* 97:1169–1178.

Larramendi LM (1969) Electron microscopic studies of cerebellar interneurons. *UCLA Forum in Medical Sciences* 11:289–307.

Lashley K (1950) In search of the engram. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 4:454–482.

Lavenex PB, Amaral DG, Lavenex P (2006) Hippocampal lesion prevents spatial relational learning in adult macaque monkeys. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neuroscience* 26:4546–4558.

Layfield DM, Patel M, Hallock H, Griffin AL (2015) Inactivation of the nucleus reuniens/rhomboid causes a delay-dependent impairment of spatial working memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 125:163–167.

Lee I, Solivan F (2008) The roles of the medial prefrontal cortex and hippocampus in a spatial paired association task. *Learning and Memory* 15:357–367.

Lendvai B, Stern EA, Chen B, Svoboda K (2000) Experience-dependent plasticity of dendritic spines in the developing rat barrel cortex in vivo. *Nature* 404:876–881.

Leon WC, Bruno MA, Allard S, Nader K, Cuello AC (2010) Engagement of the PFC in consolidation and recall of recent spatial memory. *Learning and Memory* 17:297–305.

Lepage M, Ghaffar O, Nyberg L, Tulving E (2000) Prefrontal cortex and episodic memory retrieval mode. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:506–511.

Lesburgueres E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi B (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331:924–928.

Leuner B, Falduto J, Shors TJ (2003) Associative memory formation increases the observation of dendritic spines in the hippocampus. *Journal of Neuroscience* 23:659–665.

Lever C, Burton S, Jeewajee A, O'Keefe J, Burgess N (2009) Boundary vector cells in the subiculum of the hippocampal formation. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neuroscience* 29:9771–9777.

Levine B, Svoboda E, Hay JF, Winocur G, Moscovitch M (2002) Aging and autobiographical memory: dissociating episodic from semantic retrieval. *Psychology and Aging* 17:677–689.

Li Z, Okamoto KI, Hayashi Y, Sheng M (2004) The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell* 119:873–887.

Lin B, Kramár EA, Bi X, Brucher FA, Gall CM, Lynch G (2005) Theta stimulation polymerizes actin in dendritic spines of hippocampus. *Journal of Neuroscience* 25:2062–2069.

Lisman J (2017) Glutamatergic synapses are structurally and biochemically complex because of multiple plasticity processes: long-term potentiation, long-term depression, short-term potentiation and scaling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Serie B, Biological sciences* 372: pii: 20160260.

Lisman J, Yasuda R, Raghavachari S (2012) Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nature Reviews Neuroscience* 13:169-182.

Liu X, Ramirez S, Pang PT, Puryear CB, Govindarajan A, Deisseroth K, Tonegawa S (2012) Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* 484:381-385.

Lohmann C, Bonhoeffer T (2008) A role for local calcium signaling in rapid synaptic partner selection by dendritic filopodial. *Neuron* 59:253–260.

Lopez J, Herbeaux K, Cosquer B, Engeln M, Muller C, Lazarus C, Kelche C, Bontempi B, Cassel JC, de Vasconcelos AP (2012) Context-dependent modulation of hippocampal and cortical recruitment during remote spatial memory retrieval. *Hippocampus* 22:827–841.

Lopez J, Wolff M, Lecourtier L, Cosquer B, Bontempi B, Dalrymple-Alford J, Cassel JC (2009) The intralaminar thalamic nuclei contribute to remote spatial memory. *Journal of Neuroscience* 29:3302–3306.

Loureiro M, Lecourtier L, Engeln M, Lopez J, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A (2012) The ventral hippocampus is necessary for expressing a spatial memory. *Brain Structure and Function* 217:93–106.

Lucas DR, Newhouse JP (1957) The toxic effect of sodium l-glutamate on the inner layers of the retina. *American Medical Association Archives of Ophthalmology* 58:193–201.

Luna-Munguia H, Starski P, Chen W, Gliske S, Stacey WC (2017) Control of in vivoictogenesis via endogenous synaptic pathways. *Scientific Reports* 7:1311-1323.

Lüscher C, Malenka RC (2012) NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4:a005710.

Lynch G, Larson J, Kelso S, Barrionuevo G, Schottier F (1983) Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 305:719-721.

-M-

Maguire EA, Burgess N, Donnett JG, Frackowiak RS, Frith CD, O’Keefe J (1998) Knowing where and getting there: a human navigation network. *Science* 280:921–924.

Maguire EA, Frackowiak RS, Frith CD (1997) Recalling routes around london: activation of the right hippocampus in taxi drivers. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 17:7103–7110.

Maguire EA, Frith CD (2003) Lateral asymmetry in the hippocampal response to the remoteness of autobiographical memories. *Journal of Neuroscience* 23:5302–5307.

Mair RG, Burk JA, Porter MC (1998) Lesions of the frontal cortex, hippocampus, and intralaminar thalamic nuclei have distinct effects on remembering in rats. *Behavioral Neuroscience* 112:772.

Maisson DJ, Gemzik ZM, Griffin AL (2018) Optogenetic suppression of the nucleus reuniens selectively impairs encoding during spatial working memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 155:78-85.

Makino H, Malinow R (2009) AMPA receptor incorporation into synapses during LTP: the role of lateral movement and exocytosis. *Neuron* 64:381–390.

Maletic-Savatic M, Malinow R, Svoboda K (1999) Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity. *Science* 283:1923–1927.

Malinow R, Schulman H, Tsien RW (1989) Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science* 245:862-866.

