

École Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé (Ed414)
Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA)

THESE

**Présentée pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Strasbourg**

Spécialité : Neurosciences

Par

Mohamad ALI

**Effet de l'enrichissement physique et social sur l'établissement
d'un souvenir spatial à long terme après lésion des noyaux
reuniens et rhomboïde du thalamus chez le Rat**

30 Septembre 2015

Thèse dirigée par :

Jean-Christophe CASSEL

Anne PEREIRA DE VASCONCELOS

Directeur de thèse

Co-Directeur de thèse

Membres du jury

Etienne SAVE

Jean Louis MILLOT

Pascal DARBON

Mathieu WOLFF

Rapporteur externe

Rapporteur externe

Examineur interne

Examineur externe

Remerciements

Je voudrais remercier en premier lieu les membres du jury de ma thèse d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse et d'avoir consacré du temps pour la lecture de ce manuscrit.

Je souhaiterais également remercier le Dr. Christian Kelche, doyen de la Faculté de Psychologie de Strasbourg, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. Merci aussi pour la relecture d'une partie de ce manuscrit.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au Pr. Jean-Christophe Cassel et au Dr. Anne Pereira de Vasconcelos, mes directeurs de thèse, pour m'avoir accepté et accompagné pendant ces quelques années de thèse tant dans les aspects scientifiques que personnels. Merci pour votre constante disponibilité, votre écoute, vos encouragements et pour toute aide pendant la rédaction et la correction de cette thèse. Merci de m'avoir fait confiance. Merci pour tout.

Un grand merci à Brigitte Cosquer pour avoir bénéficié de son expérience technique et pour son aide dans les différentes manipulations expérimentales.

Merci également à Thibault Cholvin, avec qui j'ai eu l'occasion de profiter de sa solide expérience sur la chirurgie cérébrale chez le Rat. Merci pour nos discussions et tes conseils.

Je remercie vivement l'ensemble des doctorant(e)s de différentes promotions qui ont passé, ou vont passer, leur thèse en particulièrement ceux partageant mon bureau; Michaël Loureiro, Marc-Antoine Muller, Sarah Pol-Bodetto, Mathieu Fonteneau, Fanny Fuchs et Amélie Gressier. Merci pour nos discussions, je vous souhaite un très bel avenir.

Merci aux animaliers, Olivier, Georges et Daniel d'avoir pris soin de nos animaux.

Un grand merci à l'ensemble des chercheurs, enseignants-chercheurs et personnels techniques pour toute aide que j'ai eu un jour ou l'autre. Merci pour cette ambiance très sympathique et cette qualité scientifique du laboratoire.

Enfin, je remercie de tout mon cœur ma famille et tous mes amis de m'avoir fait confiance et de m'avoir soutenu tout au long de ces années de thèse. Je remercie particulièrement ma femme Bayan pour son soutien indéfectible pendant les longues heures consacrées pour la réalisation de cette thèse de doctorat.

Table Des Matières

1. Introduction	1
1.1. Introduction générale	1
1.2. Objectifs de la thèse	2
1.3. Structure de la thèse	3
2. Contexte Scientifique	2
Chapitre 1 : Systèmes de mémoire	4
1.1. Définition de la mémoire	4
1.2. Mémoire à court-terme et à long-terme	5
1.3. Mémoire de travail	8
1.4. Mémoire déclarative et non-déclarative	9
Chapitre 2 : Consolidation du souvenir	12
2.1. Concept de consolidation de la mémoire	12
2.2. Consolidation synaptique et systémique	13
2.3. Théorie standard de la consolidation au niveau des systèmes	16
2.4. Autres théories	18
2.5. Implication privilégiée du cortex préfrontal médian dans la consolidation	21
Chapitre 3 : Mémoire spatiale	24
3.1. Définition de la mémoire spatiale	24
3.2. Différentes stratégies de navigation spatiale	24
3.3. Implication de l'hippocampe dans la mémoire spatiale	25
3.3.1. Description anatomique de l'hippocampe	25
3.3.2. Rôles de l'hippocampe dans la mémoire et d'autres fonctions	29
3.3.3. L'hippocampe et la navigation spatiale	32
3.4. Mesures de la mémoire spatiale de référence chez le Rat	33
Chapitre 4 : Contribution thalamique aux processus mnésiques	37
4.1. Formation anatomique et subdivisions fonctionnelles	37
4.2. Les noyaux non-spécifiques sont-ils vraiment non-spécifiques?	40
4.3. Thalamus et mémoire	41
4.3.1. Les amnésies diencephaliques chez l'Homme	42

4.3.1.1. La maladie de Korsakoff chez l'Homme	43
4.3.1.2. Autres étiologies d'amnésie diencephalique	44
4.3.2. Modèles animaux d'amnésie diencephalique	47
Chapitre 5 : Les noyaux Reuniens et Rhomboïde	50
5.1. Données neuroanatomiques et structurales.....	50
5.1.1. Les afférences des noyaux ReRh	53
5.1.2. Les efférences des noyaux ReRh	54
5.2. Données électrophysiologiques	56
5.3. Données comportementales et cognitives.....	61
5.3.1. Processus mnésiques.....	61
5.3.1.1. Mémoire de travail	61
5.3.1.2. Mémoire spatiale de référence	63
5.3.1.3. Consolidation d'autres types de mémoire	65
5.3.1.4. Flexibilité comportementale et changement de stratégie.....	67
5.3.2. Autres Processus.....	68
Chapitre 6 : Environnement Enrichi (EE) et restauration fonctionnelle.....	72
6.1. Description générale.....	72
6.2. Les différents types d'environnement enrichi chez le rongeur.....	72
6.3. Changements comportementaux.....	74
6.3.1. Poids corporel et masse cérébrale	74
6.3.2. Activités locomotrices	75
6.3.3. Anxiété et stress	76
6.3.4. Fonctions cognitives	77
6.4. Changements neuronaux	78
6.4.1. Neurogenèse, épine dendritique et épaisseur corticale	80
6.4.2. Expression des gènes précoces et des facteurs neurotrophiques	82
6.5. Changements biochimiques	85
6.6. Restauration fonctionnelle grâce à un élevage en EE	87
6.6.1. L'EE : un outil bénéfique pré et/ou post-opératoire	87
6.6.2. Restauration de certaines capacités cognitives après lésion cérébrale.....	89
3. Matériels et Méthodes	92
3.1. Sujet animal	92
3.1.1. Souche et sexe	92
3.1.2. Âge des animaux.....	93

3.2. Conditions d'élevage	93
3.2.1. Conditions préopératoires.....	93
3.2.2. Conditions post-opératoires.....	94
3.2.3. Protocole d'environnement enrichi (EE) vs environnement standard (ES).....	94
3.2.3.1. Condition contrôle ou environnement standard (ES)	94
3.2.3.2. Condition enrichie (EE)	95
3.3. Opérations chirurgicales : (Lésion ReRh)	97
3.3.1. Anesthésie	97
3.3.2. Dispositif stéréotaxique et préparations pré-injection	98
3.3.3. Sites d'instillation	100
3.3.4. Produits injectés	101
3.3.5. Protocole d'injection	102
3.4. Observations comportementales	102
3.4.1. Piscine de Morris	102
3.4.1.1. Dispositif.....	103
3.4.1.2. Procédures.....	103
3.4.2. Labyrinthe en croix surélevé (<i>plus maze</i>)	106
3.4.2.1. Dispositif.....	106
3.4.2.2. Procédures.....	107
3.4.3. Test d'activité locomotrice (Actographie)	107
3.4.3.1. Dispositif.....	107
3.4.3.2. Procédures.....	108
3.4.4. Relevés des poids des animaux	108
3.5. Analyse biochimique du niveau de corticostérone plasmique.....	109
3.6. Histologie et Immunohistochimie	110
3.6.1. Euthanasie et prélèvement des cerveaux	110
3.6.2. Fixation des cerveaux	110
3.6.3. Coupes au cryostat	110
3.6.4. Evaluation de la lésion des noyaux ReRh (Marquage NeuN)	110
3.6.5. Immunomarquage de l'activité neuronale (c-Fos)	112
3.6.5.1. Principe.....	112
3.6.5.2. Protocole	114
3.7. Méthode stéréologique pour évaluer l'activité de c-Fos	117
3.7.1. Introduction.....	117

3.7.2. Principes d'échantillonnage	118
3.7.3. Microscope et comptage <i>via</i> le logiciel Mercator	121
4. Contributions expérimentales	123
5. Discussion générale	164
5.1. Effet de la lésion ReRh sur la mémoire, l'anxiété et la locomotion	164
5.2. Effets du milieu enrichi sur la mémoire, l'anxiété et la locomotion chez un sujet intact	170
5.3. Récupération fonctionnelle de processus mnésiques et non mnésiques par le milieu enrichi	173
5.4. Imagerie fonctionnelle du gène précoce <i>c-fos</i>	178
6. Conclusions et perspectives	187
7. Bibliographie	189
8. Annexes	219

Principales abréviations

dHIP	Hippocampe dorsal
mPFC	Cortex préfrontal médian
ReRh	Noyaux reuniens et rhomboïde du thalamus
NMDA	N-Methyl-D-Aspartate
EE	Environnement enrichi
ES	Environnement standard
ILN	Noyaux intralaminaires thalamiques
Amyg	Amygdale
ACC	Cortex cingulaire antérieur
PL	Cortex prélimbique
IL	Cortex infralimbique
H.M.	Henry Molaison
MCT	Mémoire courte terme
MLT	Mémoire long terme
CA1	Corne d'Ammon 1 de l'hippocampe
CA3	Corne d'Ammon 3 de l'hippocampe
HC	Home cage

Liste des figures

Figure 1 : Le modèle modale d'Atkinson et Shiffrin (1968)	6
Figure 2 : Effet de primauté et de récence d'après Miller (1956).	7
Figure 3 : Modèle de mémoire de travail de Baddeley réévalué en 2000.	9
Figure 4 : Systèmes de mémoire à long term (d'après Squire, 2004).	10
Figure 5 : Photo de H.M à l'âge de 60 ans	14
Figure 6 : Théorie Standard de la consolidation systémique de Frankland et Bontempi., 2005.....	17
Figure 7 : Théorie des traces multiples de Nadel et Moscovitch en 1997..	20
Figure 8 : Prédiction de la théorie de Rudy et coll. (2005).	23
Figure 9 : Schéma des coupes coronales de l'hippocampe chez l'Homme (A) et chez le Rat (B).	27
Figure 10 : Schéma représentatif du thalamus et ses subdivisions anatomiques en 3D.	38
Figure 11 : Organisation neuroanatomique de la ligne médiane du thalamus (LM)..	50
Figure 12 : Représentation schématique d'un circuit hippocampo-thalamo-préfrontal.....	52
Figure 13 : Schéma de la connectivité fonctionnelle du noyau Re avec l'hip	58
Figure 14 : Schéma des tâches de discrimination conditionnée	63
Figure 15 : Deux rats Long-Evans placés au sein d'un milieu enrichi.	92
Figure 16 : Décours temporel des expériences	93
Figure 17 : Conditions d'élevage standard ou enrichie.	97
Figure 18 : Crâne du rat et matériels pour la micro-instillation.....	99
Figure 19 : Représentation schématique des sites d'instillation de NMDA	101
Figure 20 : Test de la piscine de Morris ou (MWM)..	105
Figure 21 : Photographie du labyrinthe en croix surélevé ou <i>plus maze</i>	107
Figure 22 : Représentation schématique du test d'actographie dans les cages d'élevage.....	108
Figure 23 : Evaluation de lésion ReRh avec l'immuno-marquage NeuN.....	112
Figure 24 : Illustrations des régions cérébrales étudiées pour la quantification stéréologique de c-Fos	115
Figure 25 : Une structure complexe en 3D découpée horizontalement selon un plan en 2D	117
Figure 26 : Echantillonnage au niveau de sections (coupes) pour un comptage stéréologique.	119
Figure 27 : Une photo de la station d'imagerie (A) et l'interface du logiciel (<i>Mercator Explora Nova</i>)	122
Figure 28 : Evolution pondérale dans l'ensemble des groupes de rats tout au long de l'étude.	153
Figure 29 : Test du labyrinthe en croix surélevé (activité globale)	154
Figure 30 : Activité locomotrice horizontale évaluée avec le test d'actographie pendant 24h.	155
Figure 31 : Autres données pendant l'acquisition dans la piscine de Morris..	156
Figure 32 : Autres performances lors de test du rappel d'une mémoire ancienne dans la piscine de Morris	158
Figure 33 : Comptage des cellules c-Fos dans différentes sous régions du cortex cingulaire antérieur.	160
Figure 34 : Niveau de corticostérone plasmatique (CORT) chez des rats.....	163
Figure 35 : Connectivité hippocampo-préfrontalo-thalamo-amygdalienne.....	183

1. Introduction

1. Introduction

1.1. Introduction générale

La mémoire est une fonction essentielle dans notre vie quotidienne. Elle se définit par la capacité de conserver et restituer les informations passées. Différents réseaux neuronaux sont impliqués dans différents types de mémorisation. Les substrats neuronaux sous-tendant ces processus mnésiques ont été identifiés grâce à des études cliniques et de nombreux modèles animaux de lésions, ou d'inactivations pharmacologiques, par exemple. Ainsi, une atteinte cérébrale dans certaines structures peut provoquer une perte de certains événements mémorisés avant la lésion (amnésie rétrograde) ou une impossibilité de conserver une trace des expériences vécues après la lésion (amnésie antérograde). En général, le cortex préfrontal médian (mPFC) et le lobe temporal médian, notamment l'hippocampe (hip), sont très largement reconnus comme des structures impliquées dans plusieurs processus mnésiques, notamment ceux de type déclaratif. Mais, de nombreux cas cliniques présentant des lésions thalamiques, comme c'est le cas dans la maladie de Korsakoff, après un traumatisme cérébral (rare), un accident vasculaire cérébral ou une tumeur ont permis de mettre en évidence l'existence d'amnésies de type diencephalique qui peuvent présenter, en fonction de leur localisation, les mêmes caractéristiques que l'amnésie provoquée par une atteinte du lobe temporal médian. De telles amnésies ont été décrites avec des lésions des noyaux antérieurs thalamiques, des corps mamillaires thalamiques, du noyau médiodorsal et dans divers autres noyaux thalamiques (Aggleton et Brown, 1999; Van der Werf et coll., 2003). Récemment, des expériences menées au sein de notre laboratoire ont montré que la lésion des noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus, noyaux appelés 'Reuniens et Rhomboïde' (ReRh), empêche le rappel d'une mémoire spatiale ancienne (quelques semaines) sans affecter l'apprentissage ou le rappel d'une mémoire spatiale récente (quelques jours) chez le Rat. Ainsi, ces noyaux ReRh sont spécifiquement impliqués dans la persistance d'un souvenir spatial, mécanisme qui nécessite une interaction entre l'hippocampe et le cortex, en particulier le cortex préfrontal médian (Frankland et Bontempi, 2005; Loureiro et coll., 2012). Ces données sont en accord avec les études anatomo-fonctionnelles montrant que les noyaux ReRh sont en réalité un relai essentiel pour le transfert de l'information entre ces deux structures, contribuant ainsi à un circuit hippocampo-cortico-thalamique qui sous-tend le processus de la mémoire spatiale ancienne (rev. Cassel et coll., 2013).

Chez les rongeurs, l'environnement enrichi (EE) a été proposé comme un moyen préventif ou thérapeutique pour restaurer ou atténuer les déficits cognitifs et comportementaux dans des modèles pathologiques et/ou lésionnels, ainsi que dans le vieillissement (ex : Jacqmain et

1. Introduction

coll., 2014; rev. Alwis et Rajan, 2014). En effet, la possibilité d'une restauration fonctionnelle en utilisant différents facteurs environnementaux est souvent basée sur les capacités d'adaptation fonctionnelle et structurelle du cerveau à la suite de nouvelles stimulations. Donald Hebb a découvert en 1949 l'influence de la stimulation environnementale et de l'expérience sur la plasticité neuronale. Depuis lors, de nombreuses études effectuées chez l'animal intact ou avec une lésion cérébrale ont montré que l'EE provoque des modifications neuronales à différents niveaux (moléculaires, synaptiques et morphologiques), et que ces modifications seraient à l'origine de changements dans le fonctionnement neuronal et *in fine* comportemental de l'animal, notamment dans l'apprentissage et la mémoire. Ainsi, les précédentes études ont souligné de nombreux effets positifs de l'EE sur l'activité locomotrice, l'anxiété, le stress, la réaction à la nouveauté, l'apprentissage et différents types de mémoire spatiale et non-spatiale (rev. Simpson et Kelly, 2011). Ces conséquences bénéfiques de l'EE au niveau neuronal et comportemental en font un outil thérapeutique potentiel pour traiter des troubles de la mémoire associés à une lésion cérébrale, ainsi que pour agir sur les conséquences cognitives du vieillissement normal et pathologique. Par exemple, dans un modèle d'amnésie diencephalique provoquée par une lésion du thalamus antérieur chez le Rat, Loukavenko et coll. (2007) ont montré que l'élevage dans un environnement enrichi pendant 30 jours, que celui-ci soit démarré immédiatement après l'opération chirurgicale ou 40 jours plus tard, a réduit le déficit de mémoire spatiale de travail que les auteurs avaient observé chez les rats lésés élevés en conditions standards. Un tel effet bénéfique pourrait également être étudié dans d'autres modèles d'amnésie diencephalique, comme celui d'une lésion des noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus (noyaux ReRh).

1.2. Objectifs de la thèse

Bien que plusieurs études aient montré les effets bénéfiques de l'EE sur les capacités mnésiques chez les rats intacts ou lésés, et ce dans un modèle d'amnésie diencephalique, aucune étude n'a, à ce jour, évalué l'influence de l'EE sur la capacité de mémoire spatiale à long terme après lésion des noyaux ReRh chez le Rat. Mon travail de thèse s'est intéressé en premier lieu à étudier cette possibilité de restaurer la capacité de mémoire à long terme altérée par l'atteinte des noyaux ReRh, en exposant les rats à un élevage en milieu enrichi pendant une période post-opératoire de 40j. La piscine de Morris est le principal test utilisé dans ce travail. Nous avons complété ce test en nous aidant également d'autres mesures comportementales non-mnésiques (l'anxiété et l'activité locomotrice). Ces mesures complémentaires ont été faites dans le but d'exclure une incidence de biais non cognitifs sur

1. Introduction

les performances observées. En second lieu, une fois cet aspect comportemental validé, mon travail de thèse s'est intéressé à caractériser les conséquences de cet élevage (EE) au niveau fonctionnel, tout d'abord dans des structures d'intérêt prioritaire (à savoir le mPFC et l'hip), mais aussi dans d'autres structures cérébrales qui pourraient, elles aussi, intervenir dans ce processus de récupération d'une mémoire spatiale à long terme. À cette fin, un marqueur de l'activité neuronale (le niveau d'expression de la protéine c-Fos) a été utilisé. De plus, comme le stress peut influencer la performance comportementale des rats dans la piscine de Morris, je me suis intéressé à vérifier les modulations d'une hormone de stress (la corticostérone) chez des rats en conditions basales (rats Sham vs. lésés restés dans leurs cages d'élevage) et en conditions de rappel d'une mémoire spatiale ancienne.

1.3. Structure de la thèse

La première partie de cette thèse intitulée 'Contexte Scientifique' consiste en 6 chapitres. Dans les 3 premiers chapitres, j'ai abordé les concepts généraux de la mémoire, notamment la mémoire spatiale et les processus de consolidation mnésique au niveau des systèmes, ainsi que les aspects théoriques et les substrats neuronaux impliqués. Dans le 4^{ème} chapitre, j'ai repris les différentes preuves cliniques (chez l'Homme) et expérimentales (dans des modèles animaux) de l'implication des noyaux thalamiques dans différents processus mnésiques. Le chapitre 5 est focalisé plus spécifiquement sur les noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus présentés à différents niveaux (neuroanatomique, électrophysiologique, et fonctionnel), en détaillant leur implication dans divers processus mnésiques, notamment dans la consolidation des souvenirs spatiaux. Cette 1^{ère} partie se termine par un chapitre intitulé « Environnement enrichi et récupération fonctionnelle », chapitre dans lequel est abordé un certain nombre de généralités sur l'environnement enrichi et des données récentes sur son influence sur de nombreuses mesures comportementales, notamment celles utilisés dans ce projet de thèse, ainsi que sur des aspects neuronaux et biochimiques. La question de l'utilisation de l'enrichissement environnemental comme outil thérapeutique après une atteinte cérébrale y est également abordée. La deuxième partie de la thèse, intitulée 'Matériels et méthodes', comprend une description de l'ensemble des expériences effectuées. Les résultats de ma thèse sont présentés dans la 3^{ème} partie, 'Contribution Expérimentale', sous la forme d'un manuscrit. Enfin, la dernière partie consiste en une discussion générale des résultats obtenus, suivie par les conclusions et les perspectives ouvertes par cette thèse.

2. Contexte Scientifique

Chapitre 1 : Systèmes de mémoire

Chapitre 1 : Systèmes de mémoire

1.1. Définition de la mémoire

La mémoire peut être définie comme une fonction cérébrale permettant à un sujet de conserver certaines informations collectées dans les situations qu'il rencontre et de les restituer ultérieurement. La mémoire permet ainsi de rappeler les expériences passées pour gérer les éventuels problèmes trouvés dans différentes situations environnementales. « *La mémoire du passé n'est pas faite pour se souvenir du passé, elle est faite pour prévenir le futur. La mémoire est un instrument de prédiction* » (Alain Berthoz). Avec cette conception, la mémoire n'est pas un système unitaire : elle se compose de plusieurs processus mnésiques relevant de trois étapes principales. La première étape est la phase d'acquisition qui permet de recueillir et d'encoder les stimuli détectés par les différentes modalités sensorielles. Les informations seront ensuite transférées et transformées en une représentation mentale qui peut être mémorisée sous la forme d'une trace mnésique. On parle aussi d'encodage. La conservation des informations acquises dans les différentes structures cérébrales correspond à la phase de consolidation et de stockage, une phase pouvant s'étaler sur plusieurs décennies. Enfin, la restitution de ces représentations mnésiques stockées correspond à la phase de rappel (on trouve aussi les vocables de recouvrement, récupération, ou anamnèse, voire réminiscence dans un périmètre plus philosophique).

La mémoire peut être considérée comme un ensemble de processus multiforme dont plusieurs types de classifications sont décrits dans la littérature. Cette diversité est due à une variété des systèmes de mémoire traitant des informations différentes à plusieurs niveaux spatio-temporels. Sherry et Schacter (1987) ont défini l'expression de « système de mémoire » comme « *l'interaction entre les mécanismes d'acquisition, de rétention et de récupération, caractérisés par certaines règles opératoires, 2 systèmes (ou plus) se caractérisent par des règles fondamentalement différentes* ». La subdivision de la mémoire en plusieurs types ou systèmes s'appuie sur les observations des conséquences de lésions cérébrales, observations ayant montré des associations plus ou moins sélectives entre des zones cérébrales touchées et la perturbation de certains processus mnésiques. Ainsi, la première catégorisation de systèmes de mémoire – on parle aussi de taxinomie – est le **modèle modal** décrit par Atkinson et Shiffrin en 1968 (Figure 1). Celui-ci subdivise la mémoire en fonction de la durée du souvenir (aspect temporel) en trois systèmes : un registre sensoriel, une mémoire à court terme, et une mémoire à long terme. Mais, il existe d'autres critères de classifications de la mémoire,

comme la capacité ou non à verbaliser un souvenir qui conduit à deux grands systèmes : l'un déclaratif (littéralement : que l'on peut verbaliser), l'autre non-déclaratif. On peut aussi distinguer les mémoires selon qu'elles font intervenir la conscience lors de la récupération de la trace mnésique, ou non. On parlera alors de mémoire explicite qu'on différenciera d'une mémoire implicite. De ce fait, les deux derniers critères de classification de la mémoire ne sont pas compatibles avec des modèles animaux, les capacités cognitives de ces derniers étant réduites en comparaison de celles de l'Homme, et la question de la conscience des animaux étant toujours débattue. Ces différents systèmes de mémoire seront détaillés dans les paragraphes suivants.

1.2. Mémoire à court-terme et à long-terme

Il y a longtemps que William James, dans l'ouvrage intitulé '*Principles of Psychology*' (1890), a distingué ce qu'il appelle la mémoire primaire de la mémoire secondaire. Cette mémoire primaire est capable de retenir un petit nombre d'informations, immédiatement présentes à l'esprit, et pouvant en disparaître rapidement. Au contraire, la mémoire secondaire contient un nombre pratiquement illimité de connaissances qui nécessitent cependant un effort pour être rappelées et qui peuvent être conservées durablement. Au début du XX^{ème} siècle, avec le développement de la psychologie cognitive, de nombreux résultats expérimentaux sur la mémoire humaine ont amené Atkinson et Shiffrin (1968) à proposer leur modèle modal de la mémoire. Dans ce modèle, l'information (ou stimulus) apportée de l'extérieur par les sens peut être maintenue rapidement sous la forme d'un registre sensoriel, où l'information est gardée pendant quelques millisecondes. L'information stockée/traitée par le registre sensoriel passe ensuite dans un registre à court terme; c'est la mémoire à court terme (MCT). La durée de ce stockage mnésique est très courte, moins d'une minute, et la MCT contient un nombre limité d'éléments sous forme verbale. Selon ce modèle, le passage de l'information sensorielle dans la MCT n'est pas automatique, mais nécessite un effort mental ou une focalisation attentionnelle, comme lorsque nous suivons les indications dans la rue pour nous repérer. Pour que les informations soient stockées de manière permanente, un transfert se fait de la MCT à la mémoire à long terme (MLT). Cette dernière a une capacité illimitée pour stocker les éléments sous forme sémantique selon le modèle d'Atkinson et Shiffrin (1968). En effet, la probabilité de mémorisation à long terme dépend, selon ce modèle, de la répétition de l'information et du temps passé dans la MCT. Dans la MCT, le souvenir sera effacé au-delà

de 30 secondes (sec) environ. Toute représentation dont le maintien est inférieur à 30 sec ne pourrait donc pas passer dans la MLT.

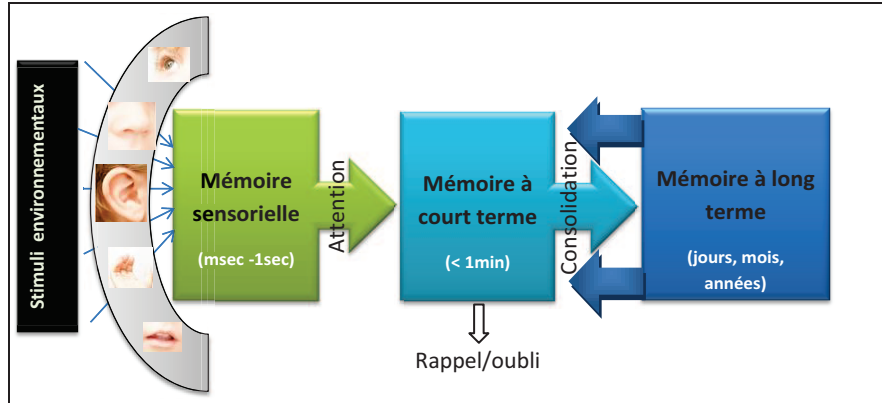


Figure 1 : Le modèle modal de la mémoire humaine proposé par Atkinson et Shiffrin (1968). L'information, en provenance de l'environnement, est encodée dans le registre sensoriel qui appartient au système perceptif. Elle est ensuite transférée dans un registre de stockage à court terme, de capacité limitée, pour une durée maximale de 1 min. Puis elle est transférée vers la mémoire à long terme, dont la capacité est considérée comme illimitée

La capacité limitée de la mémoire à court terme dans ce modèle a été illustrée auparavant par George Miller (1956) dans son article *'The Magical Number Seven, Plus or Minus Two'*. Miller a conclu que pendant environ 30 secondes, près de sept (plus ou moins deux) éléments d'informations (items) peuvent être maintenus dans le registre de stockage à court terme. Cette capacité est appelée empan mnésique (le mot « empan » définit la distance entre le bout du pouce et celui de l'index lorsque la main est ouverte). Un autre élément en faveur du modèle d'Atkinson et Shiffrin est l'effet de récence et de primauté. Dans une épreuve de rappel verbal (ou rappel libre), les participants doivent réciter les mots présentés dans une liste (15 mots à raison d'un mot toutes les 3 sec) selon l'ordre qu'ils souhaitent (Glanzer et Cunitz, 1966; Postman et Phillips, 1965). Les auteurs ont montré que les premiers (effet de primauté) et les derniers mots (effet de récence) de la liste ont le plus de chance d'être rappelés, tandis que peu de sujets se souviennent des mots du milieu de la liste (Figure 2). Quand le rappel a lieu après un délai de 15 ou 30 secondes (après la présentation du dernier item de la liste), seuls les éléments du début de la liste ont une forte probabilité d'être rappelés.