Manahan-Vaughan D, Kulla A, Frey JU (2000) Requirement of translation but not transcription for the maintenance of long-term depression in the CA1 region of freely moving rats. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 20:8572–8576.

Marr D (1970) A theory for cerebral neocortex. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* 176:161–234.

Marr D (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 262:23–81.

Marrs GS, Green SH, Dailey ME (2001) Rapid formation and remodeling of postsynaptic densities in developing dendrites. *Nature Neuroscience* 4:1006–1013.

Martin KC, Kosik KS (2002) Synaptic tagging: who's it? *Nature Reviews Neuroscience* 3:813–820.

Martin SJ, De Hoz L, Morris RGM (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.

Mates SL, Lund JS (1983) Spine formation and maturation of type 1 synapses on spiny stellate neurons in primate visual cortex. *The Journal of Comparative Neurology* 221:91–97.

Matsuo N (2015) Irreplaceability of neuronal ensembles after memory allocation. *Cell Reports* 11:351–357.

Matsuzaki M, Ellis-Davies GC, Nemoto T, Miyashita Y, Iino M, Kasai H (2001) Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nature Neuroscience* 4:1086–1092.

Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GCR., Kasai H (2004) Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 429:761–766.

Matus A, Ackermann M, Pehling G, Byers HR, Fujiwara K (1982) High actin concentrations in brain dendritic spines and postsynaptic densities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79:7590–7594.

Maviel T (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science* 305:96–99.

Mayford M, Siegelbaum SA, Kandel ER (2012) Synapses and memory storage. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4:a005751.

McDougall W (1911) *Body and mind: a history and a defense of animism* (London: Methuen & Co., Ltd).

McKenna JT, Vertes RP (2004) Afferent projections to nucleus reuniens of the thalamus. *The Journal of Comparative Neurology* 480:115–142.

Michelsen KA, van den Hove DL, Schmitz C, Segers O, Prickaerts J, Steinbusch HW (2007) Prenatal stress and subsequent exposure to chronic mild stress influence dendritic spine density and morphology in the rat medial prefrontal cortex. *BMC Neuroscience* 8:107–114.

Miller GA (1994) The magical number seven, plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychological Review* 101:343–352.

Miller JF, Neufang M, Solway A, Brandt A, Trippel M, Mader I, Hefft S, Merkow M, Polyn SM, Jacobs J, Kahana MJ, Schulze-Bonhage A (2013) Neural activity in human hippocampal formation reveals the spatial context of retrieved memories. *Science* 342:1111–1114.

Miller M, Peters A (1981) Maturation of rat visual cortex. II. A combined Golgi-electron microscope study of pyramidal neurons. *Journal of Comparative Neurology* 203:555–573.

Milner B (1966) Amnesia following operation on the temporal lobes. In *amnesia: clinical, psychological and medicolegal aspects*, ed. CWM Whitty, OL Zangwill: 109–133. London: Butterworths

Mitchell AS (2015) The mediodorsal thalamus as a higher order thalamic relay nucleus important for learning and decision-making. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 54:76–88.

Mitchell AS, Dalrymple-Alford JC (2006) Lateral and anterior thalamic lesions impair independent memory systems. *Learning and Memory* 13:388–396.

Moncada D, Ballarini F, Martinez MC, Frey JU, Viola H (2011) Identification of transmitter systems and learning tag molecules involved in behavioral tagging during memory formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:12931–12936.

Moncada D, Viola H (2007) Induction of long-term memory by exposure to novelty requires protein synthesis: Evidence for a behavioral tagging. *Journal of Neuroscience* 27:7476–7481.

Morishita W, Connor JH, Xia H, Quinlan EM, Shenolikar S, Malenka RC (2001) Regulation of synaptic strength by protein phosphatase 1. *Neuron* 32:1133–1148.

Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the Rat. *Journal of Neuroscience Methods* 11:47–60.

Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319:774–776.

Moscovitch M, Cabeza, Winocur G, Nadel L (2016) Episodic memory and beyond: The hippocampus and neocortex in transformation. *Annual Review of Psychology* 67:105-134.

Moser EI, Kropff E, Moser MB (2008) Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annual Review of Neuroscience* 31:69–89.

Moser MB (1999) Making more synapses: a way to store information? *Cellular and Molecular Life Sciences* 55:593–600.

Moser MB, Rowland DC, Moser EI (2015) Place cells, grid cells, and memory. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7:a021808.

Mueller D, Porter JT, Quirk GJ (2008) Noradrenergic signaling in infralimbic cortex increases cell excitability and strengthens memory for fear extinction. *Journal of Neuroscience*. 28:369–375.

Mullen RJ, Buck CR, Smith AM (1992) NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development* 116:201-211.

Müller GE, Pilzecker A (1900) Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtniss. *Zeitschrift für Psychologie. Ergänzungsband* 1:1–300.

-N-

Nadel L, Hardt O (2010) Update on memory systems and processes. *Neuropsychopharmacology* 36:251–273.

Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current opinion in neurobiology* 7:217–227.

Nagerl UV, Eberhorn N, Cambridge SB, Bonhoeffer T (2004) Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 44:759–767.

Nakayama AY, Harms MB, Luo L (2000) Small GTPases Rac and Rho in the maintenance of dendritic spines and branches in hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience* 20:5329–5338.

Neidl R, Schneider A, Bousiges O, Majchrzak M, Barbelivien A, Pereira de Vasconcelos A, Dorgans K, Dousseau F, Loeffler JP, Cassel JC, Boutillier AL (2016) Late-life environmental enrichment induces acetylation events and nuclear factor κ B-dependent regulations in the hippocampus of aged rats showing improved plasticity and learning. *Journal of Neuroscience* 36:4351–4361.