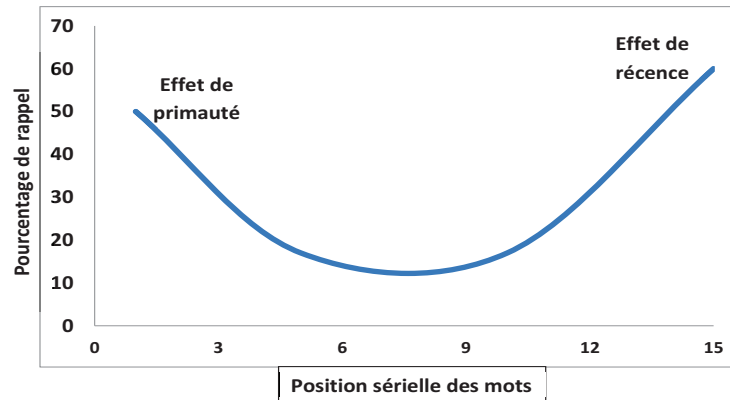


Figure 2 : Effet de primauté et de récence d'après Miller (1956).

Les auteurs ont présenté une preuve d'existence d'une mémoire à court terme responsable de l'effet de récence, alors que le début de la liste serait rappelé à partir de la mémoire dit à long terme (effet de primauté), c'est-à-dire encore disponible après 30 sec. La fin de la liste serait stockée en mémoire à court terme et disparaîtrait rapidement après la présentation. Cependant, ce modèle présente certaines limites. Il y a certains cas où la MCT est endommagée tandis que la MLT ne l'est pas. Par exemple, le patient KF, qui présente une lésion cérébrale et un empan à court terme déficitaire (limité à deux ou trois éléments et insensible à l'effet de récence), a des capacités d'apprentissage à long terme qui semblent normales (effet de primauté normal, Shallice et Warrington, 1970). Ce cas n'est pas en accord avec le modèle sériel le plus simple d'Atkinson et Shiffrin qui suppose un passage unique et obligatoire de l'information de la MCT à la MLT. De plus, dans ce dernier modèle, la durée et la répétition de l'information dans la MCT permettent de la stocker de façon plus permanente dans la MLT, mais l'information peut être maintenue dans la MCT plus longtemps que ce qu'il a été suggéré dans le modèle (< 30 sec). Qui plus est, cela dépend de la modalité de l'information traitée dans le registre sensoriel (Posner et Konick, 1966). Une autre critique de ce modèle concerne le fait que la répétition n'est pas essentielle pour transférer l'information à la MLT. En effet, nous sommes capables de nous rappeler des informations que nous ne nous répétons pas. Enfin, le modèle d'Atkinson et Shiffrin est composé de 3 systèmes seulement et il ne prend pas en compte l'existence de différents systèmes de mémoire à long terme, identifiés et individualisés ultérieurement, comme la mémoire épisodique (souvenirs d'événements personnels), la mémoire sémantique (connaissances générales) et la mémoire procédurale (comment faire les choses). En plus, aucune proposition de localisation neuro-anatomique, même distribuée, pour chaque système de mémoire n'a été émise par Atkinson et Shiffrin.

1.3. Mémoire de travail

Cette conception de la mémoire a été développée d'après les limites associées au modèle d'Atkinson et Shiffrin pour décrire la mémoire à court terme. L'une de ces limites est la capacité de 7 ± 2 items que peut retenir la mémoire à court terme. Or, cette mémoire peut maintenir plus de 7 éléments en les regroupant en un seul élément (Ericsson et Kintsch, 1995). De plus, Watkins a montré en 1975 que le nombre d'éléments maintenu dans la MCT peut être augmenté quand ils sont répétitifs et souvent utilisés (Watkins, 1975). Certains chercheurs ont aussi proposé la possibilité de traiter les informations dans la MCT en parallèle, contrairement au modèle sériel d'Atkinson et Shiffrin. Cette suggestion était basée sur les résultats du test de rappel libre chez des patients amnésiques présentant un effet de récence normal, alors que l'effet de primauté était déficitaire, ou inversement, ce qui contredit le passage unique et sériel d'informations dans le modèle modal d'Atkinson et Shiffrin (Baddeley et Warrington, 1970; Shallice et Warrington, 1970). La mémoire de travail concerne donc le maintien temporaire et la manipulation des informations pendant la réalisation d'une série de tâches cognitives (par exemple, lire et écrire en même temps ce qu'on lit). La mémoire de travail intervient aussi dans des activités diverses comme la résolution de problèmes, la compréhension ou le développement du langage. Alan Baddeley a proposé un modèle de mémoire de travail composé de plusieurs systèmes (Figure 3) : *i*) un système exécutif où le "processeur central" contrôle les autres systèmes par un mécanisme attentionnel, *ii*) et deux systèmes auxiliaires "esclaves". L'un d'eux est spécialisé dans le traitement du système linguistique (boucle phonologique ou articulatoire) et un autre dans le traitement de l'information visuo-spatiale (Baddeley et Sala, 1996). Plus récemment, Baddeley a ajouté à son modèle un quatrième système : c'est le tampon (ou *buffer*) épisodique, un système au sein duquel l'administrateur central peut relier les informations multimodales issues des systèmes auxiliaires et de la mémoire à long terme, dans une représentation épisodique unitaire (Baddeley, 2000). Selon Cowan (1988), la mémoire de travail n'est que la partie la plus activée de la mémoire à long terme, et qui correspond à ce qu'il a appelé 'la focalisation attentionnelle'. Cowan a traité la mémoire de travail du point de vue unitaire en représentant différents modules fonctionnels, contrairement à Baddeley qui a structuré la mémoire de travail en différents systèmes spécifiques (Cowan, 1988).

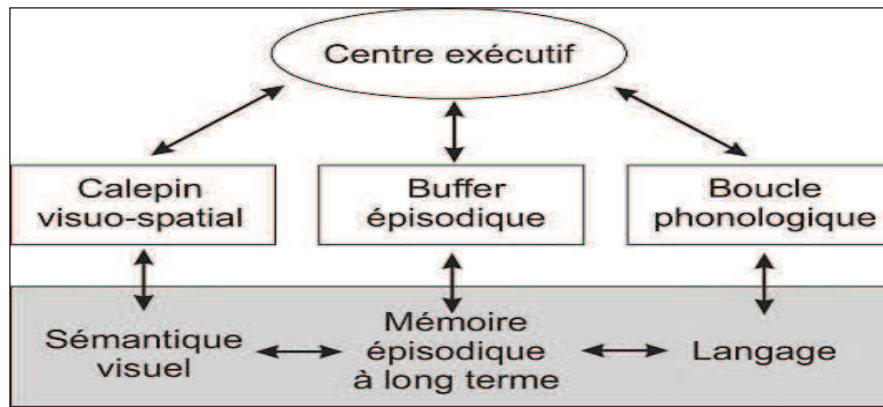


Figure 3 : Modèle de mémoire de travail de Baddeley tel que réévalué en 2000.

1.4. Mémoire déclarative et non-déclarative

Quand on parle de la mémoire à long terme, on désigne les souvenirs stockés de manière durable et qui peuvent être retenus à tout moment dans notre vie. En parallèle, la mémoire à long terme peut être décrite en considérant d'autres critères que la durée; l'une de ces distinctions est notre capacité ou non à exprimer verbalement le contenu d'un souvenir (mémoire déclarative et non-déclarative; Figure 4), qui s'appuie aussi sur la notion de conscience (mémoire consciente/explicite et mémoire inconsciente/implicite, Lorsbach et Worman, 1989; rev. Squire et Dede, 2015). La mémoire déclarative ou explicite concerne alors le stockage et la récupération de données qui peuvent émerger à la conscience et être exprimées par le langage (Schacter et coll., 1993); elle se compose de deux sous-systèmes : la mémoire déclarative sémantique et la mémoire déclarative épisodique (Tulving, 1972). La mémoire sémantique est la mémoire des connaissances générales, comme par exemple la connaissance du sens des mots, le nom du père ou de la mère, les capitales du monde...etc. La mémoire épisodique concerne une mémoire autobiographique par laquelle on se souvient des événements personnellement vécus avec leur contexte spatio-temporel et émotionnel (date, lieu, état émotionnel).

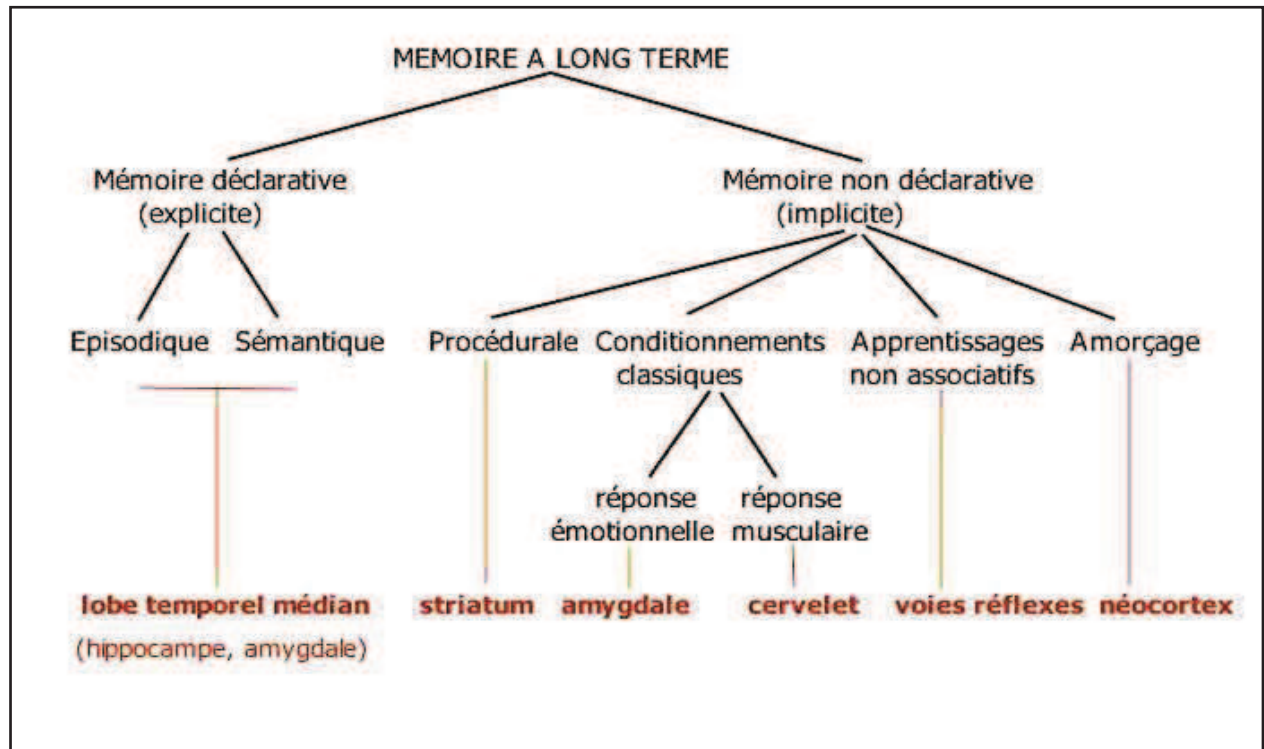


Figure 4 : Système de MLT et les sous-systèmes avec les structures cérébrales impliquées (d'après Squire, 2004).

La mémoire non-déclarative/implicite n'est pas accessible dans les détails à la conscience et fait référence à un rappel non-conscient des informations et des expériences passées (Squire, 2004). Cette mémoire consiste en différents types : la mémoire procédurale qui désigne des savoir-faire, comme exécuter une séquence de gestes ou d'actions de manière automatique sans avoir besoin de réfléchir (ex : rouler à vélo ou taper sur le clavier d'un ordinateur). L'amorçage, ou priming, est un autre type de mémoire implicite où le traitement d'un stimulus est facilité par le traitement antérieur de stimuli sémantiquement liés ou pertinents, comme lorsqu'on demande à un sujet de citer une couleur le plus rapidement possible après la présentation d'un mot. Si on lui montre le mot "*Citron*", la probabilité que le sujet cite la couleur "*Jaune*" est plus forte que si on lui avait montré un mot neutre par rapport à la couleur (par ex., « vitre »). Le conditionnement classique (ou apprentissage associatif) est une réponse spontanée qui se fait sans contrôle conscient quand l'organisme est exposé à un stimulus environnemental relié à cette réponse. Prenons, par exemple, le chien de Pavlov exposé au son d'une cloche en même temps qu'à la présentation d'un repas qui entraîne spontanément un réflexe de salivation. Au bout de quelques jours, il va saliver (réponse conditionnelle) dès qu'il entendra le son de la cloche (stimulus conditionné) sans qu'il soit nécessaire de présenter

le repas. Enfin, il convient encore de citer les apprentissages non associatifs, qui utilisent les voies des réflexes et comportent 3 types d'apprentissage : la diminution d'une réponse à la présentation répétée d'un stimulus au cours du temps fait référence au phénomène d'habituation, l'augmentation de la réponse relève d'un phénomène de sensibilisation, et le phénomène d'empreinte correspond au fait qu'un organisme, pendant une période sensible, va apprendre à affiner ses préférences (sociales, sexuelles...); ce dernier comportement a été décrit par l'éthologue Konrad Lorenz à partir de ses expériences avec les oies (en 1935) qui l'ont rendu célèbre.

En effet, la distinction entre ces différents systèmes de mémoire et les contributions neuro-anatomiques et fonctionnelles de chacun dérivent de données cliniques obtenues chez des patients amnésiques ayant des lésions cérébrales spécifiques. La taxonomie de ces différentes formes de MLT et leurs substrats neuro-anatomiques ont été proposés, documentés et argumentés par Larry Squire en 2004 (Figure 4). Cette classification de la mémoire chez l'Homme étant dépendante de l'intervention ou non de la conscience ou de la verbalisation du souvenir, il apparaît très difficile de l'appliquer à un modèle animal visant à mieux comprendre ces distinctions fonctionnelles et structurales de la mémoire décrite précédemment. Cependant, de nombreuses études menées sur des modèles animaux ont été effectuées sur certains types de mémoires, notamment la mémoire spatiale (considérée comme du type épisodique), dont il sera question plus en détails ultérieurement.

Chapitre 2 : Consolidation du souvenir

Chapitre 2 : Consolidation du souvenir

2.1. Concept de consolidation de la mémoire

Le processus de consolidation a été proposé sur la base des données cliniques obtenues chez des patients amnésiques. Les premières observations remontent à 1882 et sont synthétisées en termes de principe dans la loi de Ribot. Celle-ci propose que toute détérioration mnésique issue d'une lésion cérébrale puisse affecter de manière graduelle les souvenirs les plus récents puis les souvenirs les plus anciens, posant ainsi l'idée d'un gradient temporel dans l'amnésie rétrograde : « *La destruction progressive de la mémoire suit donc une marche logique, une loi. Elle descend progressivement de l'instable au stable* » (Ribot, 1882). En 1900, Müller et Pilzecker ont mentionné pour la première fois le terme de « consolidation » suite aux résultats d'une épreuve de rappel verbal chez des sujets normaux. Ces auteurs ont montré l'importance de l'intervalle de temps post-acquisition avant l'apprentissage d'une nouvelle information : il faut que les informations qui sont en cours de traitement soient fixées de manière stable et efficace pour qu'un nouvel apprentissage n'en altère pas la consolidation (cité par Lechner et coll., 1999). Burnham, en 1903, a décrit la formation de la mémoire et la consolidation comme un processus psychologique de répétitions et d'associations dépendant du temps. Il a inclus également une autre forme de réorganisation « physique » pour fixer les impressions mnésiques nouvellement acquises avant que celles-ci ne soient intégrées dans une mémoire permanente (Burnham, 1903). En effet, les dernières descriptions de la consolidation de la mémoire adaptées de Burnham 1903 ont amené à distinguer entre deux types de consolidation : la consolidation synaptique (à l'échelle des cellules) et la consolidation systémique (à l'échelle des structures cérébrales). Dudai, en 1989, a défini la consolidation d'un souvenir comme une phase de mémoire à long terme pendant laquelle la stabilisation progressive post-acquisition des représentations mnésiques aurait lieu (rev. Dudai, 1996, 2004). Actuellement, le terme de consolidation renvoie à une étape importante du transfert d'une mémoire fragile et limitée dans le temps (récente) vers une mémoire durable, plus stabilisée et moins sensible aux interférences (ancienne). La distinction entre les deux types de consolidation (synaptique et systémique) sera abordée dans le prochain paragraphe.

2.2. Consolidation synaptique et systémique

La **consolidation synaptique** existe dans de nombreuses espèces animales. C'est un processus qui se déroule au sein des neurones (cellulaire, local); il est relativement court, survenant pendant les premières minutes qui suivent la stimulation environnementale. Cette consolidation est déterminée par la synthèse des certaines protéines essentielles pour la consolidation de la mémoire. La consolidation synaptique conduit à des modifications et des réorganisations fonctionnelles dans les réseaux neuronaux de certaines régions cérébrales impliquées dans l'encodage et le stockage d'une trace mnésique après la phase d'acquisition (Sweatt, 2003). Ce concept de la consolidation synaptique a été développé à partir des premières idées de Donald Hebb qui, en 1945, a proposé que la trace mnésique existe sous deux formes : labile et stable. La première, (qui relève de la MCT), correspond à des activités des réseaux neuronaux dans lesquels l'efficacité de la transmission synaptique peut être renforcée ou affaiblie en fonction de la répétition des stimulations présynaptiques qui induirait au cours du temps une modification et réorganisation neuronales résultant en une forme plus stable de la trace mnésique (Hebb, 1949; rev. Dudai, 2004). Ainsi, ce processus aboutit tardivement à la formation d'une mémoire qui peut durer des jours, des mois, voire plusieurs années (consolidation au sein des systèmes).

En effet, la durée de la consolidation synaptique montrée précédemment peut se poursuivre au-delà de quelques heures pour la formation d'une mémoire à long terme qui doit durer plus de 24h (Dudai, 2004). Dans ce concept, le processus de consolidation synaptique se réfère parfois à la consolidation à court terme. Une exception de cette extension temporelle de la consolidation synaptique se retrouve dans la potentialisation à long terme (LTP), l'une des formes les mieux comprises de la plasticité synaptique dans laquelle une heure est déjà considérée comme un phénomène à long terme (rev. Dudai, 2004). En effet, la LTP est considérée comme un processus sous-tendant la consolidation synaptique qui sous-tend à son tour l'apprentissage et la mémoire (Bliss et Collingridge, 1993). Actuellement, des auteurs ont souligné l'importance de l'activation et l'expression des facteurs de transcription synaptique et de gènes précoces, ainsi que le remodelage synaptique et la croissance dendritique dans le processus de consolidation synaptique et la formation de la mémoire à long terme (Bramham et Messaoudi, 2005; Dudai, 2004; Rosenberg et coll., 2014). Nous n'irons pas plus loin dans cette partie de la consolidation synaptique, car nous nous intéressons dans ce travail à la consolidation systémique et les structures cérébrales qui les sous-tendent.

En comparaison avec la consolidation synaptique, la **consolidation systémique** a lieu sur une période plus longue et conduit à la formation d'un souvenir stabilisé dans le temps (qui durera des mois, des années, voire plusieurs décennies; Dudai et Morris, 2000). Le processus de consolidation au niveau des systèmes se déroule au sein de structures cérébrales spécifiques impliquées dans les différentes opérations mnésiques. Ce sont des études neuropsychologiques de patients ayant des amnésies rétrogrades temporellement graduées qui ont mis en évidence le concept de la consolidation de la mémoire au niveau des systèmes. Le cas le plus célèbre dans la littérature est celui du patient H.M (Henry Gustav Molaison); ce patient souffrait d'une épilepsie avancée (Figure 5). Afin de soulager ses crises épileptiques, H.M. a subi une opération chirurgicale expérimentale consistant à lui retirer bilatéralement une large portion médiane des deux hippocampes et des tissus environnants des lobes temporaux. Après son réveil, H.M a présenté un déficit de rappel des événements précédant l'opération chirurgicale alors que ses souvenirs concernant la période de son enfance restaient intacts, ce qu'on appelle l'amnésie rétrograde (Scoville et Milner, 1957). Ce type d'amnésie rétrograde temporellement graduée confirme la loi de Ribot se référant à la graduation progressive de la perte des souvenirs, à partir des plus récents jusqu'aux plus anciens. De telles observations attestent de l'existence de deux systèmes fonctionnellement distincts de mémoire. De plus, dans le cas d'H.M, la lésion cérébrale provoquant cette amnésie graduelle était localisée dans le lobe temporal médian, ce qui suggère une dissociation neuroanatomique des systèmes de mémoires impliqués dans la consolidation systémique, car les souvenirs les plus anciens ont été conservés hors des structures retirées lors de cette opération.

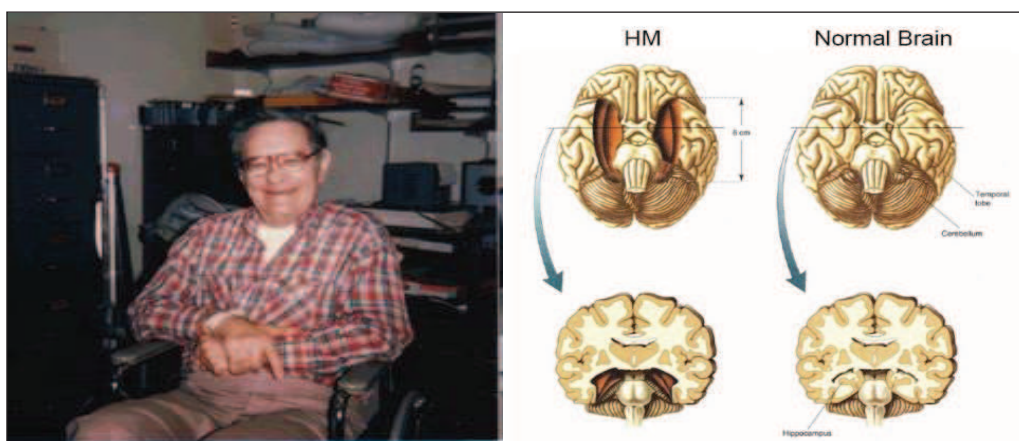


Figure 5 : A) Photo de H.M à l'âge de 60 ans adaptée de <http://www.psychologytoday.com> **B)** Représentation du cerveau d'H.M et de la localisation de la zone temporale médiane retirée lors de l'intervention chirurgicale (zone rouge à gauche) en comparaison avec un cerveau normal à droite. Image adaptée de <http://la-memoire-tpe.e-monsite.com>.

En plus de son amnésie rétrograde, le patient H.M était aussi incapable de former de nouveaux souvenirs, en particulier de type épisodique (amnésie antérograde), ce qui a clairement démontré que le lobe temporal médian est essentiel à l'acquisition de nouvelles informations. La conservation de sa capacité à récupérer les souvenirs plus lointains (relatifs à des événements vécus avant la chirurgie) indique que le lobe temporal médian n'est pas le site du stockage définitif des souvenirs anciens. Ainsi, le lobe temporal médian joue un rôle primordial dans le processus de formation de la mémoire récente et dans la consolidation à long terme. Ces observations sont compatibles avec l'idée que la consolidation systémique implique une réorganisation temporelle des traces mnésiques au sein de systèmes de mémoire distincts, dans lesquels la mémoire récente, encodée initialement dans l'hippocampe, se transfère progressivement à la mémoire ancienne située hors de cette région cérébrale (néocortex).

En effet, la fenêtre temporelle touchée par l'amnésie rétrograde du patient H.M s'étend jusqu'à onze ans (Corkin, 2002). Cette étendue temporelle a été expliquée par l'ampleur de la lésion qui, en plus de l'hippocampe, touche d'autres régions comme l'amygdale et le cortex entorhinal. Le fait que ces deux régions aient également été endommagées peut avoir contribué à cette amnésie (Scoville et Milner, 1957). Plusieurs facteurs peuvent déterminer l'étendue rétrograde de l'amnésie. Premièrement, des études menées chez des patients souffrant de maladies neurologiques touchant des régions similaires ont démontré que le degré et l'étendue de l'amnésie sont associés à la localisation et à l'étendue de la lésion dans le lobe temporal médian (rev. Frankland et Bontempi, 2005; Squire et coll. 1995). Par exemple, des études neuropsychologiques et post-mortem chez des patients ayant des lésions limitées à la formation hippocampique montrent que ceux-ci présentaient une amnésie rétrograde couvrant plus ou moins de 15 ans en fonction de la lésion (Rempel-Clower et coll., 1996). En revanche, dans le cas où les dommages s'étendaient au-delà de la formation hippocampique et du lobe temporal médian, une amnésie rétrograde couvrant toute la vie (dit '*flat*') peut alors être observée, notamment parce des sites de stockage de mémoire permanente auraient également été touchés. Deuxièmement, la sévérité de l'amnésie rétrograde peut aussi être fonction du type de mémoire, et particulièrement toucher la mémoire déclarative, une catégorie de mémoire évaluée dans la plupart de ces cas cliniques. Par exemple, bien que des souvenirs éloignés puissent être conservés chez des patients avec des dommages du lobe temporal médian, ils peuvent ne pas être convoqués avec un niveau de précision ou de détails semblable à celui qui les caractérise chez des individus intacts.

L'étendue de l'amnésie peut donc dépendre du registre mnésique concerné, la mémoire sémantique, plutôt générale, pouvant être mieux préservé que la mémoire épisodique, qui inclut des détails contextuels et spatiaux. Qui plus est, les sites de de consolidation définitive des souvenirs dans chacun de ces registres seraient également différents (Frankland et Bontempi, 2005; Moscovitch et coll., 2006). Enfin, chez des modèles animaux avec des lésions limitées à la formation hippocampique, de nombreuses expériences ont été réalisées pour essayer de comprendre ce gradient amnésique. Elles ont cherché à déterminer les contributions de chacune des sous-régions hippocampiques, mais aussi celles d'autres régions cérébrales (ex : néocortex), dans le processus de la formation et de la consolidation des souvenirs (Winocur et coll., 2010).

2.3. Théorie standard de la consolidation au niveau des systèmes

Parmi les théories proposées pour décrire le processus de consolidation de la mémoire au niveau des systèmes, c'est la théorie dite standard qui a été formulée en premier lieu, notamment à partir de nombreuses études effectuées sur l'amnésie rétrograde temporellement graduée chez l'Homme, mais aussi grâce à des expériences menées sur des modèles animaux (Squire et coll., 1995). La plupart de ces études considèrent l'hippocampe comme le site initial de stockage des informations nouvellement acquises, alors que le stockage permanent des souvenirs se fait dans des structures extra-hippocampiques (vraisemblablement le néocortex; Roediger et coll., 2011; Squire et coll., 1993). C'est dans l'année 1970 que Marr a clairement formulé l'idée d'un transfert des informations nouvellement acquises au sein des réseaux cérébraux. Dans son premier modèle de la consolidation systémique, Marr a postulé que les informations encodées rapidement dans l'hippocampe, dans ce qu'il a appelé la mémoire simple, seraient transférées vers le néocortex pour y subir une réorganisation et une reclassification : ce transfert des représentations mnésiques corticales s'établit suite à des réactivations (ou répétitions) des circuits cérébraux, un phénomène qui intervient pendant le sommeil (Marr, 1970, 1971). Selon cette idée, tout nouvel encodage d'informations au cours d'un apprentissage dépendrait à la fois de réseaux hippocampiques et corticaux (Frankland et Bontempi, 2005). En effet, pendant une période critique, les représentations mnésiques dépendent de réseaux hippocampiques où les souvenirs peuvent être activés soit directement lors d'un rappel explicite, soit pendant le sommeil (ex : processus de réactivation durant l'état d'éveil ou le sommeil). De telles activations contribuent à établir le souvenir au sein de réseaux néocorticaux, par le jeu d'un ajustement incrémentiel de connexions néocorticales qui

construit les représentations corticales indépendantes de l'hippocampe (Frankland et Bontempi., 2005; Dudai, 2004). Ainsi, cette étape semble nécessaire pour que l'hippocampe transfère les informations progressivement au néocortex (Figure 6).

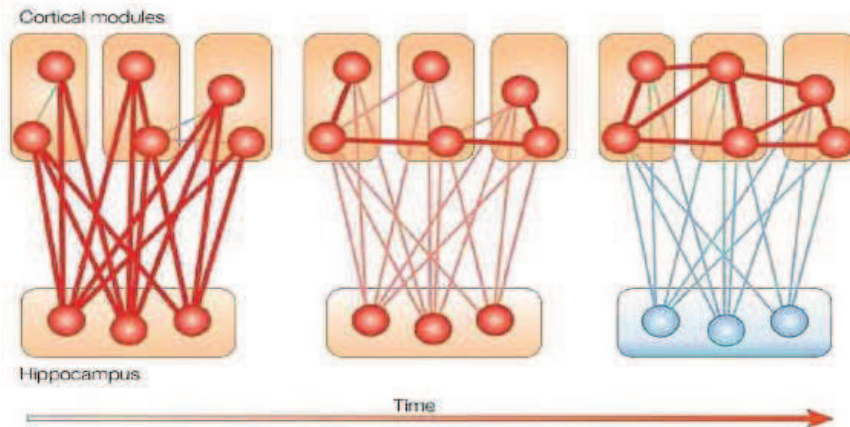


Figure 6 : Théorie Standard de la consolidation proposée par Marr en 1970. (Image extraite de Frankland et Bontempi., 2005). L'encodage de différentes informations perceptives, motrices et cognitives se produit d'abord dans plusieurs aires corticales primaires et associatives. L'hippocampe intègre les informations à partir de ces modules corticaux distribués représentant différentes caractéristiques d'une expérience. L'hippocampe intègre ces éléments en une trace mnésique cohérente. Une réactivation successive de ce réseau hippocampique-cortical conduit à un renforcement progressif des connexions cortico-corticales préexistantes (ou créer de nouvelles connexions). Le renforcement de connexions permet aux souvenirs d'être indépendants de l'hippocampe et intégrés progressivement dans le cortex. Un élément-clé de ce modèle est que les changements dans la force des connexions entre le système de l'hippocampe et les différentes aires corticales sont rapides et transitoires, tandis que les changements dans les connexions cortico-corticales sont lents et durables.

L'hippocampe dans ce modèle de consolidation joue un rôle limité dans la capacité et dans la durée de stockage d'un souvenir. Pour certains auteurs, l'hippocampe réagit comme un index qui se lie aux différentes 'adresses' de stockage extra-hippocampiques pendant une période critique de temps où la communication directe entre ces 'adresses' est insuffisante pour exécuter la récupération d'une trace mnésique (Teyler et Rudy, 2007).

Cependant, la théorie standard de la consolidation systémique a été critiquée du fait que l'amnésie rétrograde observée chez certains cas de patients avec une lésion du lobe temporal médian ou chez des modèles animaux n'est pas toujours temporellement graduée (revues : Nadel et coll., 2007; Squire et coll.varez, 1995). En effet, de nombreux cas d'amnésie rétrograde avec une durée de gradient très variable ou avec l'absence complétée de gradient temporelle ont été rapportés chez des patients présentant des lésions similaires de la formation

hippocampique (rev. Moscovitch et coll., 2005; Warrington, 1996). Ce gradient, par exemple, peut s'étendre jusqu'à une cinquantaine d'années, en cas d'une atteinte complète de lobe temporal médian (Reed et Squire, 1998), ce qui pose la question sur la réalité d'une telle consolidation très longue. De plus, une lésion hippocampique peut produire des amnésies rétrogrades sans graduation (gradient plat) avec une perturbation des mémoires récentes et anciennes de manière similaire, ce qui indiquerait l'implication de l'hippocampe à la fois dans la rétention des souvenirs récents et anciens (Cipolotti et coll., 2001). Enfin, la théorie standard de consolidation de la mémoire ne prend pas en compte les différents types des mémoires qui peuvent être stockés à long terme, et considère la mémoire épisodique et la mémoire sémantique comme un seul processus unique (Moscovitch et coll., 2006; Lynn Nadel et coll., 2007). Ce dernier point, pourrait expliquer les contradictions dans la littérature sur le gradient mnésique et sa corrélation anatomo-fonctionnelle avec des lésions dans l'hippocampe. En effet, la mémoire épisodique et sémantique peuvent être formées et consolidées dans les réseaux hippocampiques et extra-hippocampiques de manière différente (rev. Winocur et coll., 2010).

2.4. Autres théories

Nous avons vu dans le dernier paragraphe que la théorie standard de la consolidation de la mémoire basée sur les observations neuropsychologiques de gradients amnésiques, ne distingue pas les souvenirs épisodiques des souvenirs sémantiques. Des données issues de la neuropsychologie développementale avec les travaux de Vargha-Khadem (1997) ont montré que ces deux types de mémoires ne sont pas consolidés à l'échelle du système de la même manière. Vargha-Khadem et ses collaborateurs ont étudié trois enfants présentant des lésions précoces de l'hippocampe. Ces enfants souffraient d'une amnésie épisodique antérograde et rétrograde massive, n'ayant aucun souvenir d'épisodes de vie, alors que leur mémoire sémantique, en particulier celle des connaissances langagières, était intacte (Vargha-Khadem et coll., 1997). **La théorie de la carte cognitive** a également mis en évidence certaines incohérences dans le gradient mnésique, notamment à partir des tests de mémoire spatiale. Cette théorie repose sur l'association entre une information de nature épisodique et le contexte spatial dans lequel un événement a lieu (Burgess, 2006; O'Keefe et Nadel, 1978). La théorie de la carte cognitive propose que la formation hippocampique soit le substrat anatomique sous-tendant la représentation spatiale allocentrique (ou la carte cognitive) de l'environnement en créant un lien entre les indices environnementaux. Donc, une lésion

hippocampique devrait impacter préférentiellement la mémoire épisodique, et en particulier la mémoire spatiale, plutôt que la mémoire sémantique, ce qui n'était pas pris en compte dans la théorie standard. Nadel et Moscovitch (1997) ont argumenté que l'étendue temporelle du gradient amnésique dépend de plusieurs facteurs comme l'étendue des lésions de l'hippocampe et le type de mémoire testée. Ces auteurs ont noté que lorsque la région atteinte inclut toute la formation hippocampique, le gradient amnésique était très vaste, couvrant une grande partie de la vie, spécifiquement pour les informations autobiographiques (épisodiques), alors que dans le cas d'une lésion partielle de l'hippocampe, l'étendue du gradient amnésique pour les souvenirs autobiographiques n'affectait que les dernières années avant la lésion.

À partir de ces données, **une théorie alternative** à celle de la théorie standard de la consolidation a été proposée par Nadel et Moscovitch en 1997; c'est celle dite **des traces multiples** (Figure 7). Selon cette théorie, les souvenirs sont encodés initialement dans les réseaux hippocampo-corticaux; ce point de vue est en accord avec la théorie standard. Elle propose aussi que toute réactivation d'un souvenir conduit à la genèse de traces multiples dans l'hippocampe, qui sont en même temps associées aux réseaux corticaux. Les traces mnésiques dans l'hippocampe fournissent ainsi un contexte spatial et temporel de l'événement mémorisé, alors que les traces dans le cortex sont de nature sémantique (ou non liée au contexte). Enfin, la récupération des souvenirs épisodiques contextuellement riches dépend toujours de réseaux hippocampo-corticaux, alors que la récupération des anciens souvenirs sémantiques est possible en l'absence d'une contribution fonctionnelle de l'hippocampe (Nadel et Moscovitch, 1997; Nadel et coll., 2000).

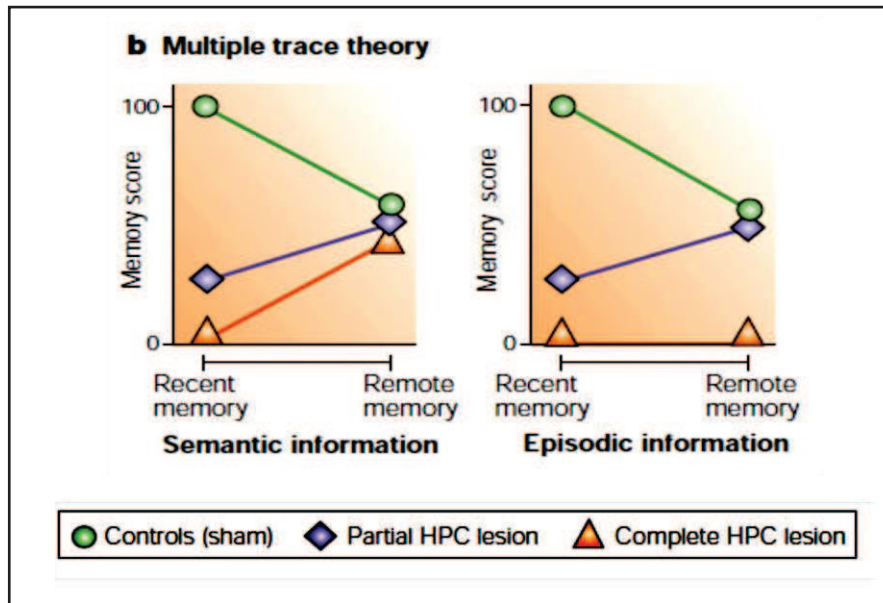


Figure 7 : Théorie des traces multiples de Nadel et Moscovitch en 1997. La figure présente les prédictions théoriques des performances mnésiques en fonction de l'étendue d'une lésion hippocampique, et en fonction du type de mémoire, sémantique (gauche) ou épisodique (droite). (Photo adaptée de Franckland et Bontempi, 2005).

D'autres auteurs ont proposé de réconcilier théorie standard (Squire et coll., 1995) et théorie des traces multiples sous la notion de 'sémantisation' d'une trace mnésique. Initialement riche en détails, la trace perdrait une partie de ceux-ci au cours du temps; il s'agit de **la théorie de la transformation** (Winocur et coll., 2007). En effet, cette théorie de la transformation des traces mnésiques repose sur les données expérimentales du phénomène de généralisation d'un contexte pendant les tests de rappel de la peur. Par exemple, Riccio et ses collaborateurs (1992) ont rapporté avec leur modèle de mémoire que la trace mnésique peut être dégradée après la généralisation de l'information à cause de l'oubli de certains attributs contextuels présents dans l'environnement, suggérant ainsi une transformation de cette trace au cours de temps (Riccio et Joynes, 2007). De nombreuses études expérimentales ont mis en évidence ce phénomène de généralisation pour expliquer comment une trace mnésique riche en détails devient, au cours du temps, plus 'schématique' et possède moins de détails. Par exemple, avec le test de conditionnement de peur chez les souris, si le sujet a été testé dans un contexte différent de celui utilisé pendant l'entraînement, la spécificité de la mémoire contextuelle serait perdue à long terme, conduisant la souris à ne plus distinguer les détails qui lui permettait de différencier le contexte d'un conditionnement de peur d'un contexte différent dans lequel elle sera testée : on parle alors de généralisation (Wiltgen et Silva, 2007). Cette

théorie propose donc que la nature de la trace mnésique peut être modifiée au cours du temps dans le sens d'un appauvrissement. Ainsi, la consolidation systémique pourrait mener à une telle transformation d'une mémoire épisodique récente hippocampo-dépendante, selon la théorie des traces multiples (Nadel et Moscovitch, 1997), à une mémoire ancienne plus 'schématique', et impliquant le cortex pour son rappel (Winocur et coll., 2007, 2010). En résumé, une mémoire initialement épisodique reste dépendante de l'hippocampe tant qu'elle garde des caractéristiques liées à un contexte riche en détails. Au cours du temps, une version schématique de la mémoire originale peut se détacher de l'hippocampe, conservant certaines de ses caractéristiques essentielles, mais perdant de ses détails contextuels. Selon les besoins d'une situation de rappel, le souvenir précis pourrait être rappelé en engageant fonctionnellement l'hippocampe, ou le souvenir plus général pourrait suffire et être évoqué à partir d'un engagement du cortex (Winocur et coll., 2010).

2.5. Implication privilégiée du cortex préfrontal médian dans la consolidation

Nous avons vu précédemment dans les différentes théories de la consolidation, et ce quel que soit le modèle proposé, qu'un dialogue hippocampo-cortical est essentiel pour organiser le stockage et la consolidation, voire la récupération d'un souvenir. Cette récupération nécessite ainsi une activation ou réactivation ultérieure des réseaux hippocampo-corticaux. Cette réactivation conduit à un renforcement progressif des connexions cortico-corticales qui permet la stabilisation d'une trace mnésique corticale. En effet, chez l'Homme, des études d'imagerie fonctionnelle ont permis de proposer une vision plus détaillée de l'organisation de la mémoire au sein de différentes régions corticales, pointant vers une implication privilégiée du cortex préfrontal médian (mPFC) dans la formation et le rappel d'une mémoire à long terme. De manière générale, le mPFC, qui inclut chez l'Homme la partie la plus antérieure du cortex cingulaire, souvent nommée vmPFC, joue un rôle crucial dans les fonctions cognitives supérieures telles que la mémoire, l'attention et la planification comme l'organisation d'une séquence d'actions à accomplir pour atteindre un but précis (rev. Fuster, 2001). De nombreuses études menées sur des modèles animaux ont également montré l'implication du mPFC dans la plasticité comportementale ou le changement de stratégie (ex : Floresco et coll., 2008; Oualian et Gisquet-verrier, 2010; Rich et Shapiro, 2009). Le mPFC comporte chez le rongeur plusieurs sous-régions : le cortex cingulaire antérieur (ACC), le cortex prélimbique (PrL) et le cortex infralimbique (IL). Ces régions sont connectées de manière réciproque aux cortex sensoriels, moteurs et limbiques (Uylings et coll., 2003), et sont donc idéalement

situées pour intégrer et synthétiser l'information provenant de différentes sources (rev. Miller et Cohen, 2001). Pour certains auteurs, cette fonction d'intégration est compatible avec la capacité du mPFC à traiter les souvenirs anciens. Elle pourrait remplir la même fonction que l'hippocampe par rapport à la mémoire récente (Frankland et Bontempi, 2005). En effet, le rôle d'intégration initiale des informations provenant de différents modules corticaux est attribué à l'hippocampe pour former rapidement des représentations mnésiques cohérentes (Ross et Eichenbaum, 2006). Donc, la récupération d'une mémoire récente est liée à une activation fonctionnelle de l'hippocampe et par conséquent l'inactivation réversible ou la lésion de l'hippocampe avant le rappel perturbera ce rappel. De manière similaire, quand les souvenirs sont consolidés au niveau du néocortex, cette fonction intégrative serait attribuée au mPFC après le renforcement des connexions cortico-corticales. Ainsi, pour qu'un souvenir ancien soit retenu, le mPFC serait en mesure de manipuler et organiser les informations de différentes régions corticales, et d'en élaborer la stratégie de récupération tout en « surveillant » le résultat, et ce de façon indépendante de l'hippocampe. En accord avec cette hypothèse, l'inactivation réversible ou la lésion du mPFC affecte le rappel d'un souvenir ancien (Frankland et coll., 2004; Takehara et coll., 2003; Lopez et coll., 2012). De plus, le mPFC pourrait moduler l'activation hippocampique au cours du rappel d'un souvenir ancien et prévenir ainsi un ré-encodage d'une information préexistante dans le cortex; au cas où une nouvelle information vient d'être acquise, un nouvel engagement hippocampique sera alors mis en place pour encoder cette nouvelle information. Ce mécanisme de contrôle cortical pourrait empêcher l'hippocampe d'encoder des informations redondantes, consolidées auparavant dans le cortex préfrontal (pour revue voir Frankland et Bontempi, 2005). Rudy et ses collaborateurs, en 2005, ont proposé une autre hypothèse de l'implication du mPFC dans le rappel d'une mémoire qui s'appuie sur la difficulté de l'accès à une trace mnésique; le cortex serait indispensable à la récupération de traces faibles, mais non de traces fortes, et ce de manière indépendante de l'âge de la trace (Figure 8).

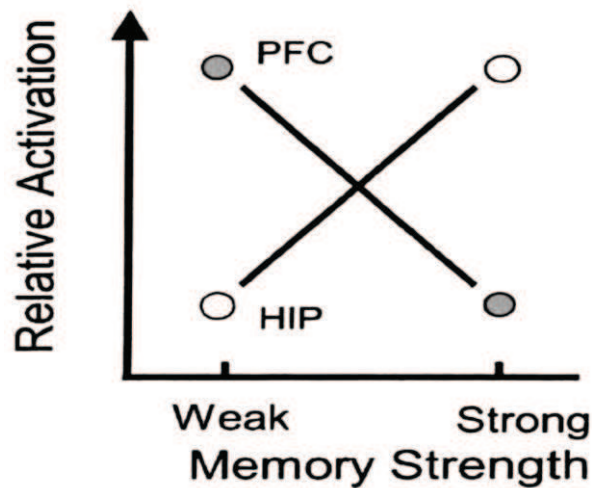


Figure 8 : Prédications de la théorie de Rudy et coll. (2005). Un souvenir fort activera l'hippocampe (HIP) alors qu'un souvenir faible ou dégradé sollicitera le cortex préfrontal (PFC) indépendamment de l'âge du souvenir.

D'après ces auteurs, le mPFC pourrait être activé quand une trace mnésique est faible ou partiellement dégradée. Comme les mémoires anciennes peuvent devenir plus faibles parce que dégradées par des phénomènes d'oubli, notamment de détails, une activation du mPFC serait alors engagée. Par contre, l'hippocampe serait activé tant que la trace mnésique à rappeler est précise, et ceci indépendamment de l'âge de la trace (Rudy et coll., 2005).

Chapitre 3 : Mémoire spatiale

Chapitre 3 : Mémoire spatiale

3.1. Définition de la mémoire spatiale

Nous nous intéressons dans ce chapitre, et surtout dans le cadre expérimental de cette thèse, au cas particulier de la mémoire spatiale. La mémoire spatiale concerne la mémoire des lieux ou des espaces dans lesquels l'individu va encoder, stocker et restituer les informations nécessaires à sa navigation, autrement dit son orientation (Smith et Milner, 1981). La mémoire spatiale existe chez de nombreuses espèces animales dont le Rat. La fonction est utilisée à des fins d'adaptation à un environnement; elle sera sollicitée pour retrouver son chemin, pour rechercher de la nourriture, ou pour retourner à son nid. Les espèces migratrices parcourant de grandes distances sont un cas plus particulier par rapport à cette capacité, car elles ont développé des techniques de navigation spatiale dont les mécanismes restent encore mal compris, mais semblent sensibles à la position des astres et aux pôles magnétiques du globe terrestre.

Chez l'Homme, la mémoire spatiale fournit à la mémoire épisodique un des éléments contextuels majeurs qu'elle intègre (Burgess et coll., 2002). Olton et ses collaborateurs (1979) ont distingué différents types de mémoire spatiale en fonction du traitement des informations. D'après ces chercheurs, **la mémoire spatiale de référence** se définit comme une mémoire dans laquelle l'information a vocation à être consolidée dans l'optique d'être réutilisée autant de fois que nécessaire, dans la même situation que celle de l'entraînement initial. **La mémoire spatiale de travail** est une mémoire à court terme qui assure le traitement temporaire d'une information transitoirement pertinente dans un contexte particulier (Olton et Papas, 1979; Olton, 1979)..

3.2. Différentes stratégies de navigation spatiale

Lorsqu'un individu 'navigue' spatialement dans un environnement, une représentation mentale peut être construite en utilisant deux stratégies différentes : la stratégie allocentrique et la stratégie égocentrique. D'après O'Keefe et Nadel (1978), les informations spatiales de l'environnement peuvent être stockées de manière allocentrique dans une carte cognitive permettant la formation d'une représentation de notre environnement. Cette représentation spatiale nécessite une association entre différents indices visuels indépendants de l'observateur (centrée sur l'environnement) pour atteindre un but (O'Keefe et Nadel., 1978). Cette stratégie est très flexible, parce que l'individu est capable de se rendre au but à atteindre

indépendamment de son point de départ. Si, par exemple, le chemin habituellement emprunté par un chauffeur de taxi est bloqué (ex : travaux, embouteillages), celui-ci pourra grâce à sa mémoire spatiale emprunter un trajet alternatif pour atteindre sa destination. Ainsi, la stratégie allocentrique est un processus de planification réalisé à partir des données environnementales pour atteindre un but final, appelé le '*wayfinding*', soit la capacité à trouver son chemin (Allen, 1999). Au contraire, avec la stratégie égocentrique, la représentation mentale se construit sur la base de séquences d'actions ou mouvements. Elle est ainsi centrée sur le corps de l'observateur; par exemple, tourner à droite puis prendre à gauche de manière automatique. Ainsi, la stratégie égocentrique permet de donner un accès direct à la position de l'observateur, et de suivre une trajectoire dans un environnement familier selon une méthode appelée le '*route following*', soit l'approche consistant à suivre un trajet (Hartley et coll., 2003). De ce fait, la stratégie égocentrique est moins flexible, car une modification du chemin habituel peut empêcher l'individu d'atteindre son but. Ces deux types de stratégies (allocentrique et égocentrique) n'impliquent pas les mêmes structures cérébrales; l'hippocampe est impliqué dans le traitement d'informations de type allocentrique pour construire une représentation mentale de l'espace, ainsi qu'une carte cognitive cohérente (Holdstock et coll., 2000; O'Keefe et Nadel., 1978; Moscovitch et coll., 2005). Par contre, des structures extra-hippocampiques comme le néocortex et le striatum sont impliquées dans la stratégie égocentrique (rev. Kessels et coll., 2001; Zaehle et coll., 2007). Bien que les deux types de représentation spatiale soient fonctionnellement distincts, pendant la navigation, ces deux stratégies peuvent coexister en parallèle et être utilisées conjointement pour permettre une navigation optimale (Burgess, 2006; Nadel et Hardt, 2004).

3.3. Implication de l'hippocampe dans la mémoire spatiale

L'hippocampe est une structure cérébrale cruciale pour de nombreux processus mnésiques notamment dans la mémoire épisodique, autobiographique et sémantique (Maguire et coll., 2000; Burgess et coll., 2002; Moscovich et coll., 2005; Winocur et coll., 2010).

3.3.1. Description anatomique de l'hippocampe

L'hippocampe est une structure cérébrale qui joue un rôle essentiel dans la mémoire et la navigation spatiale. Son nom a été donné par l'anatomiste Giulio Cesare Aranzio (1587), qui, le premier, la compara avec un poisson du nom d'*hippocampus leiria*. Il peut être comparé

aussi à une corne de bélier. L'hippocampe fait partie du système limbique. Il est situé dans le lobe temporal médian sous la surface du cortex. Il s'agit d'une structure symétrique. La région hippocampique chez l'Homme s'enroule sur elle-même et forme un U; chez le Rat, les deux hippocampes ressemblent à une paire de bananes reliées à leur extrémité par la commissure hippocampique qui se situe sous la partie antérieure du corps calleux (Figure 9). Chez l'Homme et le Singe, l'hippocampe représente une petite proportion du cerveau et son orientation est différente de celle du Rat. Ainsi chez le Rat, l'hippocampe dorsal (pôle septal) correspond à la partie postérieure de l'hippocampe chez l'Homme et le primate, et l'hippocampe ventral (pôle temporal) est équivalent à l'hippocampe antérieur chez l'Homme (Hoz et coll., 2003). Une troisième région peut être distinguée chez le Rat : l'hippocampe dit « intermédiaire » (à défaut d'une autre dénomination). Cette région se situe entre les parties dorsale et ventrale évoquées précédemment (Bast et coll., 2009). L'hippocampe à proprement parler comprend la corne d'Ammon (CA, constituée de 3 sous- régions : CA1, CA2 et CA3) et le gyrus denté. Il arrive qu'on lui rajoute le subiculum, mais il serait alors plus juste de parler de formation hippocampique. La région parahippocampique se compose du cortex entorhinal, du cortex périrhinal, du présubiculum, et du parasubiculum (Andersen et coll., 2007; Moscovitch et coll., 2005). On peut trouver, dans la littérature, des terminologies différentes pour nommer ces structures, et cela en fonction des espèces animales. Par exemple, le cortex parahippocampique chez l'Homme et le primate est l'équivalent du cortex postrhinal chez le Rat (Agster et Burwell, 2011).

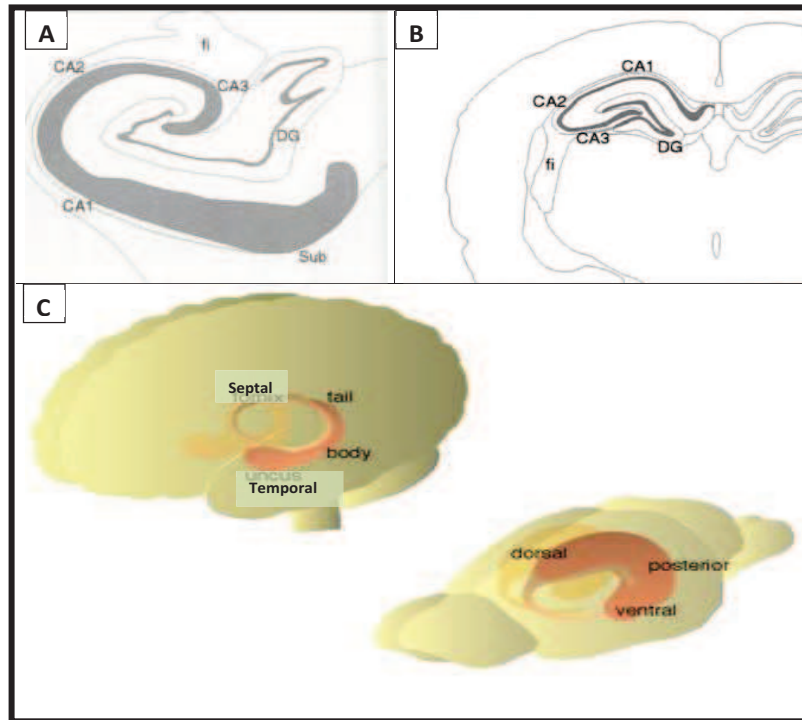


Figure 9 : Schéma des coupes coronales de l'hippocampe chez l'Homme (A) et chez le Rat (B) : CA = corne d'Ammon; DG = gyrus denté; fi = fimbria; Sub = subiculum. (Images extraites du *Hippocampus Book*, Oxford University Press, 2007). Le dessin (C) représente la position de l'hippocampe en 3D dans le cerveau humain (à gauche) et le cerveau d'un rat (à droite). Image adapté de <http://www.scholarpedia.org/article/Hippocampus>.

Morphologiquement, l'hippocampe est constitué de trois couches principales : la couche la plus profonde, appelée *stratum oriens* dans la corne d'Ammon, et *hile* dans le gyrus denté; c'est une couche polymorphe qui comprend des interneurones recevant des fibres afférentes et efférentes. La deuxième couche principale est appelée *stratum pyramidale* dans les cornes d'Ammon, où elle est constituée de larges neurones pyramidaux. Dans le gyrus denté, elle est nommée couche granulaire (*stratum granulosum*) et est composée de petits neurones appelés cellules granulaires. Enfin, la couche superficielle est appelée la couche moléculaire (*stratum moleculare*) dans les deux structures (cornes d'Ammon et gyrus denté). L'hippocampe se caractérise par un circuit neuronal tri-synaptique; la principale source d'afférences est le cortex entorhinal, qui reçoit des informations en provenance des aires corticales sensorielles et associatives. Les cellules granulaires du gyrus denté et les neurones pyramidaux de CA3 sont la cible de ces afférences, qui leur parviennent par une voie dite perforante (qui passe au travers du subiculum et de l'espace qui le sépare du gyrus denté). Les cellules de CA3 envoient à leur tour des projections vers CA1. La région CA1 peut également recevoir des projections directement du cortex entorhinal via la voie perforante. En retour, les cellules

pyramidales de CA1 projettent directement vers le cortex entorhinal et le subiculum (Andersen et coll., 2007). CA1 est la principale structure de sortie de l'hippocampe (via le subiculum) et possède donc de nombreuses connexions efférentes avec d'autres régions corticales et sous-corticales. La région CA1 envoie des projections vers le striatum (dans les ganglions de la base) et le cortex préfrontal médian. Les projections vers le mPFC sont essentiellement issues de CA1 ventral. Elles se font majoritairement à destination des cortex infralimbiques et prélimbiques, ainsi que du cortex orbital médian. CA1 dorsal projette principalement vers le cortex cingulaire antérieur (Cenquizca et Swanson, 2007; Hoover et Vertes, 2007; Vertes, 2006). En revanche, l'hippocampe ne reçoit pas d'afférences directes du cortex préfrontal. Enfin, l'hippocampe est connecté avec de multiples régions cérébrales comme les noyaux amygdaliens (Kishi et coll., 2006) et les noyaux thalamiques (Hoover et Vertes, 2007). Ainsi, les structures corticales et sous-corticales connectées avec l'hippocampe interviennent dans un circuit cérébral important qui pourrait être impliqué dans différents processus mnésiques et cognitifs (Vertes, 2006) comme la consolidation des souvenirs (Zanatta et coll., 1997), en particulier de la dimension contextuelle de la mémoire émotionnelle (McGaugh, 2004)..