Nestor PJ, Fryer TD, Hodges JR (2006) Declarative memory impairments in Alzheimer's disease and semantic dementia. *NeuroImage* 30:1010-1020.

Newman LA, Burk JA (2005) Effects of excitotoxic thalamic intralaminar nuclei lesions on attention and working memory. *Behavioural Brain Research* 162:264–71.

Nicoll RA (2017) A brief history of long-term potentiation. *Neuron* 93:281–290.

Nimchinsky EA, Sabatini BL, Svoboda K (2002) Structure and function of dendritic spines. *Annual Reviews in Physiology* 64:313–353.

Nimchinsky EA, Yasuda R, Oertner TG, Svoboda K (2004) The number of glutamate receptors opened by synaptic stimulation in single hippocampal spines. *Journal of Neuroscience* 24:2054–2064.

Nishida E, Maekawa S, Sakai H (1984) Cofilin, a protein in porcine brain that binds to actin filaments and inhibits their interactions with myosin and tropomyosin. *Biochemistry* 23:5307–5313.

-O-

O’Keefe J, 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, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford; New York: Clarendon Press ; Oxford University Press.

Oh WC, Hill TC, Zito K (2013) Synapse-specific and size-dependent mechanisms of spine structural plasticity accompanying synaptic weakening. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America* 110:E305–312.

Ohkawa N, Saitoh Y, Suzuki A, Tsujimura S, Murayama E, Kosugi S, Nishizono H, Matsuo M, Takahashi Y, Nagase M, Sugimura YK, Watabe AM, Kato F, Inokuchi K (2015) Artificial association of pre-stored information to generate a qualitatively new memory. *Cell Reports* 14:261-269.

Okamoto K, Nagai T, Miyawaki A, Hayashi Y (2004) Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity. *Nature Neurosciences* 7:1104-1112.

Oliet SH, Malenka RC, Nicoll RA (1997) Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 18, 969–982.

Olney JW (1969) Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice: Electron microscopy of the acutely evolving lesion. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 28:455–74.

Olney JW (1971) Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus: An electron microscopic study. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 30:75–90.

Ostroff LE, Fiala JC, Allwardt B, Harris KM (2002) Polyribosomes redistribute from dendritic shafts into spines with enlarged synapses during LTP in developing rat hippocampal slices. *Neuron* 35:535–545.

-P-

Palade GE, Palay SL (1954) Electron microscope observations of interneuronal and neuromuscular synapses. *Anatomical Record* 118:335–336.

Palay SL (1956) Synapses in the central nervous system. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 2:193-202.

Pantaloni D, Le Clairche C, Carlier MF (2001) Mechanism of actin-based motility. *Science* 292:1502–1506.

Park M, Penick EC, Edwards JG, Kauer JA, Ehlers MD (2004) Recycling endosomes supply AMPA receptors for LTP. *Science* 305:1972–1975.

Park M, Salgado JM, Ostroff L, Helton TD, Robinson CG, Harris KM, Ehlers MD (2006) Plasticity-induced growth of dendritic spines by exocytic trafficking from recycling endosomes. *Neuron* 52:817–830.

Paveau MA (2013) *Mnémosyne, mère du discours. La pensée du discours.*

Paxinos G, Watson C (2007) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 6th ed. Amsterdam ; Boston: Academic Press/Elsevier.

Penfield W, Perot P (1963) The brain's record of auditory and visual experience. A final summary discussion. *Brain* 86:595–696.

Penfield W, Rasmussen T (1950) *The cerebral cortex of man: a clinical study of localization of function* (New York: Macmillan).

Peters A, Kaiserman-Abramof IR (1969) The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex: the synapses upon dendritic spines. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie* 100:487–506.

Peters A, Kaiserman-Abramof IR (1970) The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex: the perikaryon, dendrites and spines. *The American Journal of Anatomy* 127:321–356.

Peters J, Kalivas PW, Quirk GJ (2009) Extinction circuits for fear and addiction overlap in prefrontal cortex. *Learning and Memory* 16:279-288.

Piolino P, Desgranges B, Belliard S, Matuszewski V, Lalevee C, De la Sayette V, Eustache F (2003) Autobiographical memory and auto-noetic consciousness: triple dissociation in neurodegenerative diseases. *Brain* 126:2203-2219.

Pollard TD, Borisy GG (2003) Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell* 112:453–465.

Poo M, Pignatelli M, Ryan TJ, Tonegawa S, Bonhoeffer T, Martin KC, Rudenko A, Tsai LH, Tsien RW, Fishell G, Mullins C, Gonçalves JT, Shtrahman M, Johnston ST, Gage FH, Dan Y, Long J, Buzsáki G, Stevens C (2016) What is memory? The present state of the engram. *BMC Biology* 14:40–57.

Popov V, Medvedev NI, Davies HA, Stewart MG (2005) Mitochondria form a filamentous reticular network in hippocampal dendrites but are present as discrete bodies in axons: a three-dimensional ultrastructural study. *Journal of Comparative Neurology* 492:50–65.

Porter MC, Burk JA, Mair RG (2000) A comparison of the effects of hippocampal or prefrontal cortical lesions on three versions of delayed non-matching-to-sample based on positional or spatial cues. *Behavioural brain research* 109:69–81.

Portera-Caillau C, Pan DT, Yuste R (2003) Activity-regulated dynamic behavior of early dendritic protrusions: evidence for different types of dendritic filopodia. *Journal of Neuroscience* 23:7129–7142.