3.3.2. Rôles de l'hippocampe dans la mémoire et d'autres fonctions

Au fil du temps, les études menées sur le rôle de l'hippocampe ont été consacrées à trois domaines majeurs : l'inhibition, le contrôle émotionnel, la mémoire et la navigation spatiale. Dans ce paragraphe j'aborderai brièvement ces différentes fonctions hippocampiques (en particulier dans l'inhibition, le contrôle émotionnel et la mémoire). L'implication de l'hippocampe dans la navigation spatiale sera abordée avec plus d'attention dans le prochain paragraphe.

- **Rôle dans l'inhibition** : Simonov (1974) rapporta que l'hippocampe est 'un organe d'hésitation et de doute'. En effet, l'inhibition des comportements était une hypothèse très populaire durant les années 1960. Cette implication hippocampique dans l'inhibition des réponses a été proposée à partir de deux observations : la première est que les animaux ayant une lésion hippocampique présentent une hyperactivité; la seconde, que les animaux avec un hippocampe endommagé ont une difficulté à retenir les réponses inhibitrices qu'ils avaient préalablement apprises, notamment dans les tâches affectives nécessitant un délai avant que l'animal ne réponde. C'est notamment le cas dans le test d'évitement passif. Jeffrey Gray (1971) développa ces idées dans une théorie liant l'hippocampe au contrôle inhibiteur des émotions ainsi qu'à la déception et à la frustration. Cette théorie s'appuie sur l'idée d'une position dominante de l'hippocampe dans le circuit de Papez, qui est impliqué dans l'expression des émotions (Fanselow et Dong, 2010; Gray et McNaughton, 2000). Cette fonction inhibitrice de l'hippocampe, notamment sur les processus émotionnels, serait également liée au rôle régulateur de cette structure sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA). Par exemple, la lésion hippocampique altère l'inhibition de la réponse hormonale au stress (Dedovic et coll., 2009; Jankord et Herman, 2008), alors qu'une élévation hormonale due au stress chronique, par exemple, induit une diminution des récepteurs glucocorticoïdes dans l'hippocampe, suggérant ainsi une association entre la fonction de l'axe HPA et l'inhibition hippocampique (pour rev. Herman et coll., 2005). Enfin, toujours en relation avec l'inhibition des comportements, l'hippocampe contrôle les informations contextuelles pour réguler la mémoire aversive. De plus, des chercheurs proposent aujourd'hui que l'hippocampe régulerait les émotions négatives comme la peur, ceci par un mécanisme de prédiction des erreurs au cours de l'apprentissage conditionné, soit pour renforcer un nouvel apprentissage de peur (ex : lors d'événements inattendus aversifs), soit pour réduire la peur pendant la phase d'extinction (rev. Goossens, 2011).

- *Rôle dans la mémoire* : Il est accepté actuellement que l'hippocampe est la principale structure cérébrale jouant un rôle important dans la mémoire. Son implication dans la mémoire est le résultat de nombreuses études cliniques chez l'Homme et expérimentales à partir de modèles animaux. De nombreuses études en neuropsychologie et en imagerie fonctionnelle montrent l'implication de l'hippocampe dans les deux formes de la mémoire déclarative, épisodique et sémantique (ex : Eichenbaum, 1997; Squire et coll., 1993; Vargha-Khadem et coll., 1997). Nadel et Moscovitch (1997) en particulier ont montré que son implication dans la mémoire épisodique est cruciale et ceci, quel que soit l'âge des souvenirs (récents ou anciens), alors que la récupération d'une mémoire sémantique ancienne est possible malgré l'absence d'une contribution fonctionnelle de l'hippocampe (Nadel et Moscovitch, 1997). Ces données sont à la base de différentes théories de la consolidation au niveau des systèmes donnant un rôle clé de l'hippocampe dans ce processus (voir chapitre 2).

Certains auteurs se sont également intéressés à déterminer les spécifications de différentes régions hippocampiques sur l'axe septo-temporale (hippocampe dorsal, intermédiaire et ventral) dans les différentes fonctions mnésiques et comportementales (rev. Fanselow et Dong, 2010). Par exemple, chez l'Homme, des études en imagerie cérébrale ont révélé que l'hippocampe antérieur (équivalent de l'hippocampe ventral chez le Rat) est activé pour l'encodage des informations alors que l'hippocampe postérieur (équivalent de l'hippocampe dorsal chez le Rat) est associé avec le rappel et la restitution (ex : Lepage et coll., 1998). Des résultats similaires ont confirmé cette dissociation fonctionnelle de ces régions hippocampiques chez de nombreuses modèles animaux. Par exemple, Yoon et Otto (2007) ont montré chez des rats que l'hippocampe dorsal et ventral contribuent chacun de manière différente à l'acquisition et à l'expression de la trace mnésique dans un protocole classique de conditionnement de peur : tandis que des lésions pré- ou post-entraînement de l'hippocampe ventral empêchent, respectivement, l'acquisition ou le rappel, la lésion pré-entraînement de l'hippocampe dorsal n'a pas d'influence sur l'acquisition. En plus de cette différence fonctionnelle au niveau du traitement des informations (acquisition, rétention), l'hippocampe dorsal et ventral se distinguent également sur la base du type d'informations encodées (spatiales, non spatiales). Dans un test de conditionnement de peur au contexte, la lésion post-acquisition de l'hippocampe dorsal induit une altération de la rétention du contexte, mais n'a pas d'incidence sur le rappel de la signification d'un stimulus explicite, par exemple un son (Kim et Fanselow, 1992). De plus, ce déficit de rappel du contexte est lié à la lésion de la région CA1 dorsale plus qu'à celle de la région CA3 (Hunsaker et Kesner, 2008). Au

contraire, la lésion de l'hippocampe ventral affecte plutôt la composante non-contextuelle du conditionnement (rev. Fanselow et Dong, 2010) .

D'une manière générale, selon les études lésionnelles effectuées chez le Rat, la mémoire spatiale impliquerait l'hippocampe dorsal, alors que les mémoires émotionnelles seraient associées à l'hippocampe ventral. Cependant, l'idée que l'hippocampe ventral ne joue aucun rôle dans la mémoire spatiale est sujette à controverse. Howland et coll. (2008) ont montré chez le Rat que l'inactivation réversible de l'hippocampe dorsal influence la mémoire spatiale évaluée dans le test de reconnaissance d'objet, tandis que l'inactivation de l'hippocampe ventral est responsable de la perturbation de l'ordre temporel de cette mémoire (la capacité de faire la distinction entre deux emplacements spatiaux visités à différents moments). Une autre étude récente d'inactivation hippocampique effectuée chez le Rat dans un test de piscine de Morris montre également qu'une information spatiale peut être apprise avec l'hippocampe dorsal comme avec l'hippocampe ventral, bien que l'apprentissage s'avère moins performant et/ou plus long lorsque seul l'hippocampe ventral est fonctionnel. Enfin, la récupération d'un souvenir spatial de référence nécessite les deux sous-régions hippocampiques lorsque l'apprentissage a été réalisé avec un hippocampe entièrement fonctionnel (Loureiro et coll., 2012a).

3.3.3. L'hippocampe et la navigation spatiale

Les expériences lésionnelles effectuées chez le Rat, notamment avec le labyrinthe radial (ex : O'Keefe et Nadel, 1978), et les données cliniques chez l'Homme issues de patients présentant des dommages hippocampiques (ex : Abrahams et coll., 1997; rev. Kessels et coll., 2001) ne laissent aucun doute sur le fait que l'hippocampe est une structure primordiale pour la représentation allocentrique de l'environnement, autrement dit pour la construction de cartes cognitives. La carte cognitive permet à un individu de naviguer dans un lieu, et notamment de prendre des raccourcis à partir d'indices visuels pour se rendre à son but final (McNamara et coll., 2003). Ce sont les travaux d'O'Keefe et Nadel (1978) qui ont démontré l'importance de l'hippocampe dans la construction de la carte cognitive pendant la navigation spatiale. À l'aide de mesures électrophysiologiques chez le Rat, ces auteurs ont observé que certains neurones pyramidaux hippocampiques, appelés **les cellules de lieux**, sont activés de façon très différente en fonction de la localisation du rat dans le labyrinthe (O'Keefe et Nadel, 1978; O'Keefe, 1990). Chez l'Homme, Maguire et coll. (1997, 2000) ont réalisé des expériences importantes du type visuo-spatial chez les chauffeurs de taxis de Londres pour identifier les structures cérébrales les plus impliquées dans une tâche de navigation spatiale au sein d'un environnement réel. Ces auteurs ont confirmé en imagerie par résonance magnétique morphologique (IRMf) la spécificité de l'hippocampe droit dans les différentes tâches de navigation spatiale. De plus, Maguire et ses collaborateurs (2000) ont trouvé chez les chauffeurs de taxis qui avaient le plus d'expérience, une augmentation du volume de l'hippocampe postérieur droit et gauche (pôle septal, équivalent de l'hippocampe dorsal chez le Rat) contrairement aux sujets contrôles qui ne conduisaient pas de taxi (Maguire et coll., 1997, 2000). D'autres études en imagerie chez l'Homme ont été effectuées dans des environnements virtuels, et ont permis de mettre en évidence le rôle privilégié de l'hippocampe dans la représentation spatiale allocentrique de l'environnement (ex: Maguire et coll., 1999; Ohnishi et coll., 2006).

Enfin, il faut rappeler que l'hippocampe n'est pas la seule structure impliquée dans la navigation spatiale. D'autres structures sont aussi impliquées comme **le cortex entorhinal** et **le cortex rétrospénial**, qui contribuent chacun au traitement et à l'intégration des informations et des propriétés géométriques de l'environnement (Parron et Save, 2004; Solstad et coll., 2008). **Le cortex pariétal** est également une structure importante pour la formation des représentations spatiales pendant la navigation (Save et Poucet, 2009). Il intervient en particulier dans la discrimination spatiale du type égocentrique (Loayza et coll.,

2011). Hok et coll., (2005) ont détecté dans le **cortex préfrontal médian** du Rat des cellules spécifiques du but ou '*goal-directed cells*'. Ces cellules s'activent quand le rat se dirige vers son objectif final (Hok et coll., 2005). D'autres cellules nommées les cellules de grille, ou '*grid cells*', ont été découvertes au sein du cortex entorhinal. Leur profil d'activation par rapport à un environnement correspond à une sorte de juxtapositions de grilles hexagonales qui tapissent l'ensemble de l'environnement dans lequel un rat ou une souris évolue au cours d'un enregistrement (Hafting et coll., 2005). On suppose que ces cellules peuvent « collaborer » avec les cellules de lieu hippocampiques, qui s'organisent de différentes manières pour aboutir à la construction d'une représentation spatiale (Grossberg et Pilly, 2012; Pilly et Grossberg, 2014).

3.4. Mesures de la mémoire spatiale de référence chez le Rat

- **Introduction** : Chez l'Homme, la mémoire spatiale est considérée l'un des éléments contextuels d'une mémoire épisodique, qui intègre le 'où', le 'quoi' et le 'quand' d'une expérience vécue. La mémoire épisodique est une mémoire consciente, qui peut être verbalisée par un sujet. Ces deux caractéristiques humaines (conscience et verbalisation) rendent la modélisation de la mémoire épisodique/déclarative chez l'animal très délicate. Ainsi, la mémoire spatiale chez le Rat nous permet de tester seulement deux des trois critères de la mémoire épisodique, le 'où' et le 'quoi', d'où l'expression d'*'episodic like-memory'* lorsqu'on parle de l'animal. De plus, cette mémoire permet de maintenir les souvenirs du contexte dans leur ensemble en faisant les liens entre plusieurs indices visuels (références) d'une expérience (rev. Sutherland et Hamilton, 2004). La mémoire spatiale de référence est donc une mémoire à long terme permettant au sujet de naviguer et de s'orienter dans un environnement qu'il aura eu l'occasion d'explorer (Olton, 1979).

Entre les années 1970 et 1980, de nombreux dispositifs expérimentaux ont été développés pour la mise en évidence de la navigation spatiale chez les rongeurs, en particulier chez le Rat (rev. Sutherland et Hamilton, 2004). Dans ce paragraphe, je ne citerai que deux dispositifs expérimentaux utilisés pour évaluer la mémoire spatiale; *i*) le labyrinthe radial qui a été conçu très tôt par Olton et Samuelson (1976) dans le but d'évaluer la mémoire spatiale chez le Rat, et notamment initialement la mémoire de travail, *ii*) la piscine de Morris qui est le dispositif principal dans ce projet de thèse et qui permet principalement l'évaluation d'une mémoire spatiale de référence.

Le test du labyrinthe radial (*radial arm maze*) a été largement utilisé pour étudier la mémoire et l'apprentissage spatial chez le Rat. Dans cette tâche, le rat doit garder le souvenir des branches qu'il a déjà visitées (mémoire de travail), et ainsi éviter l'entrée dans une branche qui ne contient plus de récompense parce qu'elle a déjà été visitée plus tôt au cours de l'essai. Olton et ses collaborateurs (1979) ont suggéré que l'obtention de bonnes performances dans cette tâche nécessitait à la fois un apprentissage spatial, ne dépendant pas des indices intra-labyrinthe (odeurs incluses), et une bonne mémoire de travail, tous les deux étant fonctionnellement reliés à l'hippocampe. À la même époque, O'Keefe et Nadel (1978) ont utilisé le même type de dispositif pour évaluer la mémoire spatiale, et avaient identifié l'hippocampe comme la structure principale pour traiter des informations spatiales en élaborant la théorie de la carte cognitive initialement avancée par Tolman (1948). D'après ces auteurs, la performance dans le labyrinthe radial à 8 bras dépend essentiellement des informations spatiales fournies par des indices distaux. Ce dispositif pourrait effectivement révéler l'efficacité d'une mémoire qui dépendrait des indices visuo-spatiaux situés à l'extérieur du labyrinthe, mais il est difficile d'éliminer la composante que représente la mémoire de travail, ainsi que le fait qu'un rongeur puisse recourir à d'autres stratégies, comme par exemple, la sélection successive des bras visités en fonction de la répétition d'un même angle dans le même sens de rotation. Rappelons que les rongeurs testés dans ce dispositif doivent rester motivés, et qu'il faut, par conséquent, les garder sous un régime alimentaire restreint. Ce dernier point est un des désavantages du test, notamment dans les expériences où l'exposition à un produit pharmacologique peut affecter massivement le poids corporel et/ou l'appétit (revues: Hodges, 1996; Vorhees et Williams, 2014). Pour contourner certains problèmes de ce test, des chercheurs ont développé un labyrinthe radial aquatique avec une plateforme cachée dans une branche, permettant de mesurer les deux types de mémoires (la mémoire spatiale de référence et la mémoire de travail; exemple : Bimonte et coll., 2000; Penley et coll., 2013). Les labyrinthes aquatiques présentent l'avantage d'induire une motivation naturelle et non conditionnée pour que le rat réalise la tâche de navigation spatiale sans être affamé.

Le labyrinthe en piscine de Morris (ou *Morris water maze* : **MWM**) est un autre test utilisé largement dans plusieurs domaines des neurosciences comportementales. Il permet, lui aussi, d'évaluer la mémoire et la navigation spatiale (rev. D'Hooge et De Deyn, 2001). Ce test a été créé par Richard Morris (1981, 1984) il y a une trentaine d'années. Au cours des trois dernières décennies, le test de la piscine de Morris est devenu un modèle expérimental quasi

incontournable (Vorhees et Williams, 2014). Le test utilise une piscine circulaire remplie à mi-hauteur avec de l'eau fraîche (21C°). Notons au passage que ce test n'a rien d'un labyrinthe au sens où les trajets empruntés par l'animal ne sont pas contraints par un système de parois. Le Rat est un excellent nageur, mais il préfère se soustraire à la fraîcheur de l'eau, Ainsi, la natation dans tel environnement provoque une bonne motivation pour échapper à l'eau afin de chercher activement à en sortir sans l'intervention par l'expérimentateur. Cet échappement, il pourra faire l'opérer en retrouvant une plateforme-échappatoire dissimulée sous la surface de l'eau (McDonald et coll., 2004). L'apprentissage classique se caractérise dans ce test par une diminution progressive de la latence d'arrivée à la plateforme au cours de plusieurs jours d'entraînement (rev. D'Hooge et De Deyn, 2001). En effet, le design du MWM fait de ce test un test simple, écologiquement pertinent pour le rat (ce n'est pas le cas de la souris) et adapté à l'évaluation des capacités de navigation spatiale, cela sans être biaisé par des traces olfactives et sans devoir priver l'animal pour générer une motivation. Un autre avantage du MWM est qu'il ne nécessite pas beaucoup de jours d'entraînement ou d'essais/jour pour assurer que tous les animaux ont appris la tâche avant d'être soumis au test de rétention. Par exemple, un protocole typique de ce test utilise quatre essais par jour pendant 4 à 6 jours d'entraînement, avec une durée maximale de chaque essai allant de 60 à 90s par essai (Vorhees et Williams, 2010). De plus, le test du MWM permet une exploitation assez facile d'une multiplicité de variables qui peuvent témoigner d'altérations sensorimotrices, de troubles mnésiques et de biais non-mnésiques pendant la navigation spatiale (ex: la latence, la distance, le nombre de visites de l'emplacement de la plateforme visible ou cachée, la vitesse, la thigmotaxie (tendance à rester à proximité des parois), l'erreur dite de '*Wishaw*', de même que la stratégie). Une adaptation du protocole permettra aussi d'évaluer la mémoire de travail et la flexibilité mnésique (rev. Vorhees et Williams, 2014).

A côté de ces avantages, on peut souligner quelques inconvénients. Par exemple, au lieu de rechercher activement la plateforme dans la piscine, certains animaux peuvent flotter ou présenter une thigmotaxie permanente. De plus, l'effet du stress est inévitable dans tous les labyrinthes aquatiques, dont la piscine de Morris. Il est aussi important de noter, notamment dans des versions du protocole évaluant la mémoire spatiale allocentrée, que la tâche n'est pas uniquement hippocampo-dépendant. En effet, de nombreuses études ont aussi démontré l'implication d'autres structures cérébrales chez le Rat (par exemple, le striatum, l'amygdale, le thalamus, le cervelet, et aussi certaines régions corticales). Ce genre d'observation suggère que l'apprentissage du test de la piscine de Morris est considérablement complexe et peut

nécessiter une coordination entre plusieurs régions cérébrales (rev. D'Hooge et De Deyn, 2001).

Dans le cadre de ma thèse, nous avons utilisé le test de la piscine de Morris comme le test principal pour étudier la mémoire spatiale de référence chez les rats. Le protocole expérimental est le même que celui validé précédemment par Loureiro et coll. (2012), un protocole qui a l'issue d'un entraînement étalé sur 8 jours (4 essais/jour) permet d'évaluer la mémoire spatiale ancienne; cette dernière est testée 25 jours après la fin de l'acquisition (voir le protocole détaillé dans les matériels et méthodes, paragraphe 3.4.1).

Chapitre 4 : Contribution thalamique aux processus mnésiques

Chapitre 4 : Contribution thalamique aux processus mnésiques

Le thalamus est une structure cérébrale d'une forme ovoïde, bilatérale, symétrique, constituée d'un grand nombre de noyaux et située dans la partie profonde du cerveau. Chez l'Homme, elle repose sur le troisième ventricule. Chaque noyau thalamique projette des fibres nerveuses vers une région cérébrale et reçoit à son tour des afférences de cette région, lorsqu'elle ne fait pas l'objet d'une innervation en provenance d'autres régions (rev. Herrero et coll., 2002). Le thalamus représente une grande partie du cerveau diencéphalique (80 %). Il possède de nombreuses fonctions. En général, le thalamus joue un rôle essentiel de relais des signaux sensoriels et moteurs du cortex, et fonctionne également comme un centre de réponses émotionnelles. Il est aussi impliqué dans la régulation de la conscience, le sommeil et la vigilance. Le thalamus est, en quelque sorte, la porte d'entrée du cortex cérébral et comprend des noyaux qui semblent avoir une influence sur la concentration et l'attention, en exerçant soit une inhibition, soit une excitation sur d'autres noyaux thalamiques (rev. Sherman, 2005, 2007). Ainsi le thalamus joue un rôle particulièrement intéressant et important dans la sensibilité, la motricité et la stimulation du cortex. Son rôle ne s'arrête pas là : en effet, il est également impliqué dans l'apprentissage et la mémoire (Vertes, 2006; Werf et coll., 2003a).

Dans ce chapitre, je me limiterai à décrire l'implication du thalamus dans la mémoire, en évoquant quelques exemples de noyaux thalamiques. Par la suite, je parlerai plus en détails du rôle des noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus (noyaux Reuniens et Rhomboïde), et notamment de leur rôle dans la mémoire spatiale de référence

4.1. Formation anatomique et subdivisions fonctionnelles

Le thalamus, chez le Rat comme chez la plupart des vertébrés, est une partie du cerveau diencéphalique qui s'appuie sur le troisième ventricule, dont il forme les limites supérieure et latérale. Il se situe entre le cortex cérébral et le tronc cérébral, et est composé de deux masses jumelles de substance grise retenues par une commissure (jonction) médiane, que l'on appelle l'adhérence inter-thalamique ou la commissure grise. Selon les subdivisions du cerveau diencéphalique basées sur le développement embryologique, le terme 'thalamus' (étymologiquement la chambre nuptiale) fait référence principalement au thalamus dorsal. Le

diencéphale comprend aussi trois autres noyaux : l'épithalamus, le thalamus ventral (ou pré-thalamus) et l'hypothalamus (qui ne seront pas évoqués dans ce chapitre).

Le thalamus dans son ensemble est entouré du côté rostral et latéral par une substance blanche nommée la lame médullaire externe. La masse du thalamus est divisée en groupes de noyaux séparés par la lame médullaire interne (lmi), en forme de Y. Ainsi, on distingue différents groupes de noyaux thalamiques (Figure 10) :

- le groupe des noyaux antérieurs (NA) qui occupe le triangle de la lame médullaire interne;
- le groupe des noyaux médians qui se place sur le côté intérieur de la lame, représenté par le volumineux noyau médio-dorsal (MD) et par les noyaux de la ligne médiane (LM);
- à l'intérieur de la lame interne se trouvent les noyaux intralaminaires (ILN), dont le plus volumineux correspond au noyau centromédian (CM); les autres étant les noyaux para-centraux (PC) et centro-latéraux (CL);
- à l'extérieur de la lame médullaire interne se trouvent les groupes des noyaux ventraux (V), latéraux (L) et postérieurs (P), qui se divisent à leur tour en plusieurs sous-groupes selon leur position antéro-postérieure ou ventro-latérale.
- Les noyaux postérieurs du thalamus constituent le pulvinar (P) auquel sont rattachés les corps genouillés médians (M) et latéraux (L) (rev. Herrero et coll., 2002).

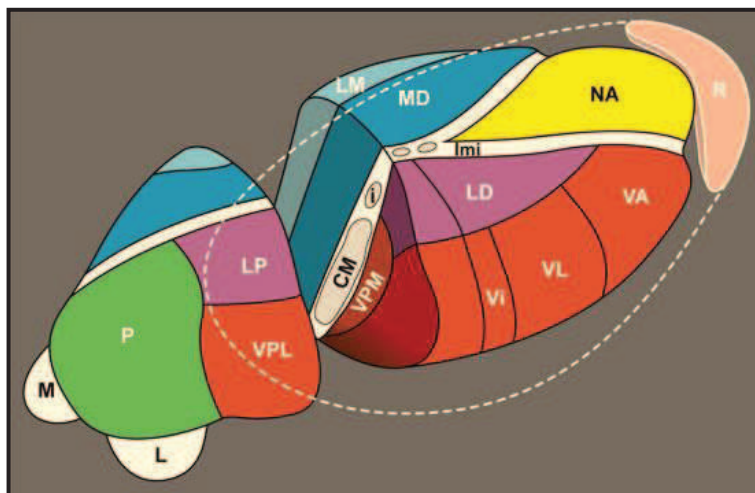


Figure 10 : Schéma représentatif du thalamus et ses subdivisions anatomiques en 3D, sur lequel, le noyau réticulaire (R), une partie des noyaux pré-thalamiques, vient recouvrir la face latérale du thalamus en transparence. Image adapté de http://neurologie.edimark.fr/phototheque/galerie_detail.php?id_galerie=2221.

Les noyaux thalamiques peuvent être divisés en 2 catégories fonctionnelles : i) les **noyaux relais (ou noyaux spécifiques)** et ii) les **noyaux non-spécifiques**. Les noyaux relais sont divisés en groupes en fonction du type et de la source d'information reçue et transférée vers le cortex cérébral. Ils comprennent principalement les noyaux recevant des informations sensorielles et motrices primaires par des voies ascendantes pour les traiter dans les différentes régions corticales. C'est de cette particularité fonctionnelle que vient leur appellation de noyaux relais de '**premier ordre**', car ils représentent le premier relai d'un type spécifique de l'information ascendante dans une région spécifique du cortex (rev. Guillery et Sherman, 2002). Les noyaux qui communiquent les informations au niveau cortico-cortical (**ou noyaux thalamiques associatifs**) sont nommés les noyaux **d'ordre supérieur**, parce qu'ils représentent une seconde, troisième, voire plus, étape du traitement de l'information par une voie cortico-thalamo-corticale. Certains des noyaux thalamiques présentent les deux caractéristiques (premier ordre et ordre supérieur). Les noyaux associatifs, qui communiquent entre les régions corticales du cerveau, comprennent principalement les noyaux antérieurs (AN), médio-dorsaux (MD), latéro-dorsaux, et latéral postérieurs. Les noyaux associatifs reçoivent des projections afférentes provenant de la couche V pyramidale dans les aires sensori-motrices du cortex primaire, et projettent à leur tour vers les régions corticales associatives (Guillery et Sherman, 2002). Les noyaux non-spécifiques s'inscrivent dans deux ensembles : i) les **noyaux intralaminaires** (centromédian (CM) et centrolatéral (CL), paracentral (PC), parafasciculaire (Pf) et sub-parafasciculaire). ii) **Les noyaux de la ligne médiane du thalamus**, qui regroupent les noyaux paratenial (PT), paraventriculaire (PV), rhomboïde (RH), reuniens (RE), interanteromedial (IAM), interomediadorsal (IMD) et mediodorsal (MD) (Groenewegen et Berendse, 1994; Van der Werf et coll., 2002).

Certains chercheurs se sont intéressés à distinguer les groupes des noyaux thalamiques en fonction de leurs afférences, notamment selon qu'elles soient de type **modulateur** ou **conducteur (drivers)** (Sherman et Guillery, 2002; Sherman, 2007). Les afférences dites '*drivers*' fournissent des informations spécifiques au thalamus qui seront par la suite transmises au cortex, alors que les afférences modulatrices peuvent modifier ou moduler les informations portées par les afférences '*drivers*' (Sherman, 2007). Sherman et Guillery ont donné les critères de distinction entre ces afférences en fonction de leur position, leur terminaison et leur caractéristique ultra-structurale et physiologique (Guillery et Sherman, 2002; Sherman et Guillery, 1998). Les afférences '*drivers*' possèdent des fibres relativement épaisses avec de nombreux branchements, riches en grosses terminaisons avec des vésicules

rondes, selon un arrangement triadique. Les entrées neuronales de ces afférences sont généralement excitatrices et exercent majoritairement leurs effets via une action sur des récepteurs glutamatergiques ionotropiques. Les afférences modulatrices sont par contre des fibres plus minces et allongées. Elles possèdent de petits pilons distribués sur l'étendue de la fibre, et donc moins de branchements, qui contiennent très peu de terminaisons, et avec des vésicules rondes. La nature de ces afférences modulatrices est très diverse; elles pourraient être glutamatergiques, agissant sur des récepteurs ionotropiques, mais d'autres actions peuvent impliquer une action sur des récepteurs métabotropiques comme les récepteurs muscariniques et les récepteurs GABA_B (pour rev. Sherman et Guillery, 2011). En effet, cette classification des noyaux thalamiques selon leurs afférences conductrices (*drivers*) et modulatrices a été étudiée spécialement pour les noyaux relais. Ainsi, la mesure dans laquelle cette distinction pourrait être appliquée aux noyaux non-spécifiques (dont les noyaux de la ligne médiane du thalamus qui comprennent les noyaux Reuniens et Rhomboïde) n'a pas encore été explorée (Sherman et Guillery, 2011).

4.2. Les noyaux non-spécifiques sont-ils vraiment non-spécifiques?

L'idée de la non-spécificité des noyaux intralaminaires et de la ligne médiane du thalamus était basée sur les premières données électrophysiologiques de Dempsey et Morison (1940), deux auteurs qui ont étudié l'état d'éveil chez les chats (rev. Groenewegen et Berendse, 1994). Ces expériences montrèrent que la stimulation de ces noyaux provoquait des réponses très étendues sur l'ensemble du manteau cortical. Depuis lors, ces noyaux ont été considérés comme non-spécifiques du fait qu'ils relayent l'activité de la formation réticulée vers de vastes zones du cortex cérébral. De plus, des études morphologiques utilisant l'imprégnation de Golgi semblaient conforter cette vision de la non-spécificité des noyaux intralaminaires et de la ligne médiane du thalamus, en mettant en évidence une large diffusion des fibres efférentes vers un grand nombre de régions cérébrales tout en recevant également des afférences de plusieurs régions cérébrales (Macchi et Bentivoglio, 1999). Plus récemment, l'utilisation de nouvelles techniques de traçage antérograde et rétrograde a permis de préciser la connectivité de ces noyaux avec les autres structures cérébrales. Grâce à cette méthode, les chercheurs ont confirmé qu'en plus de la formation réticulée, les noyaux intralaminaires et ceux de la ligne médiane du thalamus reçoivent individuellement d'autres afférences spécifiques et projettent à leur tour vers des zones relativement déterminées du cortex

(Hoover et Vertes, 2007; Van der Werf et coll., 2002; Vertes, 2006). De plus, des études neurophysiologiques et comportementales ont également montré une implication importante de ces noyaux dans plusieurs fonctions comme le sommeil, le rêve, l'attention et les processus mnésiques (Lopez et coll., 2009; Michaël Loureiro et coll., 2012; Van der Werf et coll., 2002; Werf et coll., 2003; pour revue Cassel et al., 2013; Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2015). Ainsi, la vision classique des noyaux intralaminaires et de la ligne médiane du thalamus comme 'non-spécifiques' a été quelque peu nuancée à partir du fait que ces noyaux ont un rôle fonctionnel dédié et possèdent une organisation anatomique plus spécifique (rev. Groenewegen et Berendse, 1994).

De manière globale, la vision générale du thalamus comme un ensemble de noyaux relayant passivement l'information vers le cortex a été révisée. Actuellement, on pense que le thalamus, y compris les noyaux classés comme 'non-spécifiques', joueraient un rôle modulateur interactif dans la transmission des informations vers le cortex, et ce par un mécanisme de synchronisation cortico-thalamo-corticale, qui peut intervenir dans diverses tâches cognitives, comme par exemple l'attention et les processus de mémoire (rev. Saalman, 2014), ainsi que dans certaines fonctions exécutives (Varela, 2014).

4.3. Thalamus et mémoire

Si l'association entre les amnésies et le lobe temporal médian est bien établie, le rôle du thalamus dans les processus cognitifs supérieurs, notamment dans la mémoire, reste une question à étudier. Cependant, le thalamus se caractérise au niveau neuroanatomique par une connectivité importante avec les structures majeures impliquées dans les processus de mémoire, comme la formation hippocampique et le néocortex. De plus, des études cliniques chez des patients présentant une lésion diencephalique qui affecte en général plusieurs noyaux thalamiques, ont mis en évidence l'existence de déficits mnésiques parfois marqués, ce qu'on appelle les **amnésies diencephaliques**. Or, les études de lésions de divers noyaux thalamiques menées sur des modèles animaux nous permettraient de mieux comprendre l'implication du thalamus dans les fonctions cognitives, en particulier, dans la mémoire, l'attention ou les fonctions exécutives. Ces deux derniers points, concernant les études cliniques et les modèles animaux, seront développés en détails dans les paragraphes ci-dessous.

4.3.1. Les amnésies diencephaliques chez l'Homme

Les premiers arguments en faveur de l'existence d'une amnésie diencephalique chez l'Homme proviennent de patients ayant subi une atteinte du thalamus, souvent du fait d'un accident vasculaire cérébral ou d'une carence en thiamine (syndrome de Korsakoff). Les données neuropsychologiques et comportementales de ces patients ont montré une relation entre la gravité des troubles mnésiques et l'étendue de la lésion, ainsi que sa localisation dans différents groupes de noyaux thalamiques (Van der Werf et coll., 2003a; 2003b). En effet, les premières études ont rapporté que l'amnésie diencephalique diffère de l'amnésie consécutive à une atteinte du lobe temporal médian, notamment en termes de vitesse d'oubli d'une information nouvellement acquise : l'oubli est plus lent chez des patients atteints d'un syndrome de Korsakoff que chez le patient H.M. (Huppert et Piercy, 1979). Mais dans certaines études, on peut constater que la lésion thalamique produit des altérations de la mémoire épisodique antérograde et rétrograde, et présente donc des caractéristiques comparables à celle d'une lésion du lobe temporal médian (Fama et coll., 2012; Kopelman et coll., 2003). Toutefois, l'amnésie diencephalique peut être plus complexe que l'amnésie associée à l'atteinte du lobe temporal médian, du fait d'une contribution fonctionnelle très variée de divers noyaux thalamiques. Par exemple, les données obtenues chez les alcooliques carencés en thiamine ont montré une implication des noyaux antérieurs, intralaminaires et médians dans le déficit mnésique (Aggleton et Brown, 1999; Carlesimo et coll., 2011a; 2011b; Van der Werf et coll., 2003a). De plus, des structures adjacentes ou 'extra-thalamiques' également endommagées, comme les corps mamillaires ou le fornix, participent aussi au déficit de mémoire chez ces patients (rev. Aggleton et Brown., 1999). En outre, les études de neuroimagerie chez les alcooliques chroniques montrent souvent une atrophie importante dans le thalamus, mais également dans d'autres régions corticales (rev. Kril et Harper, 2012; Visser et coll., 1999). Alors que ces dernières études pourraient pointer vers l'hétérogénéité neuropathologique de l'amnésie diencephalique, chez certains patients alcooliques qui présentent un syndrome de Korsakoff, l'amnésie n'est corrélée qu'avec une atrophie de la ligne médiane du thalamus, et non avec une atrophie hippocampique, parahippocampique, ou des corps mamillaires (Visser et coll., 1999).

En effet, l'alcoolisme n'est pas le seul facteur étiologique qui provoque une amnésie diencephalique. Il existe d'autres facteurs qui touchent plus au moins les différents éléments du cerveau diencephalique, y compris le thalamus. Le cas spécifique de la maladie de Korsakoff et les autres cas cliniques seront abordés dans les paragraphes suivants.

4.3.1.1. La maladie de Korsakoff chez l'Homme

Le syndrome de Korsakoff (KS) est une maladie neurologique qui est très souvent associée à un alcoolisme chronique, mais elle ne l'est pas obligatoirement. Elle se manifeste par des troubles cognitifs comme une amnésie rétrograde et antérograde et s'accompagne de déficits des fonctions exécutives. La cause de ces symptômes est une carence en thiamine (vitamine B₁) et/ou une neurotoxicité à l'origine des lésions cérébrales intervenant principalement dans les corps mamillaires de l'hypothalamus et le thalamus médian (rev. Fama et coll., 2012; Savage et coll., 2012). Il est maintenant connu que le KS est généralement précédé par une affection neurologique aiguë appelée l'encéphalopathie de Wernicke (WE) dont 20% des cas non-traités sont mortels (Krill et Harper, 2012). L'encéphalopathie de Wernicke se caractérise par l'apparition brutale de confusion, en particulier une désorientation spatio-temporelle, d'inattention, d'une ataxie, et d'anomalies des mouvements oculaires. L'encéphalopathie de Wernicke est aussi caractérisée par une carence en thiamine, mais la consommation chronique d'alcool n'est pas la seule cause de cette carence. En effet, cette encéphalopathie peut être provoquée par des facteurs autres que l'alcoolisme, comme la malnutrition consécutive à des vomissements persistants ou une malabsorption intestinale. Le fait que l'alcoolisme chronique soit à l'origine de la majorité des cas de WE/KS a été récemment remis en cause (Thomson et coll., 2012). En effet, les premiers symptômes de WE sont réversibles et peuvent être traités par la prise médicale de thiamine, ce qui empêcherait le développement de la maladie de Korsakoff (rev. Fama et coll., 2012). Tandis que dans les cas aigus de WE, où les déficits de mémoire et d'apprentissage commencent à apparaître, la réponse au traitement peut être insuffisante et trop lente (rev. Day et coll., 2013). Ainsi, la stratégie optimale pour traiter le KS reste incertaine. Cependant, certains patients KS ne présentant que des déficits modérés de la mémoire explicite, hébergés dans des centres de réhabilitation, avec un environnement bien structuré et le bénéfice du support d'un psychologue, ont présenté une amélioration dans leur mémoire explicite en utilisant notamment la méthode d'apprentissage d'élimination des erreurs (*errorless learning*) pendant l'entraînement (Pitel et coll., 2010). Les chercheurs suggèrent que de tels environnements aideraient à empêcher la dégradation cognitive et le développement d'autres troubles psychiatriques tels que l'anxiété et la dépression (rev. Kopelman et coll., 2009).

4.3.1.2. Autres étiologies d'amnésie diencephalique

Le syndrome de Korsakoff chez l'Homme n'est pas la seule cause clinique conduisant à une amnésie diencephalique. Des lésions thalamiques produites par les accidents vasculaires cérébraux, des tumeurs et certaines maladies neurodégénératives peuvent provoquer des altérations de la mémoire. Les accidents vasculaires cérébraux sont provoqués par des troubles de la circulation sanguine, comme c'est le cas dans l'ischémie par blocage artériel (ou infarctus), ou par hémorragie. Ces accidents peuvent apparaître dans le thalamus, en particulier dans les noyaux antérieurs et médians (Carrera et coll., 2004; Schmahmann, 2003). Cependant, la localisation de la lésion dépend du site des artères lésées. Par exemple, un infarctus dans l'artère tubéro-thalamique peut provoquer une lésion du thalamus antérieur, mais également dans le tractus mammillo-thalamique, la partie ventrale de la lame médullaire interne, le noyau réticulaire, le noyau ventral latéral et le noyau dorso-médian. A l'opposé, les lésions dans les noyaux thalamiques médians (ex: ILN et la ligne médiane du thalamus) sont associées aux infarctus survenus sur les artères paramédianes; et cette lésion est souvent étendue au thalamus antérieur (revue Lim et coll., 2009).

Ainsi, la nature et l'ampleur du déficit mnésique peuvent varier en fonction de l'endroit thalamique endommagé par l'infarctus. Par exemple, si la lésion inclut, en majorité, le thalamus antérieur gauche, un déficit de mémoire verbale et des fonctions exécutives est principalement provoqué (De Witte et coll., 2011), alors que la lésion comprenant le thalamus antérieur droit est souvent associée à un déficit de mémoire visuo-spatiale (Schmid et Bogousslavsky, 2000). En plus, les patients présentant des lésions symétriques du thalamus antérieur souffrent d'un déficit de la mémoire de reconnaissance coexistant avec des troubles exécutifs (Van der Werf et coll., 2003b). En effet, chez 22 cas des patients avec différentes lésions thalamiques, van der Werf et ses collaborateurs (2003b) ont rapporté que les dommages occasionnés dans un seul noyau thalamique pourraient refléter certains problèmes mnésiques, mais sans nécessairement présenter un syndrome d'amnésie diencephalique antérograde et/ou rétrograde. Selon cette étude, le seul cas clinique présentant une amnésie diencephalique typique avec une lésion unique se trouvait être celui qui souffrait d'une lésion du tractus mammillo-thalamique, un faisceau qui connecte le thalamus antérieur avec l'hippocampe (van der Werf et coll., 2003b). Ainsi, il a été proposé que l'amnésie diencephalique peut apparaître quand la lésion s'étend à plusieurs régions adjacentes ou être en combinaison avec l'atteinte d'un autre noyau thalamique (Aggleton et Brown, 1999; Lim et coll., 2009; Van der Werf et coll., 2003b). Cependant, Carlesimo et ses collaborateurs

(2011) ont réalisé une étude plus récente avec un échantillon de 83 patients présentant des lésions ischémiques critiques et relativement localisées, dont certains présentaient des amnésies. De plus, les auteurs ont constaté que la lésion du tractus mamillo-thalamique est fortement prédictive de la survenue d'une amnésie diencephalique (95% de cooccurrence). Alors que la lésion du thalamus médiodorsal et des noyaux intralaminaires n'a pas permis de prédire une association avec d'éventuels troubles mnésiques (Carlesimo et coll., 2011b). Plus récemment, Bourbon-Teles et ses collaborateurs (2014) ont analysé différents aspects de la mémoire chez des patients avec un infarctus dans le thalamus (18 patients) en comparaison avec des volontaires sains (22), et ce à l'aide d'analyses neuropsychologiques et d'imagerie IMRf. Les auteurs ont conclu que le noyau ventro-latéral du thalamus et le thalamus antérieur sont impliqués notamment dans le contrôle de l'attention pendant la réalisation d'une épreuve mnésique, ainsi que dans l'apprentissage de nouvelles règles, mais aussi dans la récupération des informations en mémoire à long terme pour orienter l'attention (Bourbon-Teles et coll., 2014).

Les tumeurs dans le thalamus sont également à l'origine d'une amnésie diencephalique, mais avec des mécanismes pathologiques différents : i) la masse de tumeur peut entraîner la compression, l'irritation ou la destruction des tissus adjacents; ii) une élévation de la pression intracrânienne peut être produite par l'œdème et la masse tumorale (rev. Herrero et coll., 2002). Dans tous les cas, si une tumeur se développe lentement et infiltre les tissus thalamiques plutôt que de les détruire, les symptômes vont évoluer très lentement et seront donc négligés pendant une longue période.

Les maladies neurodégénératives (ex: les maladies de Parkinson et d'Alzheimer) peuvent également provoquer des lésions thalamiques associées à certains troubles mnésiques (Halliday, 2009; Nestor et coll., 2006). Cependant, les déficits mnésiques observés chez ces patients ne peuvent pas être attribués uniquement à l'implication du thalamus en raison de la présence d'autres lésions ou atrophies extra-thalamiques qui peuvent être très vastes, comme c'est le cas dans le cortex entorhinal, l'hippocampe, le prosencéphale basal (autrefois appelée la substance innominée, comprenant le noyau accumbens) et la substance noire.

En conclusion, ces différents cas cliniques observés chez l'Homme (accidents vasculaires cérébraux comme l'infarctus, tumeurs et maladies neurodégénératives) ont mis en évidence l'implication du thalamus dans les amnésies. Cependant, les études cliniques ne permettent pas de localiser précisément la ou les structure(s) responsable(s) de l'apparition de ces

troubles mnésiques. De ce fait, la modélisation de lésions thalamiques focales d'étendue restreinte effectuées chez le Rat nous permettrait d'approfondir les recherches sur le rôle de thalamus et ses relations avec les autres structures du cerveau dans les processus mnésiques. Le paragraphe suivant présente certaines données expérimentales de lésions focalisées et relativement précises.

4.3.2. Modèles animaux d'amnésie diencephalique

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que la pathologie humaine du thalamus comporte souvent des lésions étendues aux autres régions cérébrales non-thalamiques, et même en cas d'un dommage qui se localise principalement dans un seul noyau ou groupe des noyaux, la lésion s'étend sur des zones adjacentes. Les modèles animaux présentent de nombreux avantages pour produire des lésions focalisées et faire des expériences spécifiques sur des animaux lésés et des animaux contrôles. Ces études permettent d'établir la corrélation entre une lésion et son impact sur différents aspects de l'apprentissage et de la mémoire antérograde, voire de la mémoire rétrograde. La majorité de ces études se sont focalisées sur certains noyaux thalamiques en particulier les noyaux du thalamus antérieur et les noyaux médians. Dans ce paragraphe, nous abordons des modèles expérimentaux chez les rongeurs en montrant l'implication de ces noyaux dans la mémoire et les processus cognitifs. Nous évoquerons les noyaux antérieurs (ATN), médiodorsaux (MD), intralaminaires (ILN) et ceux de la ligne médiane (LM).

En effet, si l'on peut tester la mémoire épisodique chez l'Homme amnésique, notamment avec des épreuves verbales, dans les modèles animaux courants on ne peut probablement examiner que le 'où ? et le quoi ?' de la mémoire de type épisodique. D'où le défi pour les chercheurs de désigner des tâches simples et adéquates qui s'adaptent à chaque modèle animal. Ainsi, plusieurs dispositifs expérimentaux ont été utilisés pour évaluer l'effet de la lésion thalamique sur la mémoire. Par exemple, chez le Rat et la Souris, les lésions des ATN produisent des déficits robustes de mémoire spatiale dans différentes tâches comme dans la piscine de Morris (Lopez et coll., 2009; Moreau et coll., 2012; Wolff, et coll., 2008b), le labyrinthe radial à branches (Aggleton et coll., 1996), le labyrinthe en T (Warburton et coll., 1999; rev. Aggleton et Nelson, 2014) et le labyrinthe en croix (Alcaraz et coll., 2014). Ainsi, on trouve une contribution importante de ces noyaux, notamment dans la mémoire spatiale de travail. De plus, la lésion de noyaux thalamiques antérieurs perturbe la discrimination olfactive dépendante du contexte (Law et Smith, 2013), le rappel de l'ordre temporel des éléments non-spatiaux avec une séquence d'odeurs (Wolff et coll., 2006) et les actions d'orientation spatiale vers un but ou '*goal directed behavior*' (Alcaraz et coll., 2014). De manière globale, les données obtenues avec de nombreuses expériences sur la mémoire spatiale montrent que l'amnésie provoquée par des lésions du thalamus antérieur chez le Rat ressemble à celle associée à l'atteinte de l'hippocampe. De ce fait, le thalamus antérieur a été traité comme une structure étendue de l'hippocampe (Aggleton et Brown, 1999). De plus, ces

déficits de mémoire spatiale à l'issue de la lésion du thalamus antérieur peuvent être induits soit par l'influence directe du noyau lésé, soit par des effets sur des structures à distance, structures qui supportent habituellement l'apprentissage et la mémoire spatiale en particulier, comme notamment l'hippocampe et le cortex rétrosplénial (rev. Aggleton et Nelson, 2014).

Lors des premières observations d'amnésie diencéphalique, les chercheurs ont trouvé des lésions de noyau médiodorsal du thalamus (**MD**), en particulier chez des patients ayant le syndrome de Korsakoff (rev. Kopelman, 2014). Cependant, de nombreuses études effectuées chez l'Homme et sur des modèles animaux n'ont pas pu associer un rôle précis et clair au noyau médiodorsal dans la mémoire. Son influence sur la mémoire pourrait toutefois apparaître nettement quand une ou plusieurs structures, en plus de ce noyau, sont incluses dans la lésion (rev. Markowitsch, 1982). Il n'en reste pas moins que dans la littérature, certains points communs concernant l'implication de ces noyaux dans la mémoire ont été rapportés. Mitchell et Chakraborty (2013) ont résumé les études effectuées au cours des 40 dernières années impliquant la lésion du MD et son impact sur différents processus mnésiques. En bref, certains chercheurs proposent que le MD pourrait être impliqué spécialement dans la mémoire de reconnaissance basée sur les processus de la familiarité, alors que d'autres chercheurs ont suggéré que le MD peut avoir un autre rôle dans la mémoire spatiale, de manière indirecte, en perturbant initialement les fonctions exécutives et l'attention gérées par le PFC. Ceci comprend des fonctions comme, par exemple, la sélection de stratégie ou la gestion de la balance réponse/inhibition, ainsi que les réponses de persévérance. En effet, la plupart des déficits observés avec ce modèle des lésions du MD sont des caractéristiques préfronto-dépendantes. De ce fait, les chercheurs s'intéressent, de plus en plus, à étudier l'impact de la lésion du MD sur la mémoire en interaction avec le PFC et éventuellement avec les ganglions de la base (pour rev. Mitchell et Chakraborty, 2013).

En raison de leur position et de leur forme, les cas cliniques d'amnésie diencéphalique liés à la lésion sélective des noyaux intralaminaires (**ILN**) sont très rares. 46% d'entre eux présenteraient des symptômes amnésiques (Carlesimo et coll., 2011b). De plus, dans la plupart des cas, la lésion des **ILN** provoque des problèmes de persévérance et des troubles attentionnels plutôt que des déficits de mémoire à proprement parler (Carlesimo et coll., 2011; Van der Werf et coll., 2003). Les études lésionnelles menées chez l'animal ont également confirmé l'implication des ILN dans l'attention (rev. Van der Werf et coll., 2002). Ces auteurs ont proposé que les ILN soient responsables du maintien de l'éveil, de l'attention et de la motivation, des fonctions qui influencent les processus mnésiques. Cependant, des lésions

sélectives ont mis en cause l'implication des ILN rostraux dans la mémoire spatiale de travail de type égocentrique (Mair et coll., 1998; Mitchell et Dalrymple-Alford, 2006). En effet, il a été proposé que l'altération de la stratégie égocentrique par une lésion des noyaux ILN vienne du fait que leur connectivité neuroanatomique est très importante avec le striatum dorsal et le cortex préfrontal dorsal (Berendse et Groenewegen, 1991; Van der Werf et coll., 2002). Cependant, une étude chez des rats porteurs de lésions des ILN n'a pas reproduit le déficit de mémoire spatiale égocentrique et de mémoire de référence dans un labyrinthe radial (Wolff et coll., 2008b). De plus, Moreau et ses collaborateurs (2012) ont montré que les rats avec une lésion des ILN n'ont pas de déficits dans l'acquisition d'une discrimination visuelle; une tâche dépendante du striatum (Moreau et coll., 2012). Dans une étude évaluant la mémoire spatiale de référence avec le test de la piscine de Morris, la lésion de ces noyaux chez les rats n'a pas impacté l'acquisition ni le rappel récent à 5j, alors que le rappel ancien à 25j post-acquisition était significativement affecté (Lopez et coll., 2009). Ces derniers résultats pourraient laisser supposer un rôle possible des ILN dans le processus de consolidation à long terme de la mémoire (rev. Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2015).

Les noyaux de la ligne médiane du thalamus (**LM**), avec les noyaux ILN, sont considérés comme un complexe de noyaux non-spécifiques, et donc associées aux fonctions de la formation réticulée comme l'attention, l'état d'éveil et la conscience (Groenewegen et Berendse, 1994; Van der Werf et coll., 2002; 2003a; 2003b). Cependant, la contribution des noyaux de la LM dans l'amnésie diencephalique a été très peu rapportée d'un point de vue clinique (Mennemeier et coll., 1992; Carlesimo et coll., 2011a; 2011b). Ces quelques cas portent sur des patients dont la lésion comprend également d'autres structures thalamiques. Chez l'animal, de nombreuses études ont par contre mis en évidence une dissociation fonctionnelle et anatomique entre les différents noyaux de la LM et les autres noyaux thalamiques. En raison de leur organisation neuroanatomique et de leur connectivité, les noyaux de LM, en particulier, les noyaux ventraux (Reuniens et Rhomboïde, **ReRh**) sont en position-clé pour être impliqués dans différents processus mnésiques (Cassel et coll., 2013; Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2014; Vertes et coll., 2007). Central dans cette thèse, le rôle détaillé de ces noyaux ReRh dans la mémoire sera traité de manière approfondie dans le prochain chapitre.

Chapitre 5 : Les noyaux

Reuniens et Rhomboïde (ReRh)

Chapitre 5 : Les noyaux Reuniens et Rhomboïde

5.1. Données neuroanatomiques et structurales

Les noyaux ReRh sont classés comme noyaux non-spécifiques et appartiennent à la ligne médiane (LM) qui s'étend chez le Rat sur l'axe dorso-ventral du thalamus (Paxinos et Watson, 2007). Au niveau rostral et sur la partie la plus dorsale, les noyaux de la ligne médiane sont constitués par le noyau paraventriculaire et le noyau paraténial, tous deux situés au-dessous du fornix rostral (Figure 11). Le noyau Re se trouve plus ventralement, juste au-dessus du troisième ventricule (Groenewegen et Berendse, 1994). Au niveau antérieur, le noyau Re se divise en deux parties (gauche et droite) séparées l'une de l'autre par le ventricule. Ces deux parties se regroupent en une seule structure aux niveaux médians et postérieurs. Les noyaux périreuniens entourent le Re latéralement au niveau postérieur. À ce même niveau, juste en dessous de la limite antérieure de l'extension de l'hippocampe, le noyau Rh apparaît en deux parties et en forme d'ailes qui se rejoignent caudalement pour former une seule structure (Van der Werf et coll., 2002). Le dernier noyau de la ligne médiane, le noyau intermédiodorsal, repose juste au-dessus du Rh, séparé de celui-ci par le noyau centromédian; dans une vue coronale, ce noyau centromédian semble couvrir les noyaux ReRh à la manière d'un toit (Vertes et coll., 2012).

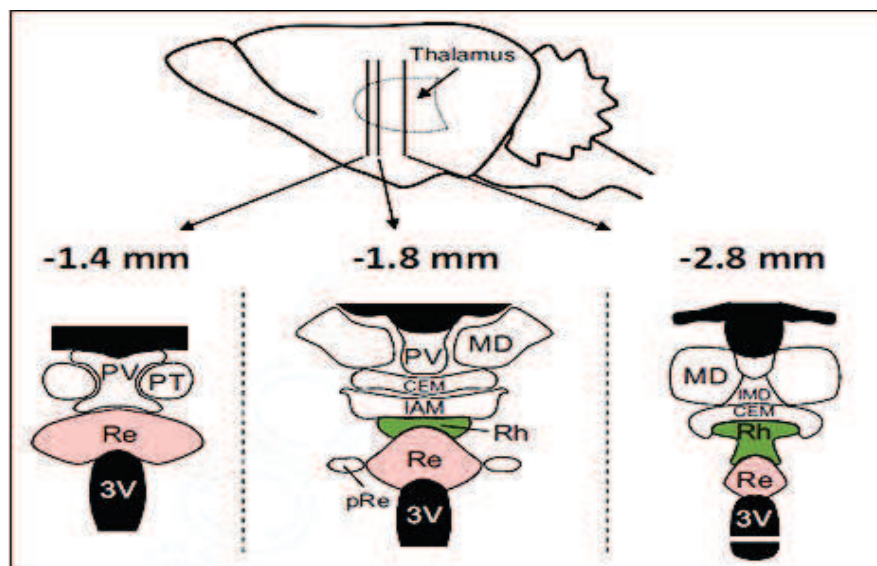


Figure 11 : Organisation neuroanatomique de la ligne médiane du thalamus (LM). Les noyaux en particulier ReRh sont représentés sur trois niveaux stéréotaxiques (à gauche le plus rostral ou antérieur). Abréviations : CEM, noyau médiocentral; IAM, noyau interanteromedial; IMD, noyau interomédiodorsal; MD, noyau médiodorsal; pRe, noyau périreuniens; PT, noyau paraténial; PV, noyau paraventriculaire; Re, noyau reuniens; Rh, noyau rhomboïde. Image adaptée de Cassel et coll., 2013.

En matière de neurotransmission, les réseaux neuronaux des noyaux ReRh utilisent les acides aminés excitateurs comme principaux neurotransmetteurs. Bokor et coll. (2002) ont injecté un traceur rétrograde (D-aspartate tritiée) dans la région CA1 de l'hippocampe, et ont observé que la plupart des neurones du Re projetant vers l'hippocampe étaient de type aspartatergiques/glutamatergiques. De plus, en utilisant des marqueurs des protéines fixant le calcium dans le thalamus, des cellules calretinine- et calbindine-positives ont été trouvées avec une distribution variée dans les noyaux LM, mais aucune neurone parvalbumine-positif n'a pu être identifié (Arai et coll., 1994). Des fibres parvalbumine-positives ont été identifiées dans les noyaux LM en petite densité; elles proviennent d'autres régions cérébrales (rev. Cassel et coll., 2013).

En ce qui concerne des connexions neuroanatomiques des noyaux ReRh, en particulier leurs efférences vers et leurs afférences en provenance d'autres structures cérébrales, elles ne seront abordées que partiellement, en concentrant notre attention sur le cortex préfrontal médian et l'hippocampe. Ce choix s'explique par le fait que l'interaction entre ces dernières structures (hip, mPFC) est essentielle pour le processus de consolidation d'un souvenir ancien. Du fait de leur connectivité, les noyaux ReRh sont idéalement situés pour avoir une forte influence bidirectionnelle sur la circulation d'informations entre l'hip et le mPFC, ainsi qu'un rôle de coordination pour de nombreuses autres fonctions cognitives associées à chacune de ces deux structures corticales (Vertes, 2006; Vertes et coll., 2007; rev. Cassel et coll., 2013) (Figure 12). Les données neuroanatomiques obtenues chez le rongeur et le primate non-humain ont mise en évidence des projections denses dans le cortex préfrontal en provenance de l'hip (Cenquizca et Swanson, 2007; Jay et Witter, 1991). Chez le Rat, ces efférences hippocampiques sont principalement d'origine ventrale au niveau de CA1 et du subiculum. Elles se terminent au niveau de l'aire médiane orbitale et des cortex PL et IL (Hoover et Vertes, 2007; Jay et Witter, 1991). Cette voie monosynaptique est constituée de connexions synaptiques asymétriques au niveau des cellules pyramidales; elles exercent une action excitatrice sur le mPFC (Jay et coll., 1996; Li et coll., 2015). En revanche, aucune projection directe en retour du mPFC vers l'hip n'a été découverte (Tierney et coll., 2004; Vertes, 2004). Si cette voie de retour direct du mPFC n'est pas présente, il est donc nécessaire que le passage d'informations en retour vers l'hippocampe soit indirect, impliquant au moins une structure relai comme pourraient l'être les noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus ReRh (Figure 12).