Poucet B, Benhamou S (1997) The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *Critical Reviews in Neurobiology* 11:101–120.

Poucet B, Thinus-Blanc C, Muller RU (1994) Place cells in the ventral hippocampus of rats. *Neuroreport* 5:2045–2048.

Prasad JA, Macgregor EM, Chudasama Y (2013) Lesions of the thalamic reuniens cause impulsive but not compulsive responses. *Brain Structure and Function* 218:85–96.

Prasad JA, Abela AR, Chudasama Y (2017) Midline thalamic reuniens lesions improve executive behaviors. *Neuroscience* 345:77–88.

Preston AR, Eichenbaum H (2013) Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology* 23:R764–R773.

Preuss T (1995) Do rats have prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert program reconsidered. *Cognitive Neuroscience* 7:1–24.

-R-

Radley JJ, Johnson LR, Janssen WG, Martino J, Lamprecht R, Hof PR, LeDoux JE, Morrison JH (2006) Associative Pavlovian conditioning leads to an increase in spinophilin-immunoreactive dendritic spines in the lateral amygdala. *European Journal of Neuroscience* 24:876–884.

Ragozzino ME, Kim J, Hassert D, Minniti N, Kiang C (2003) The contribution of the rat prelimbic infralimbic areas to different forms of task switching. *Behavioral Neuroscience* 117:1054–1065.

Rakic P, Sidman RL (1973) Organization of cerebellar cortex secondary to deficit of granule cells in weaver mutant mice. *The Journal of Comparative Neurology* 152:133–161.

Ramachandran B, Frey JU (2009) Interfering with the actin network and its effect on long-term potentiation and synaptic tagging in hippocampal CA1 neurons in slices in vitro. *Journal of Neuroscience* 29:12167–12173.

Ramirez S, Liu X, Lin PA, Suh J, Pignatelli M, Redondo RL, Ryan TJ, Tonegawa S (2013) Creating a false memory in the hippocampus. *Science* 341:387–391.

Ramiro-Cortés Y, Israely I. (2013). Long lasting protein synthesis- and activity-dependent spine shrinkage and elimination after synaptic depression. *PLoS ONE* 8:e71155.

Ranck J (1985) Head direction cells in the deep cell layer of dorsal presubiculum in freely moving rats. Buzsáki G, Vanderwolf C, eds. *Electrical Activity of the Archicortex*:217–220.

Reagh ZM, Murray EA, Yassa MA (2017) Repetition reveals ups and downs of hippocampal, thalamic, and neocortical engagement during mnemonic decisions. *Hippocampus* 27:169-183.

Redondo RL, Kim J, Arons AL, Ramirez S, Liu X, Tonegawa S (2014) Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram. *Nature* 513:426-430.

Redondo RL, Morris RGM (2011) Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nature Reviews Neuroscience* 12:17–30.

Reijmers LG, Perkins BL, Matsuo N, Mayford M (2007) Localization of a stable neural correlate of associative memory. *Science* 317:1230–1233.

Restivo L, Roman FS, Ammassari-Teule M, Marchetti E (2006) Simultaneous olfactory discrimination elicits a strain-specific increase in dendritic spines in the hippocampus of inbred mice. *Hippocampus* 16: 472–479.

Restivo L, Vetere G, Bontempi B, Ammassari-Teule M (2009) The formation of recent and remote memory is associated with time-dependent formation of dendritic spines in the hippocampus and anterior cingulate cortex. *Journal of Neuroscience* 29:8206–8214.

Ribot T (1882) *Diseases of memory - an essay in the positive psychology*.

Ridley AJ (2001) Rho family proteins: coordinating cell responses. *Trends in Cell Biology* 11:471–477.

Roberson ED, Sweatt JD (1996) Transient activation of cyclic AMP-dependent protein kinase during hippocampal long-term potentiation. *The Journal of Biological Chemistry* 271:30436–30441.

Roberts TF, Tschida KA, Klein ME, Mooney R (2010) Rapid spine stabilization and synaptic enhancement at the onset of behavioural learning. *Nature* 463:948-952.

Rose JE, Woolsey CN (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Research Publication: Association for Research in Nervous and Mental Disease* 27:210–232.

Rosenbaum RS, Winocur G, Moscovitch M (2001) New views on old memories: re-evaluating the role of the hippocampal complex. *Behavioural Brain Research* 127:183–197.

Rossman KL, Der CJ, Sondek J (2005) GEF means go: turning on Rho GTPases with guanine nucleotide-exchange factors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6:167–180.

Roy A, Svensson FP, Mazeh A, Kocsis B (2017) Prefrontal-hippocampal coupling by theta rhythm and by 2–5 Hz oscillation in the delta band: The role of the nucleus reuniens of the thalamus. *Brain Structure and Function* 222:2819–2830.

Russell WR, Nathan PW (1946) Traumatic amnesia. *Brain* 69:280–300.

Ryan TJ, Roy DS, Pignatelli M, Arons A, Tonegawa S (2015) Memory. Engram cells retain memory under retrograde amnesia. *Science* 348:1007–1013.

-S-

Sala C, Segal M (2014) Dendritic spines: the locus of structural and functional plasticity. *Physiological Reviews* 94:141–88.

Salay LD, Ishiko N, Huberman AD (2018) A midline thalamic circuit determines reactions to visual threat. *Nature* 557:183–189.

Sanders J, Cowansage K, Baumgärtel K, Mayford M (2012) Elimination of dendritic spines with long-term memory is specific to active circuits. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 32:12570–12578.

Sargolini F (2006) Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. *Science* 312:758–762.

Saucier DM, Shultz SR, Keller AJ, Cook CM, Binsted G (2008) Sex differences in object location memory and spatial navigation in Long-Evans rats. *Animal Cognition* 11:129–137.

Savage LM, Hall JM, Resende LS (2012) Translational rodent models of Korsakoff syndrome reveals the critical neuroanatomical substrates of memory dysfunction and recovery. *Neuropsychology Review* 22:195–209.

Schacter DL, Eich JE, Tulving E (1978) Richard Semon's theory of memory. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 17:721–743.

Schätzle P, Esteves da Silva M, Tas RP, Katrukha EA, Hu HY, Wierenga CJ, Kapitein LC, Hoogenraad CC (2018) Activity-dependent actin remodeling at the base of dendritic spines promotes microtubule entry. *Current in Biology* 28:2081–2093.

Schlesinger MI, Cressey JC, Boubilil B, Koenig J, Melvin NR, Leutgeb JK, Leutgeb S (2013) Hippocampal activation during the recall of remote spatial memories in radial maze tasks. *Neurobiology of Learning and Memory* 106:324–333.

Schoenbaum G, Roesch M (2005) Orbitofrontal cortex, associative learning, and expectancies. *Neuron* 47:633–636.

Schultz C, Engelhardt M (2014) Anatomy of the hippocampal formation. *Frontiers in Neurology and Neuroscience* 34:6–17.

Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 20:11–21.

Seamans JK, Lapish CC, Durstewitz D (2008) Comparing the prefrontal cortex of rats and primates: insights from electrophysiology. *Neurotoxicity Research* 14:249–262.

Sekeres MJ, Winocur G, Moscovitch M (2018) The hippocampus and related neocortical structures in memory transformation. *Neuroscience Letters* 680:39–53.

Semon R (1904) *Die Mneme als erhaltendes Prinzip im Wechsel des organischen Geschehens* (Leipzig: Wilhelm Engelmann).

Semon R (1923) *Mnemic Philosophy* (Allen & Unwin).

Semon R. (1909) *Die mnemischen Empfindungen* (Leipzig: Wilhelm Engelmann).

Serrano-Castro PJ, Garcia-Torrecillas JM (2012) Cajal's first steps in scientific research. *Neuroscience* 217:1–5.

Sheng M, Hoogenraad CC (2007) The postsynaptic architecture of excitatory Synapses: A more quantitative view. *Annual Review of Biochemistry* 76: 823–847.

Sherman SM (2005) Thalamic relays a cortical functioning. *Progress in Brain Research* 149:107–126.

Sherman SM (2007) The thalamic is more than just a relay. *Current Opinion in Neurobiology* 17:417–422.

Sierra-Mercado D, Padilla-Coreano N, Quirk GJ (2011) Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned Fear. *Neuropsychopharmacology* 36:529–538.

Silva AJ, Stevens CF, Tonegawa S, Wang Y (1992) Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257:201–206.

Sloan DM, Bertram EH (2009) Changes in midline thalamic recruiting responses in the prefrontal cortex of the rat during the development of chronic limbic seizures. *Epilepsia* 50:556–65.

Solstad T, Boccara CN, Kropff E, Moser MB, Moser EI (2008) Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science* 322:1865–1868.

Song C, Ehlers VL, Moyer JR. Trace Fear Conditioning (2015) Differentially modulates intrinsic excitability of medial prefrontal cortex–basolateral complex of amygdala projection neurons in infralimbic and prelimbic cortices. *Journal of Neuroscience* 35:13511-13524.

Sorra K, Harris K (1998) Stability in synapse number and size at 2 hr after long-term potentiation in hippocampal area CA1. *Journal of Neuroscience* 18:658–71.

Sorra KE, Harris KM (2000) Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines. *Hippocampus* 10:501–511.

Sotelo C (1975) Anatomical, physiological and biochemical studies of the cerebellum from mutant mice. II. Morphological study of cerebellar cortical neurons and circuits in the weaver mouse. *Brain Research* 94:19–44.

Sotelo C (1977) Formation of presynaptic dendrites in the rat cerebellum following neonatal X-irradiation. *Neuroscience* 2:275–283.

Spacek J (1985) Three-dimensional analysis of dendritic spines. II. Spine apparatus and other cytoplasmic components. *Anatomy and Embryology* 171:235-243.

Spacek J, Harris KM (1997) Three-dimensional organization of smooth endoplasmic reticulum in hippocampal CA1 dendrites and dendritic spines of the immature and mature Rat. *The Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neuroscience* 17:190–203.

Squire LR, Genzel L, Wixted JT, Morris RG (2017) Memory consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 :a021766.

Squire LR (2004) Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory* 82:171–177.

Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Current Opinion in Neurobiology* 5:169–177.

Squire LR, Stark CEL, Clark RE (2004) The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience* 27:279–306.

Star EN, Kwiatkowski DJ, Murthy VN (2002) Rapid turnover of actin in dendritic spines and its regulation by activity. *Nature Neurosciences* 5:239–246.

Stefanowska, M (1897) Les appendices terminaux des dendrites cérébraux et leur différents états physiologiques. *Annales de la Société Royale des Sciences Médicales et Naturelles de Bruxelles* 6 :351–407.

Steward O, Reeves TM (1988) Protein-synthetic machinery beneath postsynaptic sites on CNS neurons: Association between polyribosomes and other organelles at the synaptic site. *Journal of Neuroscience* 8:176–184.