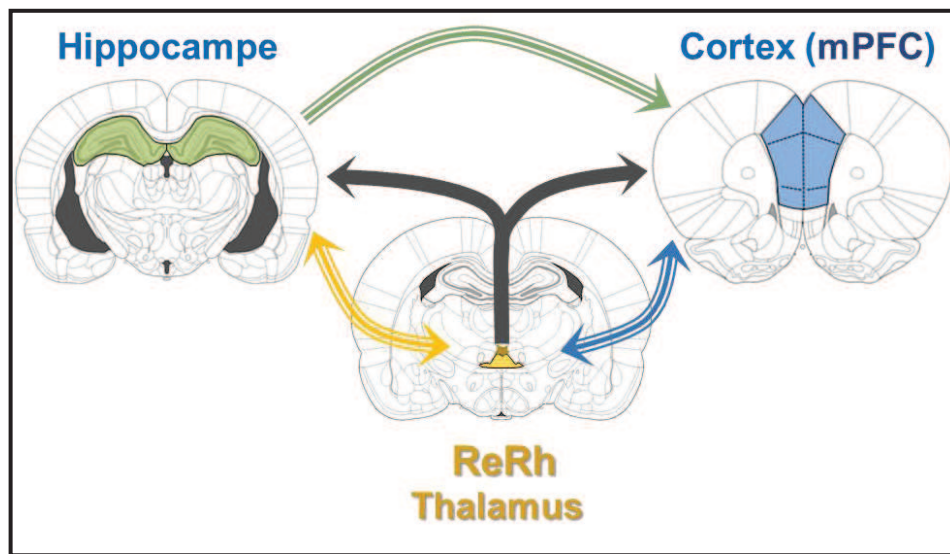


Figure 12 : Représentation schématique de l'organisation neuronale d'un circuit formé par les noyaux reuniens et rhomboïde (ReRh), l'hippocampe (HIP) et le cortex préfrontal médian (mPFC). Tandis que l'hip projette vers le mPFC, il n'y a pas de projections directes en retour du mPFC vers l'hip. Les noyaux ReRh sont connectés de façon réciproque à la fois avec le mPFC et avec l'hip, et une faible proportion des neurones du Re (entre 3 et 6%) projettent collatéralement sur les deux structures, comme cela a été décrit très récemment (Hoover et Vertes, 2012; Varela et coll., 2013).

5.1.1. Les afférences des noyaux ReRh

Le noyau Re

Les afférences du noyau Re sont d'origines variées corticales et sous-corticales. Les neurones du cortex agrulaire médian, cingulaire antérieur, infralimbique et prélimbique fourissent la plus dense innervation vers le Re (McKenna et Vertes, 2004; R. Vertes, 2002). D'autres sources afférentes proviennent du cortex orbital médian, insulaire, ectorhinal, périrhinal et rétrospénial. De plus, le noyau Re reçoit des projections afférentes du subiculum dorsal et ventral et de la corne d'Ammon mais pas du gyrus denté (McKenna et Vertes, 2004; Wouterlood et coll., 1990). Des projections proviennent des noyaux antérieurs et médians de l'amygdale, de la branche horizontale de la bande diagonale de Broca du septum latéral et des régions adjacentes du prosencéphale basal (McKenna et Vertes, 2004). D'autres projections proviennent des noyaux diencephaliques comme le noyau réticulé et le noyau géniculé latéral du thalamus, la *zona incerta*, les aires pré-optiques médianes et latérales, l'hypothalamus médian et latéral et des noyaux pré-mamillaire et supra-mamillaire. Les projections du tronc cérébral sont principalement en provenance de l'aire tegmentale ventrale, de la formation réticulée, du noyau tegmental dorso-latéral, des colliculi supérieurs, de la substance grise péri-aqueducale, du raphé, du locus coeruleus et du noyau parabrachial (Krout et coll., 2002; Vertes et coll., 2010).

Le noyau Rh

Peu d'études ont décrites les afférences sur ce noyau. En effet, la source majeure des projections afférentes provient du tronc cérébral et est de type sérotoninergique; en particulier en provenance du noyau du raphé (Robert P Vertes et coll., 2010). La formation réticulée, le noyau tegmental dorso-latéral, la substance noire, les noyaux supra-mamillaires et le locus coeruleus projettent également vers le noyau Rh (Rassnick et coll., 1998). De même, les noyaux para-brachiaux ventro-latéraux et médians projettent également vers le Rh (Saper et Loewy, 1980). De plus, le Rh reçoit des projections afférentes du mPFC : les cortex prélimbique, infralimbique, cingulaire antérieur, agrulaire médian et somato-sensoriel primaire projettent tous vers le Rh (Vertes, 2004).

5.1.2. Les efférences des noyaux ReRh

Le noyau Re

En utilisant un traceur antérograde, à savoir le *Phaseolus vulgaris leucoagglutinin* (**PHA-L**) injecté au centre du Re, Vertes et ses collaborateurs (2006) ont observé une forte concentration de fibres tracées par PHA-L dans la partie antérieure du télencéphale, le cortex piriforme antérieur, orbital médian, PL, orbital ventral, orbital ventro-latéral et le claustrum. Au niveau caudal, le marquage est très fort dans le mPFC, plus précisément dans les cortex PL et IL (couche 1 et couches 5/6). Dans la formation hippocampique dorsale, le marquage est concentré dans la couche *lacunosum-moleculare* de la région CA1 avec une absence notable de marquage au niveau de CA2, CA3 et du gyrus denté. On retrouve la même distribution du marquage au niveau ventral de la formation hippocampique. De plus, le marquage se trouve également dans le subiculum, le présubiculum et le parasubiculum au niveau de leur couche moléculaire, ainsi que dans les cortex ectorhinal, périrhinal et la partie latérale du cortex entorhinal. Plus récemment, Hoover et Vertes (2012) ont utilisé deux traceurs rétrogrades (*le Fluorogold et le Fluororuby*) pour présenter la double connectivité avec le mPFC et l'hip. Le *Fluorogold* (**FG**) a été injecté au niveau des cortex IL et PL du mPFC, alors que le *Fluororuby* (**FR**) a été injecté dans l'hip dorsal, ainsi que dans plusieurs sites de CA1 de l'hip ventral et dans le subiculum ventral. Le plus grand nombre de neurones marqués se situe au niveau médian du noyau Re où il présente sa plus grande extension selon l'axe médio-latérale et dorso-ventral. Au niveau plus antérieur du noyau Re, on observe plus de neurones efférents vers l'hip que vers le mPFC (environ 60% des neurones marqués avec le FR vs. 40% marqués avec le FG). Cette proportion est inversée au niveau le plus caudal (FG > FR). Hoover et Vertes ont aussi mis en évidence que les projections efférentes du Re vers l'hip ventral sont plus fortes que vers l'hip dorsal. De plus, le subiculum ventral reçoit davantage de projections du Re que l'hip ventral. Enfin, la double injection de ces traceurs dans le mPFC et l'hip ventral ou dans le subiculum ventral, a montré que 3 à 6 % des neurones du Re présentent un double marquage indiquant une projection collatérale vers ces deux structures. Dans une étude plus récente, Varela et ses collaborateurs (2013) ont rapporté qu'environ 8% des neurones efférents du Re étaient marqués avec un double marquage en utilisant un traceur rétrograde (la toxine du choléra (*sous-unité B*)) conjugués avec deux différents marqueurs fluorescents et injectés dans le mPFC et l'hip (Varela et coll., 2013). Dolleman-van der Weel et Witter (1996) ont montré que les populations neuronales du noyau Re, projetant vers le cortex entorhinal, le subiculum et l'hippocampe, présentent une

ségrégation neuroanatomique distincte. Vertes et ses collaborateurs (2006) ont décrit une organisation neuroanatomique rostro-caudale pour les projections corticales originaires du Re, de telle sorte que l'innervation du cortex entorhinal médian provient du Re rostral, alors que le Re caudal innerve le cortex entorhinal latéral et enfin le pRe projette principalement vers le cortex périrhinal.

Le noyau Rh

Dans l'étude de Vertes et ses collaborateurs (2006), l'injection du traceur antérograde (*PHA-L*) dans le noyau Rh entraîne une forte distribution du marquage dans la région médiane et ventro-latérale du cortex frontal, et également au niveau du striatum, notamment des régions rostro-ventrales et ventro-médianes caudales. Ces auteurs ont observé des projections efférentes du Rh vers le PFC, plus précisément vers les couches profondes du cortex prélimbique, orbito-médian, et cingulaire antérieur. Au niveau du septum, le marquage est intense dans la partie latérale et confiné aux régions bordant la commissure antérieure, y compris les noyaux accumbens. Les régions dorso et ventro-latérales du PFC, dont le cortex agrulaire médian, sont également marquées, de même que la partie rostrale du septum latéral. Au niveau de l'hippocampe dorsal, une bande dense et très étroite de fibres marquées est présente dans la couche moléculaire de CA1. Au niveau plus caudal de l'hippocampe, cette bande s'étend vers le subiculum et se limite à l'hippocampe dorsal contrairement aux projections du Re qui, au niveau le plus caudal, s'étendent également à l'hippocampe ventral. Des projections au niveau des cortex rétrosplénial, occipital, entorhinal et périrhinal ont également été observées. Enfin, des projections efférentes du noyau Rh existent aussi dans le noyau basolatéral (BLA) et basomédian (BM) de l'amygdale (pour les illustrations de ces principales projections afférentes et efférentes des noyaux ReRh, voir Cassel et coll., 2013).

5.2. Données électrophysiologiques

Au vu de la connectivité spécifique entre les noyaux ReRh, le mPFC et l'hip, ces noyaux thalamiques pourraient moduler l'activité de ces régions corticales et celles-ci pourraient en retour moduler celle de noyaux ReRh. Cette modulation de l'activité peut être étudiée en utilisant des méthodes de stimulation électrophysiologique d'une région (ex : ReRh) et d'enregistrement des potentiels des champs dans la région cible comme le mPFC et l'hip. À notre connaissance, il n'y a pas d'études sur l'effet de la stimulation du mPFC ou de l'hip sur l'activité des noyaux ReRh.

Effet modulateur sur le mPFC

Viana Di Prisco et Vertes (2006) ont étudié l'influence de la stimulation de divers noyaux de la ligne médiane du thalamus sur l'activité du mPFC. Les auteurs ont implanté, chez le rat, des électrodes stimulatrices à différents points sur l'axe dorso-ventral, et des électrodes d'enregistrement dans les cortex agrulaire médian, cingulaire antérieur, PL et IL. Ils ont montré que le noyau Re et les noyaux paraventriculaires, mais pas le noyau intéranthro-médial, provoquent un potentiel évoqué de grande amplitude dans le PL, attestant de la présence d'une transmission monosynaptique excitatrice. De plus, la stimulation du Re avec deux stimuli appariés a induit un phénomène de facilitation du premier stimulus sur le second (*paired-pulse facilitation*), notamment dans les PL et IL. Cette observation dans le mPFC indique une forme de plasticité synaptique à court terme provoquée par l'activation du noyau Re. Les auteurs ont également observé une facilitation dans l'hippocampe dorsal en appliquant le même protocole de stimulations appariées. Eleore et coll. (2011) ont récemment rapporté que les deux stimulations appariées du Re chez la souris conduisent à la facilitation de la seconde par rapport à la première réponse dans le mPFC. Ainsi, ces résultats présentent à l'évidence un effet modulateur du noyau Re sur l'activité du mPFC.

Effet modulateur sur l'hip dorsal

Le rôle des noyaux ReRh sur l'activité de l'hippocampe a été plus étudié. En 1985, Vanderwolf et ses collaborateurs ont rapporté une absence d'effet de la lésion (par radiofréquences) des noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus sur le rythme thêta de l'hip. Hirayasu et Wada (1992a, 1992b) ont activé la ligne médiane du thalamus chez le Rat par une injection d'agoniste de récepteurs glutamatergiques (NMDA). Cette activation a provoqué des convulsions généralisées avec un enregistrement électro-encéphalographique

qui caractérise les crises épileptiques du type limbique, ce qui indique de manière indirecte la facilitation de l'activation de l'hip par cette stimulation des noyaux ventraux de la ligne médian de thalamus. De même, dans un modèle d'épilepsie d'origine limbique, Bertram et ses collaborateurs (2001) ont démontré que le blocage sélectif des noyaux ventraux de la ligne médiane thalamique inhibait l'embrasement de l'activité de l'hip (CA3). Cependant, aucune de ces études n'a montré une influence directe des noyaux ReRh sur l'activité de l'hippocampe. En 1997, Dolleman-Van der Weel et ses collaborateurs ont stimulé le Re chez le rat anesthésié, et enregistré les potentiels de champs et les activités unitaires extracellulaires au niveau des cellules pyramidales et/ou des interneurons de CA1 dans l'hip dorsal et à différentes profondeurs. Une variation de l'activité enregistrée a été observée en fonction des couches : négative pour la couche *lacunosum-moleculare* (*lac-mol*), et positive entre les couches *radiatum* et *alveus*. Ces effets ne sont pas observés dans le gyrus denté, en accord avec l'absence de projections du Re vers celui-ci. D'après les auteurs, les variations négatives correspondent à des latences de connexions monosynaptiques ou di-synaptiques (Figure 13). De plus, ils ont noté une spécificité du Re rostral dans l'évocation d'une latence monosynaptique et du Re caudal dans celle d'une latence de type di-synaptique. Les latences de réponses enregistrées au niveau de CA1 étaient plus complexes et précédées par une réponse monosynaptique rapide quand les stimulations ont été effectuées au centre du Re. Ces résultats ont conduit les auteurs à proposer que la partie caudale du Re projette vers la partie rostrale du même noyau, qui projette à son tour directement vers l'hip. Cette suggestion a été confirmée par l'injection d'un traceur antérograde dans le Re caudal, traceur qui a diffusé jusqu'au Re rostral (Dolleman Van der Weel et coll., 1997). À partir de ces observations électrophysiologiques et anatomiques, Dolleman Van der Weel et ses collaborateurs ont émis trois hypothèses quant à l'effet du Re sur l'activité de l'hip : *i*) Le Re exerce un effet excitateur (monosynaptique dans sa partie rostrale et di-synaptique dans sa partie caudale) sur les neurones pyramidaux de la région CA1 via leurs connexions dendritiques au niveau de la couche moléculaire; *ii*) il existerait d'autres projections associées aux dendrites des interneurons inhibiteurs trouvés dans les couches *alveus* et *oriens* et qui se prolongent vers la couche moléculaire, alors que les connexions avec les interneurons situés dans la couche *radiatum* pourraient jouer un rôle excitateur ou inhibiteur; *iii*) Une voie de retour provient de CA1 vers le noyau Re via le subiculum. Ainsi, le Re module l'activité de l'hip via ces différentes connexions et est modulé par l'hippocampe en retour via le subiculum.

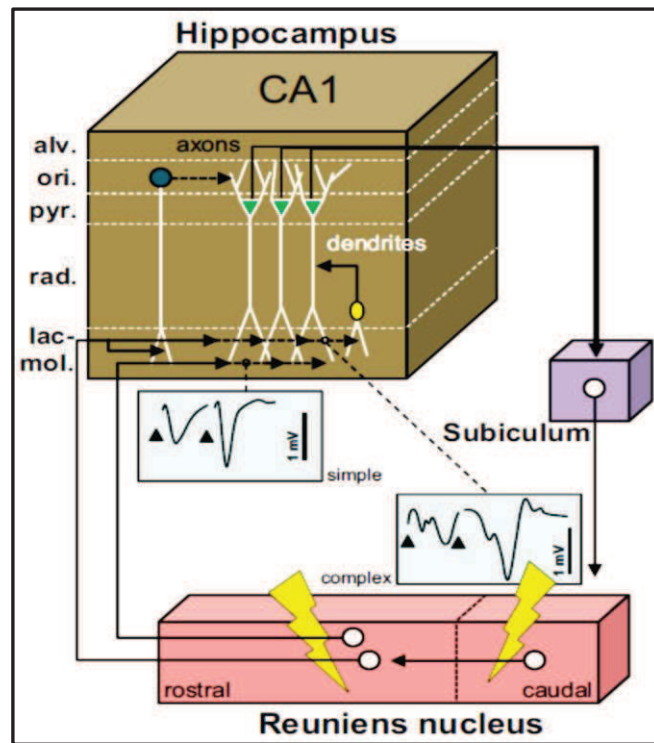


Figure 13 : Schéma de la connectivité fonctionnelle du noyau Re avec l'hip. Ce schéma s'inspire des données de Dolleman-van der Weel et coll. (1997). Les neurones du Re caudal projettent vers le Re rostral, qui forme à son tour des connexions monosynaptiques avec les dendrites de cellules pyramidales de CA1 situées dans la couche moléculaire et d'autres connexions avec des interneurons dont le soma se trouve dans la couche *radiatum* ou la couche *oriens*. La plupart des connexions sont, dans ce modèle, excitatrices, à l'exception des contacts avec les interneurons de la couche *stratum oriens*, connectés avec les cellules pyramidales de CA1, qui sont inhibiteurs. Les axones de ces dernières projettent sur le Re via le subiculum. La stimulation du Re rostral provoque, dans la couche moléculaire de CA1, un potentiel évoqué simple (monosynaptique), alors que la stimulation du Re caudal provoque un potentiel évoqué plus complexe (di-synaptique). Abréviations : alv : alveus; lac-mol : stratum lacunosum-moleculare; ori : stratum oriens; pyr : stratum pyramidal; rad : stratum radiatum. Image adaptée de Cassel et coll., 2013.

Bertram et Zhang (1999) ont comparé l'effet de la stimulation de la région CA3 et du noyau Re sur l'activité de la région CA1 de l'hippocampe. Ils ont montré une influence excitatrice comparable sur la région CA1, mais les latences de réponse étaient plus courtes après la stimulation du Re qu'après la stimulation de CA3. De plus, en utilisant deux stimulations appariées à intervalle bref, les auteurs ont montré un effet facilitateur sur le deuxième stimulus lorsqu'il est appliqué sur le Re, mais une suppression de cet effet lorsque la stimulation appariée est effectuée sur la région CA3, ce qui suggère des différences dans la plasticité des connexions avec CA1 selon l'origine de la stimulation. Morales et ses collaborateurs (2007) ont rapporté que l'activité des neurones du Re augmente durant une

activité oscillatoire de type thêta (4–8 Hz) et induite par le pincement de la queue chez le rat. De plus, ces auteurs ont noté au cours de l'activité thêta, une réduction de la latence des potentiels évoqués dans CA1 induite par la stimulation du Re. Ce qui suggère que la modulation de l'activité du Re sur l'hippocampe est couplée au rythme thêta. De plus, Zhang et Bertram (2002) ont démontré que la stimulation de la ligne médiane du thalamus entraîne aussi un effet excitateur sur l'amygdale et le cortex entorhinal (structures fortement connectées avec l'hip).

Ces interactions/modulations d'activité entre les noyaux ReRh et l'hip sont à la base d'une hypothèse physiopathologique de la schizophrénie. Lisman et ses collaborateurs (2010) ont proposé dans un modèle d'hypofonctionnement glutamatergique de la schizophrénie, que l'excitation électrique du Re par un antagoniste des récepteurs NMDA entraîne l'activation de CA1, qui activera à son tour les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (VTA). Cette élévation dopaminergique augmenterait l'embrasement du thalamus, induisant ainsi une hyperactivité de la boucle thalamo-corticale impliquée dans l'apparition des symptômes positifs de cette maladie (Lisman et coll., 2010). De même, l'administration systémique d'antagoniste des récepteurs NMDA (Kétamine, 50 mg/kg) provoque une augmentation de la décharge des neurones du Re et de la région CA1 de l'hippocampe, ainsi qu'une élévation de l'activité oscillatoire de type delta dans ces deux structures. Cette activité oscillatoire est cohérente entre les deux structures (Re et CA1) et peut être induite dans l'hippocampe par l'injection directe de kétamine dans le Re (Zhang et coll., 2012). De façon intéressante, cet effet excitateur du Re sur l'activité delta dans la région CA1 est diminuée par l'injection de muscimol dans le Re (Zhang et coll., 2012). Une étude récente parue en 2015 a confirmé ce modèle pathologique de la schizophrénie en utilisant la stimulation optogénétique du rythme delta dans le noyau Re chez le Rat (Duan et coll., 2015). Les auteurs ont injecté une opsine appelée la channelrhodopsine-2 (gène codant pour une protéine 'photo-activable') dans le Re. Ils ont installé une fibre optique au niveau de l'hippocampe dorsal pour activer les terminaisons du Re. Cette excitation sélective appliquée à la fréquence du rythme delta est suffisante à altérer la mémoire de travail, une fonction dépendant de l'hip et du mPFC, et qui se trouve être affectée dans la schizophrénie (Duan et coll., 2015).

Dans une étude récente, Jankowski et ses collaborateurs (2014) ont découvert chez le rat libre de se mouvoir des cellules de direction de la tête (*Head Direction cells*, *HD*) dans le noyau Re. Ces cellules présentaient en effet un signal électrophysiologique caractéristique des cellules *HD* mises en évidence dans d'autres régions cérébrales, comme par exemple le

thalamus antérieur et le cortex entorhinal médian. De plus, les auteurs ont découvert une population de neurones Re ne présentant pas le signal de cycle thêta HD, qui peuvent être des régulateurs susceptibles de synchroniser les autres cellules HD. Les auteurs de ce travail font l'hypothèse que les cellules HD moduleraient les régions CA de l'hippocampe, ainsi que les processus spatiaux hippocampo-dépendants (Jankowski et coll., 2014).

En conclusion, ces données électrophysiologiques et neuroanatomiques indiquent clairement l'implication des noyaux ventraux de la ligne médiane du thalamus dans la modulation de l'activité du mPFC et de l'hip. Si l'on considère que l'hip peut synchroniser son activité oscillatoire de type thêta avec le mPFC pendant les tâches mnésiques et l'apprentissage (Colgin, 2011; Siapas et coll., 2005), il est très probable que de telles synchronisations pourraient être modulées par l'activité des noyaux ReRh.

5.3. Données comportementales et cognitives

Nous traitons dans cette partie l'implication de noyaux ReRh dans certains aspects du comportement et de la cognition, et plus particulièrement, dans la formation et le rappel d'une mémoire spatiale. Comme nous avons vu dans le dernier chapitre, aucun cas clinique avec un dommage spécifique de noyaux ventraux de la ligne médian du thalamus n'a été publié. Cependant, de nombreuses évidences expérimentales chez l'animal ont indiqué l'importance de ces noyaux thalamiques dans plusieurs fonctions comportementales et dans les processus mnésiques qui sollicitent l'interaction entre l'hippocampe et le cortex préfrontal médian.

5.3.1. Processus mnésiques

5.3.1.1. Mémoire de travail

Plusieurs dispositifs peuvent être utilisés pour évaluer la mémoire de travail chez les animaux. Si la tâche impose un traitement spatial de l'information, comme dans le test du labyrinthe radial, une contribution fonctionnelle du mPFC et de l'hip est nécessaire et la coopération entre ces deux structures peut alors être engagée (Mair et coll., 1998; Porter et Mair, 1997; Vann et coll., 2000; rev. Vorhees et Williams, 2014; voir aussi le paragraphe, 3.4). Dans un protocole classique de labyrinthe à 8 branches utilisant la tâche de *win/shift* (sans délai), Hembrook et Mair (2011) ont mesuré la mémoire spatiale de travail chez des rats ayant subi une lésion excitotoxique des noyaux ReRh. La performance des animaux était affectée par la lésion ReRh. Ces résultats ont montré pour la première fois le rôle-clé des noyaux ReRh dans une tâche de mémoire de travail engageant à la fois le cortex préfrontal et l'hippocampe. Dans une étude plus récente, ces mêmes auteurs (2012) ont effectué une inactivation réversible des noyaux ReRh par l'instillation de muscimol à différentes doses. Les auteurs ont comparé, en utilisant plusieurs délais de rétention, les performances des rats dans une tâche de discrimination spatiale conditionnée dépendant de deux structures (l'hip et le mPFC), et dans une autre tâche de discrimination qui dépend de l'hippocampe seul. Leurs résultats ont indiqué que l'inactivation de noyaux ReRh à partir de faibles doses de muscimol affecte la performance des rats dans la tâche de la mémoire de travail qui nécessite l'interaction entre les deux structures. Au contraire, dans la tâche impliquant seulement l'hip, les performances des rats n'étaient altérées qu'avec une forte dose de muscimol, un effet que les auteurs ont interprété comme non spécifique du fait que l'inactivation dépassait largement les limites des noyaux ReRh (Hembrook et coll., 2012). Dans une autre étude, Vann et ses collaborateurs (2000) ont évalué, chez des rats intacts, l'expression de la protéine Fos dans plusieurs noyaux

thalamiques, dont le noyau Re, en réponse à différentes situations d'un test de mémoire spatiale de travail. Un groupe de rats était testé à l'aide d'un protocole classique dans un labyrinthe radial à 8 branches, un autre groupe était entraîné dans une salle et testé dans une autre contenant de nouveaux indices visuels, et un dernier groupe de rats était testé selon les mêmes conditions, mais en limitant l'accès à un seul bras. Les auteurs ont constaté une augmentation significative de l'expression de la protéine c-Fos dans le Re en fonction du niveau de demande d'utilisation des indices spatiaux. La même gradation a été retrouvée dans le cortex prélimbique (Vann et coll., 2000). Dans une étude plus récente, Hallock et ses collaborateurs (2013) ont également évalué l'influence de l'inactivation réversible des noyaux ReRh sur la mémoire de travail. En utilisant le test du labyrinthe en T (Figure 14), ces auteurs ont testé la performance des rats dans une tâche de discrimination (visuo-tactile) conditionnée dépendante de la mémoire de travail (*working memory-dependent conditional discrimination: CDWM*) en comparaison avec un autre groupe de rats testés dans une tâche de discrimination conditionnée n'impliquant pas la mémoire de travail (*conditional discrimination: CD*). De manière intéressante, l'inactivation des noyaux ReRh à différentes doses de muscimol (0.125, 0.25, 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), a provoqué des déficits seulement dans la tâche de mémoire de travail. Les auteurs ont suggéré que ces noyaux sont impliqués dans une tâche lorsque la réalisation de celle-ci dépend d'un circuit hippocampo-préfrontal (Hallock et coll., 2013). Ainsi, l'ensemble de ces études montrent le rôle-clé des noyaux ReRh dans la mémoire spatiale de travail, fonction impliquant notamment une interaction entre l'hippocampe et le cortex préfrontal médian.