Steward O, Schuman EM (2001) Protein synthesis at synaptic sites on dendrites. *Annual Reviews in Neurosciences* 24:299–325.

Sutherland RJ, Weisend MP, Mumby D, Astur RS, Hanlon FM, Koerner A, Thomas MJ, Wu Y, Moses SN, Cole C, Hamilton DA, Hoising JM (2001) Retrograde amnesia after hippocampal damage: recent vs. remote memories in two tasks. *Hippocampus* 11:27–42.

Syntichaki P, Tavernarakis N (2003) The biochemistry of neuronal necrosis: rogue biology? *Nature Reviews Neuroscience* 4:672–684.

-T-

Tanaka J, Horiike Y, Matsuzaki M, Miyazaki T, Ellis-Davies GC, Kasai H (2008) Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines. *Science* 319:1683–1687.

Tanaka KZ, Pevzner A, Hamidi AB, Nakazawa Y, Graham J, Wiltgen BJ (2014) Cortical representations are reinstated by the hippocampus during memory retrieval. *Neuron* 84:347–354.

Tanzi G (1893) I fatti e le indizioni nellodierna istologia del sistema nervoso. *Riv. Sper. Freniatr.* 19:419–72.

Taube JS (1998) Head direction cells and the neurophysiological basis for a sense of direction. *Progress in Neurobiology* 55:225–256.

Taube JS, Muller RU, Ranck JB (1990) Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 10:420–435.

Taylor KK, Tanaka KZ, Reijmers LG, Wiltgen BJ (2013) Reactivation of neural ensembles during the retrieval of recent and remote memory. *Current Biology* 23:99–106.

Teixeira CM (2006) Involvement of the anterior cingulate cortex in the expression of remote spatial memory. *Journal of Neuroscience* 26:7555–7564.

Thielen JW, Takashima A, Rutters F, Tendolkar I, Fernández G (2015) Transient relay function of midline thalamic nuclei during long-term memory consolidation in humans. *Learning and Memory* 22:527–531.

Thierry AM, Gioanni Y, Dégénétais E, Glowinski J (2000) Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* 10:411–419.

Thomas GM, Huganir RL (2004) MAPK cascade signalling and synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 5:173–183.

Tixier-Vidal A (2010) De la théorie cellulaire à la théorie neuronale. *Biologie Aujourd'hui*. 204 :253-266.

Tolman EC (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review* 55:189–208.

Tonegawa S, Liu X, Ramirez S, Redondo R (2015a) Memory engram cells have come of age. *Neuron* 87:918–931.

Tonegawa S, Pignatelli M, Roy D, Ryan T (2015b) Memory engram storage and retrieval. *Current Opinion in Neuroscience* 35:101–109.

Trachtenberg JD, Chen BE, Knott GW, Fen G, Sanes JR, Welker E, Svoboda K (2002) Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* 420:788–794.

Travis SG, Huang Y, Fujiwara E, Radomski A, Olsen F, Carter R, Seres P, Malykhin NV (2014) High field structural MRI reveals specific episodic memory correlates in the subfields of the hippocampus. *Neuropsychologia* 53:233–245.

Trommald M, Hulleberg G, Andersen P (1996) Long-term potentiation is associated with new excitatory spine synapses on rat dentate granule cells. *Learning and Memory* 3:218–28.

Trommald M, Vaaland JL, Blackstad TW, Andersen P (1990) Dendritic spine changes in rat dentate granule cells associated with long term potentiation. In *Neurotoxicity of Excitatory Amino Acids*, ed. A Guidotti: 163–74. New York: Raven.

Tropea D, Majewska AK, Garcia R, Sur M (2010) Structural dynamics of synapses in vivo correlate with functional changes during experience-dependent plasticity in visual cortex. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 30:11086–11095.

Troyner F, Bicca MA, Bertoglio LJ (2018) Nucleus reuniens of the thalamus controls fear memory intensity, specificity and long-term maintenance during consolidation. *Hippocampus* 28:602–616.

Tsanov M, Chah E, Vann SD, Reilly RB, Erichsen JT, Aggleton JP, O'Mara SM (2011) Theta-modulated head direction cells in the rat anterior thalamus. *Journal of Neuroscience Official Journal of the Society for Neurosciences* 31:9489–9502.

Tulving E (1972) Episodic and semantic memory. *Organization of memory* :381–403

.

-U-

Urban KR, Layfield DM, Griffin AL (2014) Transient inactivation of the medial prefrontal cortex impairs performance on a working memory-dependent conditional discrimination task. *Behavioral Neuroscience* 128:639–643.

Uylings HBM, Groenewegen HJ, Kolb B (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research* 146:3–17.

Van der Werf YD, Jolles J, Witter MP, Uylings HBM (2003a) Contributions of thalamic nuclei to declarative memory functioning. *Cortex* 39:1047–1062.

Van der Werf YD, Scheltens P, Lindeboom J, Witter MP, Uylings HBM, Jolles J (2003b) Deficits of memory, executive functioning and attention following infarction in the thalamus; a study of 22 cases with localised lesions. *Neuropsychologia* 41:1330–1344.

Van der Werf YD, Witter MP, Groenewegen HJ (2002) The intralaminar and midline nuclei of the thalamus. Anatomical and functional evidence for participation in processes of arousal and awareness. *Brain Research Reviews* 39:107–140.

Van Harrefeld A, Fifkova E (1975) Swelling of dendritic spines in the fascia dentata after stimulation of the perforant fibers as a mechanism of post-tetanic potentiation. *Experimental Neurology* 49:736–49.

Van Strien NM, Cappaert NLM, Witter MP (2009) The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience* 10:272–282.

Vann SD, Brown MW, Aggleton JP (2000a) Fos expression in the rostral thalamic nuclei and associated cortical regions in response to different spatial memory tests. *Neuroscience* 101:983–991.

Vann SD, Brown MW, Erichsen JT, Aggleton JP (2000b) Fos imaging reveals differential patterns of hippocampal and parahippocampal subfield activation in rats in response to different spatial memory tests. *Journal of Neuroscience* 20:2711–2718.

Varela C, Kumar S, Yang JY, Wilson MA (2014) Anatomical substrates for direct interactions between hippocampus, medial prefrontal cortex, and the thalamic nucleus reuniens. *Brain Structure and Function* 219:911–929.

Vertes RP (2002) Analysis of projections from the medial prefrontal cortex to the thalamus in the rat, with emphasis on nucleus reuniens. *The Journal of Comparative Neurology* 442:163–187.

Vertes RP (2004) Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the Rat. *Synapse* 51:32–58.

Vertes RP (2006) Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience* 142:1–20.

Vertes RP, Hoover WB, Do Valle AC, Sherman A, Rodriguez JJ (2006) Efferent projections of reuniens and rhomboid nuclei of the thalamus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 499:768–796.

Vertes RP, Hoover WB, Szigeti-Buck K, Leranath, C (2007) Nucleus reuniens of the midline thalamus: link between the medial prefrontal cortex and the hippocampus. *Brain Research Bulletin* 71:601–609.

Vertes RP, Linley SB, Hoover WB (2010) Pattern of distribution of serotonergic fibers to the thalamus of the rat. *Brain Structure and Function* 215:1–28.

Vertes RP, Linley SB, Hoover WB (2015) Limbic circuitry of the midline thalamus. *Neuroscience and Biobehavioral reviews* 54:89-107.

Vetere G, Kenney JW, Tran LM, Xia F, Steadman PE, Parkinson J, Josselyn SA, Frankland PW (2017) Chemogenetic interrogation of a brain-wide fear memory network in mice. *Neuron* 94:363–374.

Vetere G, Restivo L, Cole CJ, Ross PJ, Ammassari-Teule M, Josselyn SA, Frankland PW (2011) Spine growth in the anterior cingulate cortex is necessary for the consolidation of contextual fear memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:8456-8460.

Viena TD, Linley SB, Vertes RP (2018) Inactivation of nucleus reuniens impairs spatial working memory and behavioral flexibility in the rat. *Hippocampus* 28:297-311.

Viola H, Ballarini F, Martínez MC, Moncada D (2014) The tagging and capture hypothesis from synapse to memory. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 122:391–423.

Viskontas IV, McAndrews MP, Moscovitch M (2000) Remote episodic memory deficits in patients with unilateral temporal lobe epilepsy and excisions. *Journal of Neuroscience* 20:5853–5857.

Vogt BA (2005) Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. *Nature Reviews Neuroscience* 6:533-544.

Vogt BA, Paxinos G (2014) Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Structure and Functions* 219:185-192.

-W-

Watkins MJ, Tulving E (1975) Episodic memory: When recognition fails. *Journal of Experimental Psychology* 104:5-29.

Wenzel J, Otani S, Desmond NL, Levy WB (1994) Rapid development of somatic spines in stratum granulosum of the adult hippocampus in vitro. *Brain Research* 656:127–134.

Westrum LE, Jones DH, Gray EG, Barron J (1980) Microtubules, dendritic spines and spine apparatuses. *Cell Tissue Research* 208:171–181.

Wheeler MA, Stuss DT, Tulving E (1997) Toward a theory of episodic memory: the frontal lobes and auto-noetic consciousness. *Psychological Bulletin* 121:331-354.

Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093–1097.

Wiltgen BJ, Silva AJ (2007) Memory for context becomes less specific with time. *Learning and Memory* 14:313–317.

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 (2011) Memory transformation and systems consolidation. *Journal of the International Neuropsychological Society* 17:766–780.

Winocur G, Moscovitch M, Bontempi B (2010) Memory formation and long-term retention in humans and animals: Convergence towards a transformation account of hippocampal–neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48:2339–2356.

Winocur G, Moscovitch M, Caruana DA, Binns MA (2005) Retrograde amnesia in rats with lesions to the hippocampus on a test of spatial memory. *Neuropsychologia* 43:1580–1590.

Winocur G, Moscovitch M, Sekeres M (2007) Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nature Neuroscience* 10:555–557.

Winsky L, Montpied P, Arai R, Martin BM, Jacobowitz DM (1992) Calretinin distribution in the thalamus of the rat: immunohistochemical and in situ hybridization histochemical analyses. *Neuroscience* 50:181–196.

Witter MP, Ostendorf RH, Groenewegen HJ (1990) Heterogeneity in the dorsal subiculum of the Rat. Distinct neuronal zones project to different cortical and subcortical targets. *European Journal of Neuroscience* 2:718–725.

Wouterlood FG, Saldana E, Witter MP (1990) Projection from the nucleus reuniens thalami to the hippocampal region: light and electron microscopic tracing study in the rat with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology* 296:179–203.

-X-

Xie H, Liu Y, Zhu Y, Ding X, Yang Y, Guan JS (2014) In vivo imaging of immediate early gene expression reveals layer--specific memory traces in the mammalian brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111:2788–2793.