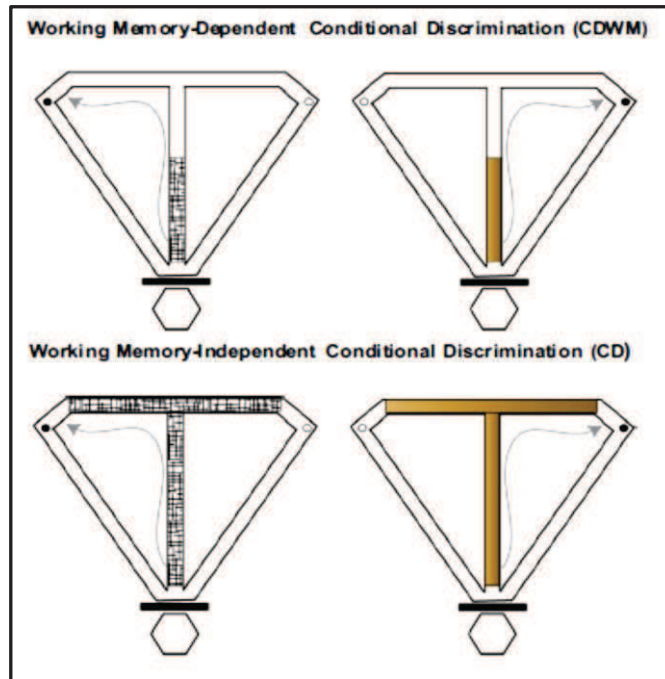


Figure 14 : Schéma des tâches de discrimination conditionnée dépendant de la mémoire de travail (en haut), et de discrimination conditionnée n'en dépendant pas (en bas). Le schéma présente le protocole du labyrinthe en T utilisé par Hallock et coll. (2013). Au cours de chaque tâche, les rats devaient passer dans le bras central, choisir un bras-cible qui contenait du chocolat en poudre comme récompense (points noirs) ou un bras sans récompense (points claires) et retourner au point du départ via les bras de retour. Les rats devaient localiser le bras-cible en fonction de la texture et de l'apparence de la planche au sol du dispositif (qui pouvait être retournée sur l'un ou l'autre des côtés entre les essais, à gauche une grille, à droite du bois). Pour la tâche de discrimination conditionnée ne nécessitant pas la mémoire de travail (en bas), le matériel utilisé pour la discrimination visuo-tactile couvre le bras central et les deux bras de choix. Pour la tâche de (CDWM) ou la discrimination conditionnée dépendant de la mémoire de travail (en haut), le matériel ne couvre que la première moitié du bras central, ainsi le rat doit maintenir les informations sur la texture du sol en mémoire dans la partie non couverte par le motif avant qu'il décide de choisir le bras cible et qu'il ne soit récompensé avec le chocolat. Figure extraite de Hallock et coll. (2013).

5.3.1.2. Mémoire spatiale de référence

La piscine de Morris est largement utilisée pour mesurer la mémoire spatiale de référence chez le rongeur (voir paragraphe 3.4). Ce dispositif a notamment été utilisé pour évaluer l'influence de l'inactivation réversible ou de la lésion des noyaux ReRh sur la mémoire spatiale de référence chez le Rat. Davoodi et ses collaborateurs (2009) ont utilisé une version de ce test pour évaluer l'effet de l'inactivation de ces noyaux à l'aide de la tétracaïne sur la mémoire spatiale de la référence. L'inactivation des noyaux ReRh avant la phase d'entraînement a altéré la performance durant l'acquisition sans avoir un effet sur le test de rétention passé 24h plus tard. De plus, l'inactivation juste après le dernier essai de

l'acquisition ou 5 min avant le test de rappel a affecté la mémoire récente évaluée à 24h. Ces résultats, observés dans une tâche fortement hippocampo-dépendante, suggèrent l'implication des noyaux ReRh dans la mémoire spatiale de référence. Cependant, dans cette étude le guide-canule inséré a produit une très grande lésion unilatérale dans l'hippocampe dorsal et le thalamus dorsal. Suite à cette lésion très étendue, les rats témoins n'avaient pas une performance au-dessus du niveau du hasard pendant les tests de rétention à 24h (Davoodi et coll., 2009), ce qui réduit considérablement la portée de ces résultats. Dolleman-van der Weel et coll. (2009) ont montré plus clairement une implication des noyaux ReRh dans la mémoire spatiale de référence. Ces auteurs ont étudié l'effet de la lésion excitotoxique (irréversible) du noyau Re sur le rappel d'une mémoire évaluée 24h après l'acquisition, en comparaison à une lésion du thalamus médiodorsal ou de l'hippocampe. Seuls les animaux avec une lésion thalamique médiodorsale ou hippocampique présentaient un déficit d'acquisition comparativement aux rats contrôles. Lors du test de rétention, seuls les rats ayant une lésion de l'hippocampe présentaient un déficit de mémoire. Malgré l'absence d'un déficit chez les rats ayant subi la lésion du Re, l'analyse des stratégies mises en œuvre pendant le test de rétention a indiqué que les rats lésés au niveau du Re s'orientaient initialement vers la position de la plateforme, mais ne persistaient pas dans la recherche de celle-ci, contrairement aux rats contrôles. Les auteurs ont suggéré que le noyau Re pourrait être impliqué dans la flexibilité comportementale ou l'inhibition d'un comportement inutile (Dolleman-van der Weel et coll., 2009).

Au laboratoire, Loureiro et coll. (2012) ont voulu éclaircir le rôle des noyaux ReRh dans la mémoire spatiale de référence récente et ancienne chez des rats. Après avoir réalisé la lésion excitotoxique des noyaux ReRh par instillation de NMDA ($3 \times 0.1\mu\text{l}$), les rats étaient entraînés pendant 8 jours dans la piscine de Morris, puis testés 5 jours ou 25 jours après l'acquisition, ceci pour évaluer le rappel récent ou ancien, respectivement. Comme dans l'étude de Dolleman-van der Weel et coll. (2009), Loureiro et collaborateurs n'ont pas observé un effet de la lésion ReRh sur l'acquisition ou le rappel récent de la localisation de la plateforme. En revanche, le test à 25j a mis en évidence un déficit de mémoire ancienne chez les rats ayant subi la lésion des ReRh; ceux-ci se sont montrés incapables de rappeler l'emplacement de la plateforme cachée. Pour savoir si le déficit induit par cette lésion ReRh était lié à un problème de récupération d'une mémoire ancienne ou à un déficit de consolidation à long terme des informations récemment acquises, Loureiro et collaborateurs ont utilisé une inactivation fonctionnelle réversible des noyaux ReRh avant le test de rappel à

5j et à 25j. Il n'y avait pas d'impact de cette inactivation des noyaux ReRh sur la performance des rats aux deux tests de rappel. Ainsi, les noyaux ReRh ne seraient pas impliqués dans le rappel d'une mémoire ancienne ou récente, mais plutôt dans la persistance à long terme d'une mémoire spatiale (Loureiro et coll., 2012). Cependant, les auteurs pensent que l'implication de ces noyaux dans le processus de récupération d'une mémoire ancienne n'est pas totalement exclue, parce ce qu'ils ont également observé, chez des rats non-opérés, une activation des noyaux ReRh lors de rappel ancien (25j), comme en attestait une forte augmentation de l'expression de la protéine c-Fos. Ainsi, l'absence d'un effet de l'inactivation aiguë des noyaux ReRh sur le rappel ancien pourrait être expliquée par l'engagement d'un mécanisme alternatif via la compensation du système impliqué dans ce processus (Cassel et coll., 2013). En effet, un déficit similaire a été observé après lésion excitotoxique de noyaux intralaminaires du thalamus, à savoir un déficit du rappel spatial ancien à 25j mais pas à 5j en utilisant le même protocole de la piscine de Morris (Lopez et coll., 2009). Ainsi, s'il est évident que ces deux groupes de noyaux thalamiques 'non-spécifiques' sont impliqués dans la consolidation à long terme et/ou le rappel d'un souvenir spatial, il reste à clarifier si ces noyaux sont impliqués de manière coopérative ou alternative.

5.3.1.3. Consolidation d'autres types de mémoire

La consolidation au niveau des systèmes comprend des processus *offline* et un échange d'informations qui se déroule progressivement entre l'hippocampe, qui est le support de la mémoire récente, et le cortex préfrontal médian engageant le rappel d'une mémoire ancienne (Frankland et Bontempi, 2005). Au vue des évidences électrophysiologiques et de la connectivité des noyaux ReRh avec ces deux structures (mPFC, hip) ceux-ci pourraient être impliqués dans les processus qui demandent une interaction fonctionnelle entre l'hip et le mPFC, telle que dans la consolidation de la mémoire. Ainsi, une lésion au niveau des noyaux ReRh devrait affecter la réorganisation spatio-temporelle des traces mnésiques, ainsi que le transfert d'une mémoire nouvellement formée dépendante de l'hippocampe vers une mémoire ancienne dépendante du cortex préfrontal.

Dans le paragraphe précédent, nous avons montré le rôle des noyaux ReRh dans la formation, la consolidation et le rappel d'une mémoire spatiale évaluée notamment dans la piscine de Morris (ex: Loureiro et coll., 2012). D'autres types de mémoires à long terme ont également été évalués chez des animaux ayant subi une lésion des noyaux ReRh. Davoodi et coll. (2011) ont étudié l'effet de l'inactivation du noyau Re chez le Rat sur l'acquisition, la consolidation

et la restitution d'une mémoire de peur dans un test d'évitement passif : le rat devait éviter l'entrée dans le compartiment sombre (le préféré) et rester dans le compartiment éclairé après avoir reçu des chocs électriques dans le compartiment sombre. Lorsque l'inactivation avait eu lieu 5 min avant l'acquisition, la rétention testée à 24 h était altérée. Lorsque l'inactivation était réalisée 5 min après l'acquisition ou 5min avant le test de rappel, les performances de rappel étaient également dégradées. Par contre, lorsque cette l'inactivation avait lieu à des délais plus longs, par ex. 90 min ou 360 min après l'acquisition, les performances de rappel étaient ensuite normales. Ces résultats suggèrent l'implication du noyau Re dans l'acquisition, la consolidation précoce et la récupération d'une mémoire associative en lien avec une réaction émotionnelle (Davoodi et coll., 2011). Les auteurs proposent que la tâche sollicite un circuit comprenant le cortex préfrontal médian, l'hippocampe, l'amygdale et le thalamus, dont les noyaux ReRh joueraient un rôle essentiel. Notons que par rapport à cette hypothèse de circuit, Zhang et coll. (2011) ont montré une augmentation de l'expression des gènes précoces *c-fos* et *arc* après l'acquisition et la consolidation d'une réponse d'évitement passif dans les noyaux baso-latéraux et latéraux de l'amygdale, CA1 et CA3 de l'hippocampe, et dans les cortex prélimbique et infralimbique du mPFC (structures fortement connectées aux noyaux ReRh). Dans une étude récente, Xu et Südhof (2013) ont indiqué l'implication du noyau Re dans la généralisation de la mémoire à long terme évaluée dans un test de conditionnement de peur au contexte chez la souris. Les auteurs ont montré que l'inactivation du noyau Re, ou des neurones du mPFC projetant directement vers le Re, par un inhibiteur du fonctionnement synaptique (*toxine tétanique*), a entraîné une augmentation d'expression de la peur au contexte fortement dégradé (augmentation de la généralisation), indiquant une perte de spécificité de la mémoire. Ces auteurs ont également montré que l'activation du noyau Re obtenue par un knock-down de l'expression de *Neuroigin- 2* a provoqué une augmentation de l'expression de c-Fos dans l'hippocampe (CA1), mais aussi dans le cortex préfrontal médian pendant l'acquisition et la formation de la mémoire contextuelle. À l'inverse de cette activation, l'instillation de toxine tétanique dans le Re a induit une diminution de l'expression de c-Fos dans la CA1 et le cortex cingulaire antérieur du mPFC, ce qui indique que le Re régule l'activité de l'hip et celle du mPFC de façon dynamique lors de l'acquisition d'une peur conditionnée au contexte. Ainsi, le noyau Re contrôle les attributs d'une mémoire, en modifiant les informations communiquées entre le mPFC et l'hip, afin de faciliter ultérieurement la réponse aux nouvelles situations qui comportent des caractéristiques similaires à celles du contexte d'une expérience passée (Xu et Südhof, 2013).

5.3.1.4. Flexibilité comportementale et changement de stratégie

Nous avons vu précédemment que Dolleman-van der Weel et coll. (2009) ont montré que la lésion du noyau Re n'altérerait pas le rappel récent à 24h après l'acquisition, cependant la performance de ces rats étaient plus faible que celle des rats contrôles, les auteurs ont expliqué que les rats lésés présentaient une stratégie de recherche très différente de celle observée chez les rats contrôles. Ces auteurs ont proposé que la lésion du Re n'influence pas la mémoire spatiale hippocampo-dépendante elle-même, mais plutôt l'utilisation d'une stratégie adéquate. Dans notre laboratoire, Cholvin et ses collaborateurs (2013) ont évalué l'influence de l'inactivation des noyaux ReRh sur la flexibilité comportementale dans le contexte d'un apprentissage spatial. Ces auteurs ont utilisé un nouveau dispositif expérimental développé au sein de laboratoire, à savoir le labyrinthe en double H (pour plus de détails, voir Cassel et coll., 2012). Les rats étaient entraînés pour trouver une plateforme cachée dans un bras cible en suivant une séquence de navigation de type procédurale ou égocentrique (tourner à droite puis à gauche à partir d'un point de lâcher constant). Deux tests de rappel ont été effectués en décalant le point du lâcher de 60 cm vers la gauche. Ainsi, face à cette nouvelle position de départ, les rats devaient adapter leur stratégie de recherche et faire preuve de flexibilité comportementale pour trouver la plateforme. Les auteurs ont indiqué qu'environ 80% des rats ayant subis une inactivation des noyaux ReRh (0.70 nmol de muscimol) ont d'abord utilisé la stratégie égocentrique (entrer dans un bras non-cible qui correspond à la même séquence de mouvements), mais ne pouvaient pas ensuite poursuivre leur recherche en utilisant une stratégie appuyée sur le souvenir de l'emplacement de plateforme. En termes de performances, un déficit comparable a été relevé chez les rats ayant subi une inactivation bilatérale du mPFC ou de l'hippocampe dorsal. Ainsi, Cholvin et collaborateurs ont suggéré que cette tâche nécessite un circuit distribué dans lequel *i*) le mPFC assure l'adaptation d'une stratégie adéquate en réponse à un feedback négatif, *ii*) l'hippocampe assure la mise à disposition des informations spatiales pour localiser la plateforme, *iii*) les noyaux ReRh pourraient soit coordonner la dynamique des interactions entre le mPFC et l'hippocampe, soit booster le mPFC pour le conduire à engager l'hippocampe (pour plus de détails sur le protocole et le circuit proposé voir Cholvin et coll., 2013).

5.3.2. Autres Processus

Nous avons vu précédemment l'implication des noyaux ReRh dans différents processus mnésiques, notamment dans ceux qui nécessitent une contribution fonctionnelle de deux structures, l'hippocampe et le cortex préfrontal médian, mais également l'amygdale. Dans ce paragraphe nous résumons l'implication des noyaux ReRh dans la régulation de processus physiologiques et comportementaux comme les rythmes biologiques, la reproduction, l'alimentation, la nociception, la vigilance, le stress et l'anxiété.

- *Rythmes biologiques, reproduction et alimentation.* Des études ont été réalisées chez le hamster montrant un rôle du noyau Re dans l'encodage et le rappel de la longueur du jour, ainsi que dans l'interruption de la période photo-réfractaire en lien avec la reproduction (Freeman et Zucker, 2001; Teubner et Freeman, 2007; Teubner et coll., 2008). Ces observations ont fait des noyaux ReRh une cible expérimentale dans les études sur les actions de la mélatonine (ou hormone du sommeil sécrétée par la glande pinéal en fonction de la photopériode). En effet, une diffusion directe de la mélatonine dans le Re réduit de 80% le poids des testicules chez le hamster (Badura et Goldman, 1992). D'autres données ont montré la présence de projections directes de la rétine vers la ligne médiane du thalamus (dorsale et ventrale), mais aussi les noyaux intralaminaires chez des singes du genre Ouistiti (Cavalcante et coll., 2005). De telles projections ont également été observées dans le noyau médiodorsal du thalamus du Cobaye des rochers une espèce de rongeurs (Nascimento et coll., 2010). Il semble que ces projections pourraient être impliquées dans la régulation du rythme circadien. Le noyau Re pourrait aussi affecter les adaptations circadiennes et saisonnières relatives à la prise alimentaire. Par exemple, une lésion du Re chez le hamster sibérien entraîne une augmentation de la prise de poids pendant les photopériodes les plus longues, et une inhibition de perte de poids à la suite des photopériodes les plus courtes (Purvis et Duncan, 1997). Mais ce dernier effet n'a été pas répliqué dans une étude plus récente (Leitner et Bartness, 2011). Dans un modèle d'obésité chez le Rat, 1 rat 'obèse' sur 3, qui avait une concentration d'insuline plasmatique très forte, a présenté une diminution de 30 % de l'expression du récepteur alpha 2 dans le noyau Re en comparaison avec d'autres régions cérébrales. Ce qui suggère que cette modification synaptique dans le noyau Re pourrait être associée à un trouble de l'alimentation (Wilmot et coll., 1988).

- *Nociception* Les noyaux ReRh sont impliqués également dans la nociception. Gholami et al. (2006) ont rapporté une diminution de l'expression du c-Fos dans le noyau ReRh à la suite

d'une stimulation électrique de la peau ou des muscles portant des fibres nociceptives qui projettent vers le thalamus chez le rat anesthésié. Ce qui indique une association entre l'inhibition de la ligne médiane thalamique et l'intégration des entrées nociceptives. Au contraire, une augmentation de l'expression du gène *c-fos* était observée dans le noyau Re après une stimulation nociceptive et périphérique chez un rat anesthésié (Bullitt, 1990). Dostrovsky et Guilbaud (1990) ont démontré qu'une petite population de neurones des noyaux ReRh était sélectivement activée après application de stimuli nociceptifs par la pression dans un modèle arthritique chez le rat. Cependant, il n'y avait pas d'effets de la lésion des noyaux de la ligne médiane thalamique sur les mesures des seuils de la pression mécanique sur les pattes comme il a été observé avec la lésion du thalamus dorsal et médiodorsal (Wilson et coll., 2008).

- *Attention, stress et anxiété* Les implications des noyaux ReRh dans l'attention, l'état d'éveil et le stress ont également été rapportées. En effet, des données basées sur des approches anatomiques et des expériences de stimulation avaient montré l'implication des noyaux de la ligne médiane et intralaminaires dans l'état d'éveil et dans l'attention (Groenewegen et Berendse, 1994; Van der Werf et coll., 2003). Or, Peyron et Tighe (1998) ont montré que l'orexine hypothalamique A et B (nommée aussi hypocréatine 1 et 2, deux neurotransmetteurs polypeptidiques stimulant le système d'éveil) exerce un effet excitateur sélectif sur les noyaux de la ligne médiane et les noyaux intralaminaires. L'implication des noyaux ReRh dans le stress a également été démontrée dans certaines études. Par exemple, Cullinan et coll. (1995) ont montré chez le rat, une augmentation d'expression du gène précoce *c-fos* dans plusieurs régions du cerveau, dont les noyaux ReRh, après une longue période de natation forcée (10 min) ou après une situation de contrainte. Cette activation de *c-Fos* était plus évidente dans d'autres régions que dans les noyaux ReRh, montrant une implication modérée dans la réponse au stress. Plus récemment, Liu et Aghajanian (2008) ont montré qu'une exposition chronique à un stress modéré a provoqué un déficit de l'effet des hypocréatines sur la réponse des courants excitateurs post-synaptiques spontanés (*sEPSCs*) évoqués et enregistrés dans le mPFC. Ce déficit était associé à une atrophie au niveau dendritique des neurones pyramidaux du mPFC, suggérant que cet effet du stress sur la stimulation du mPFC pourrait être à l'origine d'une perturbation des entrées provenant de la ligne médiane et des noyaux intralaminaires du thalamus. Les neurones de ces noyaux thalamiques innervent normalement les dendrites apicales des neurones du cortex préfrontal. De telles perturbations thalamo-corticales induites par le stress et affectant l'excitation du

mPFC pourraient être à l'origine de certaines maladies psychiatriques comme la schizophrénie (Lambe et coll., 2007). Il est à noter toutefois que Loureiro et coll. (2012) n'ont pas observé d'influence de la lésion ou de l'inactivation des noyaux ReRh sur l'anxiété ou l'activité d'exploration dans un test de champ ouvert (*open field*). Dans une autre étude, Carvalho-Netto et coll. (2010) ont testé l'effet des lésions du noyau Re et du noyau antéro-médian du thalamus sur la réponse défensive après l'exposition à un facteur de stress naturel (prédateur) chez le rat. Chacune de ces structures reçoit des afférences du système défensif hypothalamique. Pendant l'entraînement (mise en contact avec le prédateur), la latence d'immobilité tonique était normale. Lorsque les rats étaient exposés ultérieurement au contexte associé aux indices d'un prédateur, les rats ayant subi une lésion du noyau thalamique antéro-médian étaient affectés (absence de réponse d'immobilité traduisant la peur), alors que les rats avec une lésion Re ne présentaient pas ce déficit. Cependant, la combinaison des lésions du noyau Re et du noyau antéro-médian thalamique a provoqué un déficit plus marqué qu'avec la seule lésion du noyau antéro-médian seul (Carvalho-Netto et coll., 2010). Ces observations suggèrent que le Re pourrait avoir des effets indirects sur ce type de mémoire associative, plutôt que sur la régulation de la réponse au stress.

Enfin, Prasad et coll. (2013) ont évalué l'effet de la lésion du noyau Re sur le contrôle ou l'inhibition des fonctions exécutives liées à l'attention et à la motivation. Ces auteurs ont utilisé le test du temps de réaction sérielle à 5 choix, un test dépendant du cortex préfrontal, pour évaluer l'attention visuo-spatiale soutenue et le contrôle inhibiteur dans lequel les rats doivent détecter et répondre à de brefs stimuli visuels présentés aléatoirement parmi cinq emplacements. Ainsi, les rats doivent inhiber les réponses inappropriées en prévision du stimulus visuel (réponses prématurés), ainsi qu'éviter d'insister juste après avoir produit une réponse correcte (réponses persévératives). Les déficits dans ces formes d'inhibition conduisent à l'impulsivité ou à la compulsivité, respectivement. Prasad et coll. ont montré que les rats ayant subi une lésion du noyau Re présentent des réponses avec moins de persévération ou d'omission. De plus, les rats lésés ont présenté une impulsivité plus marquée, caractérisée par l'incapacité à inhiber les réponses prématurées comparativement aux rats contrôles. Un tel effet pourrait s'expliquer par une augmentation de la motivation (Prasad et coll., 2013). L'ensemble de ces résultats suggère que les noyaux ReRh pourraient être impliqués dans des processus de contrôles inhibiteurs du comportement, en particulier dans l'inhibition de comportements impulsifs et dans le contrôle de la motivation, plutôt que dans l'attention elle-même. Une partie de cette influence peut impliquer les projections

majeures des noyaux ReRh vers l'hippocampe ventral, une région impliquée dans des processus de contrôle inhibiteur (Abela et coll., 2013), mais aussi les projections du Re vers le mPFC, qui lui est impliqué dans l'attention et le contrôle des fonctions exécutives (Maddux et Holland, 2012).

Chapitre 6 : Environnement Enrichi (EE) et restauration fonctionnelle

Chapitre 6 : Environnement Enrichi (EE) et restauration fonctionnelle

6.1. Description générale

Dans la littérature, il a été largement rapporté que l'environnement enrichi (EE) peut améliorer la performance des rats dans des tâches d'apprentissage et de mémorisation. Le milieu enrichi offre aux animaux l'opportunité d'exercer davantage d'activités physiques, sociales et cognitives. Cette augmentation des stimulations cognitives et sensori-motrices est souvent associée aux changements fonctionnels et structuraux dans plusieurs régions du cerveau (rev. Mohammed et coll., 2002). A l'aide de modèles animaux utilisés pour simuler certaines maladies chez l'Homme, l'impact du milieu enrichi sur le cerveau a été utilisé comme un outil thérapeutique pour contrebalancer des déficits comportementaux et cognitifs induits par des lésions cérébrales ou par la dépendance aux drogues (pour revues voir Hannan, 2014; Laviola et coll., 2008; van Praag et coll., 2000).

L'effet du milieu enrichi sur le cerveau a été rapporté pour la première fois par Charles Darwin en 1874 lorsqu'il décrit l'augmentation globale du volume cérébral chez les lapins sauvages en comparaison à celui des lapins domestiques (rev. Mohammed et coll., 2002). En 1947, Donald Hebb découvre que les rats élevés à proximité des humains, un peu comme s'il s'agissait d'animaux de compagnie, résolvent mieux des problèmes de labyrinthe que les rats élevés au laboratoire en cage individuelle. Donald Hebb a été le premier à développer le concept d'environnement enrichi, notamment en décrivant 'l'environnement libre', une condition dans laquelle les rats peuvent se déplacer librement dans une grande pièce. Il a émis l'idée que l'expérience et l'enrichissement de l'environnement influencent l'organisation neuronale du cerveau (Hebb, 1949). Depuis lors, l'idée que le cerveau peut être changé par des stimulations environnementales, et en particulier, par un environnement enrichi est reconnue. Dans les prochains paragraphes, seront discutées les différentes modifications neuronales, neurochimiques, comportementales et cognitives liées à l'influence de l'environnement enrichi.

6.2. Les différents types d'environnement enrichi chez le rongeur

Au laboratoire, les conditions d'élevage des rats peuvent être très variées en fonction du protocole expérimental utilisé pour la recherche. Les chercheurs, dans les premières expériences explorant l'effet du milieu enrichi sur le cerveau et les capacités cognitives chez le rongeur, avaient utilisé des conditions d'élevage enrichi similaires à celles utilisées

aujourd'hui dans la plupart des laboratoires de recherche (Bennett et coll., 1969; Rosenzweig et coll., 1968; Susser et Wallace, 1982). D'une manière générale, l'environnement enrichi, utilisé dans différents protocoles expérimentaux, en comparaison aux conditions d'élevage standard, comprend la combinaison de trois composantes, à savoir *i)* un grand espace pour faciliter l'activité physique et sensorimotrice, *ii)* un groupe social pour augmenter les interactions entre les animaux et *iii)* un environnement complexe et changeant donnant l'opportunité aux rats de découvrir différents objets et différentes configurations d'objets pendant la période d'exposition au milieu. La localisation des sources alimentaires et hydriques varie régulièrement, ce qui constitue un facteur supplémentaire de stimulation. De plus, les animaux peuvent exercer une activité physique volontaire sur des roues d'activité. Les effets de ces conditions d'élevage enrichi sont comparés à ceux d'un élevage standardisé, ce dernier ne présentant que très peu de stimulations environnementales et sociales (ex: 2 ou 3 rats dans une cage standard sans objets). Certains chercheurs ont également utilisé des conditions d'isolement comme conditions contrôles vis-à-vis de l'impact du milieu enrichi. Néanmoins, très peu d'études ont employé ces deux types de conditions (standard et isolé) comme contrôles des conditions enrichies. Dans une revue récente, Simpson et Kelly (2011) ont indiqué que les conditions d'isolement ont été préférées dans la plupart des laboratoires pour comparer leurs effets à ceux de l'environnement enrichi. D'après leurs données, parmi les nombreuses publications parues entre les années 1962-2009 sur l'effet du milieu enrichi chez le Rat, 45% des chercheurs avaient utilisé la condition d'isolement, alors que 26% ont utilisé la condition standard de 2 à 3 rats par cage, 10% utilisant plus de 3 rats dans la condition standard et 19 % employant ces deux types de conditions (isolé et standard). Ainsi, il existe une grande variabilité dans l'utilisation d'un protocole d'enrichissement du milieu enrichi, mais aussi dans le choix des groupes contrôles. En effet, en ce qui concerne le milieu enrichi, cette variabilité est due à plusieurs facteurs : taille et type de cage d'enrichissement, nombre d'animaux élevés dans la cage, type d'objets utilisés, fréquence de changement des objets, type d'enrichissement physique ou social, période d'exposition à l'environnement enrichi, âge des animaux au moment de l'exposition, et enfin sexe et souche des rats utilisés (pour plus de détails sur ces facteurs, voir Simpson et Kelly, 2011). Cela suggère la nécessité d'une standardisation de l'EE utilisé dans les laboratoires afin de pouvoir comparer les résultats entre eux. Il est à noter aussi que, dans des modèles animaux de lésion cérébrale, l'environnement enrichi peut être appliqué soit avant l'opération, soit après (ex: Jacqmain et coll., 2014). Dans le cadre de ma thèse, nous avons utilisé un protocole d'EE post-opératoire, parce que nous avons considéré que l'usage de l'environnement enrichi comme procédure

thérapeutique avait plus de pertinence qu'une exposition avant l'opération au titre, par exemple, de la constitution d'une réserve cognitive (Pang et Hannan, 2013; Will et coll., 2004). Le protocole détaillé appliqué dans cette expérience est explicité dans les Matériels et Méthodes, au paragraphe 3.2.3.