Xu T, Yu X, Perlik AJ, Tobin WF, Zweig JA, Tennant K, Jones T, Zuo Y (2009) Rapid formation and selective stabilization of synapses for enduring motor memories. *Nature* 462:915–919.

Xu W, Sudhof TC (2013) A neural circuit for memory specificity and generalization. *Science* 339:1290–1295.

-Y-

Yang G, Pan F, Gan WB (2009) Stably maintained dendritic spines are associated with lifelong memories. *Nature* 462:920–924.

Yonezawa N, Nishida E, Sakai H (1985) pH control of actin polymerization by cofilin. *The Journal of Biological Chemistry* 260:14410–14412.

Yuste R, Bonhoeffer T (2001) Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annual Review of Neuroscience* 24:1071–1089.

Yuste R, Bonhoeffer T (2004) Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies. *Nature Reviews Neuroscience* 5:24–34.

Yuste R, Majewska A, Holthoff K (2000) From form to function: calcium compartmentalization in dendritic spines. *Nature Neuroscience* 3:653–659.

-Z-

Zhang Y, Fukushima H, Kida S (2011) Induction and requirement of gene expression in the anterior cingulate cortex and medial prefrontal cortex for the consolidation of inhibitory avoidance memory. *Molecular Brain* 4:1-11.

Zhou Q, Homma KJ, Poo MM (2004) Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron* 44:749–757.

Zhou Y, Won J, Karlsson MG, Zhou M, Rogerson T, Balaji J, Neve R, Poirazi P, Silva AJ (2009) CREB regulates excitability and the allocation of memory to subsets of neurons in the amygdala. *Nature Neuroscience* 12:1438–1443.

Zhu JJ, Qin Y, Zhao M, Van Aelst L, Malinow R (2002) Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Cell* 110:443–455.

Ziv NE, Smith SJ (1996) Evidence for a role of dendritic filopodia in synaptogenesis and spine formation. *Neuron* 17:91–102.

Zuo Y, Yang G, Kwon E, Gan WB (2005) Long-term sensory deprivation prevents dendritic spine loss in primary somatosensory cortex. *Nature* 436:261–265.

**Rôle des noyaux reuniens (Re) et rhomboïde (Rh)
du thalamus dans la plasticité structurale associée à la persistance d'un souvenir spatial chez
le Rat.**

RESUME

La théorie standard de la consolidation postule que l'information est initialement encodée dans le réseau hippocampo-cortical, créant une trace mnésique au sein de l'hippocampe (HIP). Au cours du temps, la trace est transférée au cortex préfrontal médian (CPFm), et notamment au cortex cingulaire antérieur (CCA). À la suite de lésion des noyaux reuniens et rhomboïde (ReRh), réciproquement connectés à l'HIP et au CPFm, le souvenir spatial se forme normalement mais ne persiste pas dans le temps. Ainsi, nous avons évalué l'impact de la lésion ReRh sur la plasticité structurale sous-tendant la persistance du souvenir spatial. Des rats lésés ReRh ont été entraînés en piscine de Morris et testés pour un rappel récent (5j) ou ancien (25j). La plasticité structurale a été évaluée par coloration de Golgi dans l'HIP et le CPFm. La lésion ReRh n'avait aucun effet sur l'apprentissage et le souvenir récent, mais a altéré celui du souvenir ancien. Dans le CA1 des rats Sham, le nombre d'épines dendritiques a été augmenté aux deux délais (5 et 25j) post-acquisition comparé au niveau basal. Après la lésion, cette augmentation n'a pas persisté entre 5 et 25j. Dans le CCA des rats Sham, le nombre d'épines dendritiques a été augmenté uniquement à 25j comparé au niveau de base, une modification non observée chez les rats lésés. Ainsi, à la lésion des noyaux ReRh perturbe la plasticité structurale sous-tendant le souvenir spatial ancien indiquant un rôle crucial de ces noyaux dans l'établissement d'un souvenir persistant.

Mots-clés : mémoire spatiale, plasticité structurale, noyau reuniens, consolidation systémique, piscine de Morris, imprégnation de Golgi, Rat.

SUMMARY

The standard model of systemic consolidation posits that information is initially encoded in the hippocampo-neocortical network, the memory trace being first created in the sole hippocampus (HIP). Over time, the trace is progressively transferred to modules of the medial prefrontal cortex (mPFC), particularly to the anterior cingulate cortex (ACC). Following lesions of the thalamic reuniens and rhomboid nuclei (ReRh), which are reciprocally connected with both the Hipp and mPFC, a spatial memory forms normally but does not persist (Loureiro et al 2012). Therefore, we assessed the impact of ReRh lesions on structural plasticity underlying spatial memory persistence. Male Long-Evans rats subjected to NMDA lesions of the ReRh nuclei were trained in the Morris Water Maze and tested for retrieval of recent (5 days) or remote (25 days) memory. Structural plasticity was assessed on Golgi-stained material in the HIP and CPFm. ReRh lesions had no effect on learning and recent memory, but altered remote memory. In the HIP (CA1) of sham-operated rats, the spine number was increased at both 5 and 25 days post-acquisition vs baseline. After ReRh lesion, the increase did not persist from 5 to 25 days. In the mPFC (ACC) of sham-operated rats, the spine number was increased only at 25 days vs baseline, a modification not observed in ReRh lesioned rats. Thus, following lesion of ReRh nuclei, structural plasticity underlying remote spatial memory formation does not operate correctly in the mPFC and Hip, pointing to a crucial role of ReRh in memory persistence.

Keywords: spatial memory, structural plasticity, nucleus reuniens, systemic consolidation, morris water maze, golgi staining, rat.