6.3. Changements comportementaux

6.3.1. Poids corporel et masse cérébrale

De multiples effets de l'environnement enrichi sur le poids corporel ou cérébral ont été publiés dans la littérature. Dans les travaux initiaux centrés sur l'effet des stimulations environnementales chez le Rat, il a été observé une différence du poids du cerveau chez des rats élevés en isolement ou en condition appauvrie par rapport à des rats élevés dans un EE (Bennett et coll., 1969; Susser et Wallace, 1982). Il a également été noté que ces différences ne pouvaient être attribuées à des différences du poids corporel entre les animaux élevés dans un environnement enrichi et les rats isolés ou élevés dans un environnement standard. En général, les animaux de la condition enrichie qui présentent un cerveau de poids supérieur sont caractérisés par un poids corporel plus faible que celui des animaux isolés ou standards (Mohammed et coll., 2002; voir aussi Simpson et Kelly, 2011). Susser et Wallace (1982) ont rapporté que les ratios, poids cérébral / poids corporel ne différaient pas significativement entre les rats standards et les rats isolés, alors que le poids du cerveau de rats exposés à un milieu enrichi était augmenté indépendamment du poids du corps. Cependant, la diminution du poids corporel après l'exposition au milieu enrichi n'a été pas toujours rapportée dans la littérature. Par exemple, dans un modèle traitant de l'influence de la malnutrition sur le développement du cerveau, Carughi et coll. (1989) ont étudié l'effet du milieu enrichi néonatal sur la capacité de réhabilitation nutritionnelle chez des ratons allaités par des mères malnutries. Le milieu enrichi n'avait pas d'influence sur le poids des rats en cours de réhabilitation nutritionnelle en comparaison avec leurs homologues élevés en condition standard, mais il avait un effet bénéfique sur le développement des dendrites du cortex cérébral chez des rats alimentés avec un régime alimentaire riche en protéines. D'autres études plus récentes ont également montré une influence similaire de l'EE sur le poids corporel. Ainsi, Spangenberg et coll. (2005) ont noté une diminution de la prise de poids chez des rats élevés en conditions enrichies pendant seulement 4 semaines en comparaison à des rats isolés, cette diminution n'étant pas liée à une diminution de la prise alimentaire, mais à l'augmentation des activités physiques favorisées par l'environnement enrichi. Cet effet sur le

poids corporel a été démontré chez les rats mâles comme chez les rats femelles élevés dans un environnement enrichi après sevrage (Peña et coll., 2006). Zaias et coll. (2008) ont étudié l'influence de différentes conditions d'élevage sur la croissance et le développement de rats jeunes adultes. Les auteurs ont indiqué que l'interaction entre l'enrichissement physique et l'enrichissement social entraîne une diminution de poids et de prise alimentaire en comparaison avec les rats bénéficiant seulement d'un enrichissement social ou de rats élevés en condition appauvrie. Cette diminution est corrélée avec le nombre de rats utilisés dans l'environnement enrichi. Les auteurs ont aussi suggéré que cette diminution de la prise de poids corporel chez les rats enrichis pouvait être due à certains facteurs tels que la compétition pour la nourriture, l'augmentation d'activités physiques, le stress, les maladies, ou encore la modification du métabolisme (Zaias et coll., 2008). Les études effectuées chez des rats plus âgés montrent des influences similaires sur le poids. Harati et coll. (2011, 2013) ont indiqué que l'exposition à un milieu enrichi pendant toute la durée de la vie chez des rats, soit jusqu'à environ 24 mois, a produit une diminution significative du poids (environ 70 g) comparativement aux rats contrôles (groupes en paires). Cet effet ne se retrouve pas chez des rats jeunes enrichi pendant 3 mois ni chez des rats d'âge moyen subi à un élevage enrichi pendant 12 mois. Enfin, Konkle et coll. (2010) indiquent que la prise de poids corporel est plus grande chez les rats enrichis Long-Evans que chez les rats enrichis Sprague-Dawley. Ainsi, on constate une variabilité de l'effet du milieu enrichi sur le poids corporel en relation avec l'hétérogénéité des protocoles utilisés, la souche et le sexe des rats, la période d'enrichissement, les manipulations chirurgicales et la présence ou non d'une lésion cérébrale.

6.3.2. Activités locomotrices

L'activité locomotrice spontanée peut être utilisée comme un simple indice du traitement de l'information ou de l'apprentissage qui reflète la capacité de l'organisme à s'adapter efficacement à son environnement (Elliott et Grunberg, 2005). Il a été démontré que chez les rats élevés dans des conditions d'isolement se développe un type de comportement dit 'syndrome de l'isolement social' associé à certaines perturbations comportementales comprenant une hyperactivité quand les rats sont exposés à un nouvel environnement et une incapacité d'adaptation en comparaison aux rats enrichis (Brenes et coll., 2008; Hall et coll., 2000; Hellemans et coll., 2004). Les études antérieures suggèrent que les rats EE sont mieux adaptés à un nouvel environnement et à l'exploration du milieu que les rats isolés ou les rats laissés dans des conditions standardisées. Dans le test du champ ouvert (*open-field*), comme dans des tests similaires, plusieurs auteurs ont montré que l'EE diminue l'activité locomotrice

et entraîne une habitude plus rapide que chez les rats témoins (Brenes et coll., 2008, 2009; Hoffmann et coll., 2009; Varty et coll., 2000). Cet effet du milieu enrichi semble être un résultat relativement constant dans différents protocoles utilisés pour évaluer l'activité locomotrice (pour revue Simpson et Kelly, 2011). Par ailleurs, si l'effet du milieu enrichi sur la réduction de l'activité spontanée évaluée dans le test de *l'open-field* est bien rapporté, il apparaît que peu d'études ont décrit l'influence de l'EE sur le comportement de toilettage (*grooming*) dans ce test (Brenes et coll., 2008; 2009). Ces derniers auteurs indiquent que lors des périodes d'inactivité au cours de l'exploration du champ ouvert, les rats enrichis passent beaucoup de temps en toilettage à partir des premières minutes du test. L'augmentation rapide de ce comportement, associée à une réduction d'activité locomotrice et exploratrice, suggère que les rats enrichis sont mieux et plus vite adaptés au nouvel environnement de *l'open-field* que les rats contrôles (Brenes et coll., 2008; 2009). Dans le test de nage forcé, ces mêmes auteurs ont trouvé une locomotion plus faible chez les rats placés dans des conditions d'isolement en comparaison à celle des rats placés en groupe standard (3 rats par cage) ou enrichi socialement et physiquement. Cet effet pourrait refléter la contribution de l'EE à l'adaptation plus appropriée du comportement à une situation, notamment stressante, tout en réduisant la propension au désespoir comportemental (Brenes et coll., 2009; Konkle et coll., 2010). Enfin, l'influence de l'EE sur l'activité locomotrice a été utilisée pour traiter des troubles de l'attention et de la motivation liés à l'hyperactivité (*Attention-deficit hyperactivity disorder*, ADHD) dans des modèles pathologiques de rats hypertendus (de Carvalho et coll., 2010; Pamplona et coll., 2009).

6.3.3. Anxiété et stress

De nombreuses études ont constaté que l'EE réduisait l'anxiété dans certains tests tels que le test du labyrinthe en croix surélevé (*plus maze test*), le test de nage forcée et le test *d'open field* (rev. Simpson et Kelly, 2011). Dans le test du labyrinthe en croix surélevé, il a été noté que les rats enrichis passent plus de temps dans les branches ouvertes (et moins de temps dans les branches fermées) que les rats des conditions contrôles (Hellemans et coll., 2004). Cet effet de l'enrichissement a été observé chez les femelles comme chez les mâles (Baldini et coll., 2013; Galani et coll., 2007; Peña et coll., 2006). De plus, Harati et coll. (2013) ont rapporté que l'effet anxiolytique du milieu enrichi dépendait de l'âge des rats. Leurs données présentent un effet positif de l'EE sur l'anxiété chez les rats jeunes et d'âge moyen, mais pas chez les rats âgés de 24 mois. Cependant, cet effet de l'EE sur l'anxiété n'est pas un résultat constant. En effet, Saucier et coll. (2008) observent qu'en comparaison à un environnement

standard chez des rats femelles et mâles Long-Evans, l'élevage pendant 50 jours dans un EE réduit l'anxiété significativement chez les rats femelles seulement. D'autres études n'ont trouvé aucune différence significative du temps passé ou du nombre d'entrées dans les bras ouverts entre les différentes conditions d'élevage : enrichies, standards et isolées (Brenes et coll., 2009; Hoffmann et coll., 2009). A l'inverse, dans l'étude de Brenes et coll. (2009), il a été rapporté que les rats enrichis étaient entrés dans les bras fermés plus souvent que les rats des deux groupes contrôles. Très récemment, Goes et coll. (2014) ont montré que l'élevage tardif des rats adultes dans un milieu enrichi a réduit le niveau d'anxiété évalué dans un dispositif d'exploration libre chez des rats classés comme anxieux, tandis que l'EE n'a eu aucune influence sur l'état d'anxiété évalué dans le labyrinthe en croix surélevé. Ainsi, les effets de l'EE sur les paramètres évaluant l'anxiété sont parfois contradictoires, notamment parce qu'ils pourraient dépendre de variables autres que celles liées au milieu enrichi (Hogg, 1996). Cependant, dans les autres tests comportementaux anxiogènes comme celui de la nage forcée, l'*open-field* ou le conditionnement de peur, l'effet du milieu enrichi permet de réduire l'anxiété et d'améliorer la performance comportementale des animaux (Barbelivien et coll., 2006; Brenes et coll., 2008, 2009; Zimmermann et coll., 2001). Enfin, on peut supposer que la réduction d'anxiété, affectant certains mécanismes comportementaux chez les animaux enrichis, peut s'expliquer par une diminution globale du niveau de stress (rev. Simpson et Kelly, 2011). Une autre hypothèse propose que l'environnement enrichi puisse protéger contre des fragilisations liées au stress, en particulier dans les modèles de dépression et d'addiction (ex : Wright et Conrad, 2008). Cette hypothèse suggère que le renouvellement constant de l'environnement physique et l'interaction avec des partenaires 'non-agressifs', représentant chez les rats un stress chronique modéré, peuvent renforcer ultérieurement la capacité à s'adapter ou à résister à des facteurs de stress et/ou à la consommation de drogue (pour plus de détails voir revues Crofton et coll., 2014; Fox et coll., 2006).

6.3.4. Fonctions cognitives

Les effets bénéfiques de l'EE sur plusieurs processus cognitifs ont été rapportés chez des sujets intacts autant que chez des sujets porteurs de lésions cérébrales (Alwis et Rajan, 2014; Fares et coll., 2013; Nithianantharajah et Hannan, 2006; Rosenzweig et Bennett, 1996; Simpson et Kelly, 2011; van Praag et coll., 2000). Dans ce paragraphe, je résumerai brièvement ces effets en citant quelques données obtenues chez des sujets intacts. De nombreux résultats relativement cohérents entre eux démontrent que l'EE améliore considérablement l'apprentissage spatial et non spatial, la mémoire du type épisodique, la

persistance de la mémoire de reconnaissance, et renforce la consolidation de la mémoire spatiale de référence (van Praag et coll., 2000; Sampedro-Piquero et coll., 2013; Schrijver et coll., 2002; Vedovelli et coll., 2011; Leger et coll., 2012b; Bonaccorsi et coll., 2013). Leger et coll. (2012a) ont également montré chez les souris enrichies une amélioration de la mémoire récente, mais pas de la mémoire ancienne, évaluées toutes deux dans un test d'évitement passif. De plus, il a été rapporté chez des rats femelles âgées de 25 mois que l'EE améliore l'acquisition de la tâche dans une piscine de Morris ainsi que le rappel récent à 24h, mais non le rappel ancien à 25j (Harati et coll., 2013). Chez des rats plus jeunes, Harati et collaborateurs ont rapporté un effet positif du milieu enrichi sur le rappel à 25 jours. Notons au passage que l'on constate une dégradation du rappel ancien chez tous les rats des groupes standards, chez qui les performances sont proches du niveau du hasard. Peu d'études ont montré une diminution globale des performances dans la réaction de peur chez des rats adultes (Barbelivien et coll., 2006; Harati et coll., 2013). L'EE a également amélioré les performances sensori-motrices dans un test de franchissement d'une barre étroite (*beam-walking*) (Christie et Dalrymple-alford, 1995). Dans certains tests de labyrinthe comme celui de Hebb et Williams, celui du labyrinthe en Y ou encore celui du labyrinthe radial, tests dans lesquels les rats utilisent souvent des indices allocentriques pour résoudre la tâche, les effets bénéfiques du milieu enrichi sur l'apprentissage et sur les processus de mémoire spatiale et de mémoire de travail sont plus affirmés (Leggio et coll., 2005; Peña et coll., 2009; Wright et Conrad, 2008). L'ensemble des effets de l'EE sur les fonctions comportementales, et en particulier, celles qui impliquent l'intégration d'informations cognitives dans différentes régions cérébrales, nous amène à nous demander si l'élevage dans des conditions enrichies post-opératoires peut avoir des influences chez les sujets ayant subi une lésion cérébrale. Autrement dit, ces effets bénéfiques peuvent-ils favoriser une restauration fonctionnelle des déficits dans l'apprentissage et les processus mnésiques liés à cette lésion ? Cette partie sera évoquée ultérieurement, à la fin de ce chapitre

6.4. Changements neuronaux

Il a été montré que les effets bénéfiques de l'environnement enrichi sur le comportement et la mémoire sont souvent accompagnés par diverses réponses de plasticité neuronale dans le cerveau adulte : neurogenèse, nombre et forme des épines dendritiques, volume cortical, expression immédiate des protéines et expression de facteurs neurotrophiques (rev.

Mohammed et coll., 2002). En effet, le concept de l'influence de la stimulation environnementale sur le cerveau adulte a été établi en 1949 par Donald Hebb, qui a postulé que lorsqu'une cellule excite une autre cellule de façon répétitive, un changement aura lieu dans l'une ou les deux cellules pour que la deuxième cellule devienne plus efficace en réponse à la stimulation de la première cellule (Hebb, 1949). Les hypothèses de Donald Hebb sur les effets de l'enrichissement permettent d'envisager l'idée selon laquelle les effets de cet enrichissement passent par des modifications cellulaires (rev. Lamprecht et LeDoux, 2004). En effet, chez des sujets intacts, et indépendamment des conditions d'élevage enrichi, il apparaît que le seul entraînement pour réaliser la tâche peut être suffisant pour provoquer une plasticité cérébrale détectable à l'échelle cellulaire et biochimique (rev. Rosenzweig et Bennett, 1996). Ainsi, l'entraînement des rats dans un environnement complexe peut provoquer une augmentation de la densité des épines dendritiques des cellules pyramidales de l'aire CA1 hippocampique (Moser et coll., 1994). Or, il a été rapporté que cette plasticité neuronale, reflétée dans la densité des épines dendritiques et l'expression de facteurs neurotrophiques (ex : BDNF), peut être impliquée dans la formation et la consolidation de la mémoire à long terme (Bekinschtein et coll., 2007; Restivo et coll., 2009). Yang et ses collaborateurs (2009) ont expliqué aussi que la formation et le maintien des souvenirs après une nouvelle expérience sont fortement liés à la plasticité postsynaptique du cortex, incluant la formation, la survie et l'élimination des épines dendritiques. D'autres travaux ont également souligné le recrutement des neurones hippocampiques nouvellement formés dans l'apprentissage et la mémoire spatiale, et plus spécifiquement, dans la mémoire ancienne (Trouche et coll., 2009). Ces auteurs ont trouvé, chez des souris entraînées pour trouver la plateforme cachée en piscine de Morris, comme chez des souris qui nagent en l'absence de plateforme, un recrutement de néo-neurones dans le gyrus denté 24h après le test d'entraînement en comparaison aux souris qui restaient dans leurs cages d'élevage. Selon ces auteurs, l'activation de ces neurones recrutés est spécifique et interviendrait lorsque la souris doit convoquer un souvenir ancien (30j post-acquisition) en comparaison avec des souris qui n'ont fait que nager ou encore des témoins sortis de leur cage. De plus, plusieurs études basées sur l'inhibition de la neurogenèse adulte ont montré l'importance de ce type de plasticité neuronale dans les fonctions mnésiques cérébrales (rev. Konefal et coll., 2013). Les études d'inhibition de la neurogenèse ont été réalisées, en grande partie, chez les rats et chez les souris, en utilisant principalement l'irradiation, les agents antiméitotiques ou la modification génétique. Ces dernières études confirment l'idée de l'influence de la neurogenèse adulte dans

la mémoire spatiale à court et à long terme (Deng et coll., 2010; Dupret et coll., 2008; Farioli-Vecchioli et coll., 2008; Jessberger et coll., 2009; Kee et coll., 2007).

Ainsi, l'ensemble de ces données sont en faveur de l'implication de la plasticité neuronale chez les animaux intacts et standards dans les différents processus cognitifs. Elles ont mené les chercheurs à se demander comment les changements comportementaux induits par l'EE, et plus particulièrement en rapport avec l'apprentissage et la mémorisation, peuvent être liés à des changements spécifiques dans la fonctionnalité neuronale chez les animaux intacts ou chez les animaux porteurs d'une lésion cérébrale.

6.4.1. Neurogenèse, épine dendritique et épaisseur corticale

Le débat concernant l'influence de l'EE sur la production de nouveaux neurones dans le cerveau adulte a commencé dès les années 60. Altman et Das, en 1964 (Altman est le premier à avoir décrit la neurogenèse adulte dans l'hippocampe) ont examiné si l'enrichissement environnemental pouvait affecter la production de neurones. Ces auteurs ont rapporté seulement une amélioration de la gliogénèse, et non de la neurogenèse. Dans cette étude, l'analyse était focalisée sur le cortex plutôt que sur l'hippocampe, ce qui pourrait expliquer que la neurogenèse induite par l'EE n'ait pas été mise en évidence. Depuis cette étude, la prolifération, la survie et l'intégration fonctionnelle de nouveaux neurones dans le gyrus denté ont été rapportées à de nombreuses reprises à la suite de l'exposition à un EE, sous la forme d'une augmentation des niveaux de 5'-bromo-2'-désoxyuridine (**BrdU**), un marqueur spécifique pour les cellules nouvellement formées (Kempermann et coll., 1997, 2002, 1998; Tashiro et coll., 2007; Will et coll., 2004). De plus, il a été démontré que l'inhibition pharmacologique de la prolifération cellulaire au cours de l'enrichissement empêche la neurogenèse hippocampique, ainsi qu'une amélioration dans les tâches mnésiques hippocampo-dépendantes, et plus précisément, dans l'expression de la mémoire spatiale à long terme (Buel-Jungerman et coll., 2005). La diminution de la neurogenèse adulte a également été liée au déclin cognitif (Drapeau et coll., 2003; rev. Drapeau et Abrous, 2008), et la restauration de la prolifération et de la survie des neurones néo-générés induite par l'EE a entraîné une amélioration des processus cognitifs (Kempermann et coll., 1997, 2002; Pang et Hannan, 2013; van Praag, 2008). Par exemple, l'EE a restauré la neurogenèse hippocampique chez des rats âgés, et ceci en corrélation avec une amélioration de la stratégie d'acquisition d'une tâche en piscine de Morris (Speisman et coll., 2013). Zhong et coll. (2009) ont montré que l'activation de la calmoduline est essentielle pour la neurogenèse hippocampique induite

par l'EE, ainsi que pour l'amélioration des performances de mémoire spatiale. L'inhibition complète de la neurogenèse hippocampique avec administration d'un antagoniste de la calmoduline (Trifluopérazine) a gommé tous les effets bénéfiques observés chez les animaux enrichis non-traités (Zhong et coll., 2009). Ainsi, l'enrichissement, comme l'exercice physique, augmentent tous deux le nombre de nouveaux neurones dans le gyrus denté (Will et coll., 2004). Cependant, les mécanismes par lesquels ces néo-neurones peuvent être générés sont différents entre ces deux conditions. Par exemple, l'élevage en conditions enrichies améliore la survie des neurones nouvellement formés sans affecter leur prolifération. En revanche, l'exercice physique augmente la division et la survie neuronales observée chez les souris (Van Praag et coll., 1999; voir aussi Van Praag, 2008). L'augmentation de la synaptogenèse a également été rapportée chez les animaux enrichis (rev. Van Praag et coll., 2000). À la suite de trois semaines d'élevage en conditions enrichies, une augmentation des branchements dendritiques et de la densité des épines dendritiques a été observée dans toutes les couches du cortex somato-sensoriel chez les rats intacts, mais aussi dans les couches superficielles controlatérales chez les rats ayant subi une lésion corticale (Johansson et Belichenko, 2002). De plus, une densité élevée d'épines dendritiques des neurones du cortex pariétal induit par l'EE a été associée avec un meilleur apprentissage dans un labyrinthe radial à 8 branches ou dans une tâche de mémoire spatiale de référence en piscine de Morris (Leggio et coll., 2005). Or, il a été très tôt rapporté que l'exposition à un environnement enrichi induit des changements morphologiques nets comme l'augmentation globale du poids du cerveau, en particulier dans les zones corticales et hippocampiques (Bennett et coll., 1969; Diamond et coll., 1987; Susser et Wallace, 1982). Les facteurs expliquant ces changements morphologiques sont d'une part une augmentation de la densité neuronale, de la neurogenèse, et des branchements dendritiques, d'autre part, une augmentation de la densité des épines dendritiques des cellules pyramidales et étoilées (Bennett et coll., 1969; Jung et Herms, 2014; Kempermann et coll., 1997; Leggio et coll., 2005). Il est probable que les modifications de la morphologie dendritique induites par l'EE pourraient influencer la dynamique fonctionnelle des synapses, ainsi que les circuits neuronaux (Briones et coll., 2004; Jones et coll., 1997; Jung et Herms, 2014; Leggio et coll., 2005). Enfin, au vu de cette plasticité cérébrale induite par l'EE, et qui a des effets bénéfiques sur le comportement et les processus cognitifs chez le sujet intact, il n'est pas surprenant que l'EE soit considéré comme un facteur très puissant dans des modèles animaux pathologiques et/ou lésionnels tels que ceux montrant les déficits observés dans la maladie d'Alzheimer, de Parkinson, d'Huntington, l'ischémie cérébrale ou les accidents vasculaires cérébraux (pour revues, Alwis et Rajan, 2014; Hannan, 2014).

6.4.2. Expression des gènes précoces et des facteurs neurotrophiques

En dehors des dernières modifications morphologiques et structurales engendrées par l'EE, certaines modifications de synthèse protéique peuvent également avoir lieu au niveau synaptique et cellulaire. L'induction rapide de l'expression de certains gènes, nommés gènes précoces ou *immediats-early genes (IEGs)*, pourrait refléter l'activité neuronale à la suite d'une stimulation (Mohammed et coll., 2002). En général, les gènes précoces sont classés en deux types fonctionnels d'après Guzowski et coll. (2001), à savoir :

- (i) les **régulateurs de transcription** comme **c-Fos** et **Zif 268**, aussi appelé **NGFI-A** (*nerve growth factor-induced protein A*) ou **Egr-1** (*Early growth response protein 1*). L'expression de gènes de cette classe est rapide et transitoire après stimulation des cellules, et ne nécessite pas la synthèse de nouvelles protéines. L'expression de ces gènes est cruciale pour réguler l'expression d'autres gènes tardifs liés à des modifications neuronales stables et durables (Hughes et Dragunow, 1995).
- (ii) les **effecteurs**, comme la protéine **Arc** régulant l'activité cytosquelettique, et qui influencent directement les fonctions cellulaires.

Cependant, certains chercheurs ont souligné que Zif 268 et Arc sont des marqueurs moins fiables pour mesurer l'activité neuronale que le marqueur c-Fos (Pinaud et coll., 2002; Yamada et Yamamoto, 1999).

En effet, il a été postulé que l'expression des gènes précoces joue un rôle essentiel dans les mécanismes de plasticité neuronale requis pour la mise en place du processus de consolidation de la mémoire (Dragunow, 1996; Link et coll., 1995; Loebrich et Nedivi, 2009; Okuno, 2011). Conformément à cette hypothèse, la suppression ou l'inhibition de la synthèse des protéines exprimées par les gènes précoces tels que c-Fos (Lamprecht et Dudai, 1996), Arc (Zhang et coll., 2011) et Zif 268 (Katche et coll., 2012) altère la consolidation de la mémoire à long terme sans affecter l'acquisition ou la mémoire à court terme. De plus, des études chez des souris transgéniques confirment aussi le rôle très important de l'expression des protéines Zif 268 (Jones et coll., 2001; Penke et coll., 2014) et c-Fos (Fleischmann et coll., 2003) dans la stabilisation de la mémoire à long terme. Toutes ces données suggèrent que l'environnement enrichi peut induire des modifications comportementales et cognitives majeures, sous-tendues par l'induction d'une plasticité neuronale, ainsi que par la synthèse de nouvelles protéines. Les précédentes études ont montré que l'exposition à l'EE augmente l'expression de (NGFI-A) dans le cerveau de rats intacts placés en conditions enrichies en

comparaison de rats élevés en conditions isolées ou standards (Wallace et coll., 1995; rev. Mohammed et coll., 2002; Pinaud et coll., 2002), et améliore ainsi leur performance de mémoire spatiale (Ickes et coll., 2000). Chez des rats confrontés à un conditionnement aversif, Nikolaev et coll. (2002) ont également montré des différences d'expression de c-Fos dans les noyaux amygdaloïdes en fonction des milieux d'élevage. L'expression augmentée de c-Fos dans l'amygdale a été observée chez des rats isolés comparativement aux rats enrichis, ceci du fait que les rats isolés mettent plus de temps que les rats enrichis à récupérer après une expérience stressante (Nikolaev et coll., 2002). Il a également été noté que l'exploration comportementale répétée d'un environnement provoque la transcription de la protéine Arc dans la même population discrète de cellules pyramidales de l'hippocampe, tandis que l'exposition à deux environnements très différents active une autre population neuronale dans une nouvelle région hippocampique (Guzowski et coll., 1999). Plus récemment, avec l'utilisation du double marquage de gènes précoces (c-Fos ou Zif 268) comme marqueurs d'activité neuronale et de BrdU comme marqueur de neurogenèse, Tashiro et collaborateurs (2007) ont montré que l'exposition antérieure à un environnement enrichi augmentait le nombre total de nouveaux neurones et surtout que ces derniers répondaient spécifiquement à la réexposition au même environnement, mais pas à une expérience différente, ce qui suggère la présence d'une période critique pour la mise en place du recrutement de nouveaux neurones survivant à l'exposition à une nouvelle expérience comme l'apprentissage d'une information spatiale (Tashiro et coll., 2007).

Les changements de l'expression des gènes précoces induits par le milieu enrichi ont également été rapportés dans des modèles animaux de restauration fonctionnelle après atteinte cérébrale. A titre d'exemple, en réponse à une tâche d'apprentissage spatial en piscine de Morris, une augmentation du c-Fos a été notée dans la couche des cellules granulaires du gyrus denté chez les rats ischémiques placés en environnement enrichi comparativement à des rats ischémiques en conditions standards (Puurunen, 2001). Cependant, dans cette étude, l'enrichissement lui-même ne produisait aucun changement notable dans le niveau basal de c-Fos chez des animaux restés dans leur milieu enrichi sans être soumis à une tâche comportementale, suggérant que l'activation par un entraînement explicite était nécessaire pour mettre en route des effets positifs de l'EE au sein du gyrus denté. Dans une étude plus récente (2013), Dupire et coll. ont étudié l'effet du milieu enrichi chez des rats porteurs d'une lésion du noyau thalamique antérieur, en évaluant l'expression de c-Fos dans plusieurs régions cérébrales, et en particulier dans l'hippocampe et l'amygdale; deux régions

impliquées dans la régulation de la cognition liée à l'affect. Chez les rats lésés standards, ces deux structures présentaient une hypofonction en lien avec une altération dans l'acquisition de la tâche de conditionnement de peur au contexte. Par contre, le milieu enrichi a amélioré leurs performances dans ce test, mais sans avoir une restauration de l'activité neuronale dans les structures affectées par la lésion.

Il est intéressant de noter que l'expression de **BDNF** (un facteur neurotrophique) a été largement associée à des modifications neuronales provoquées par l'EE (Mohammed et coll., 2002). Par exemple, chez la souris transgénique dont le BDNF ne peut être exprimé, la production de nouveaux neurones hippocampiques induite par l'EE chez des sujets normaux a été négativement affectée par la suppression génétique de cette protéine (Rossi et coll., 2006). Dans un article récent paru en 2015, Novkovic et collaborateurs rapportent que l'EE entraîne une amélioration de la potentialisation à long terme hippocampique chez les souris transgéniques du gène-*BDNF*, ainsi qu'une restauration des capacités mnésiques dans un test de reconnaissance à long terme (7j) par rapport à des souris standards. Chez les souris sauvages, l'EE a amélioré le rappel récent (24h) en augmentant les niveaux de BDNF (Novkovic et coll., 2015). Enfin, les effets bénéfiques du milieu enrichi sur les fonctions cérébrales associées à des modifications de l'expression de BDNF ont aussi été observés dans certains modèles lésionnels et pathologiques (rev. Pang et Hannan, 2013). Ainsi, le blocage pharmacologique de BDNF chez les rats ischémiques a inhibé les effets bénéfiques de l'EE sur la réhabilitation des capacités motrices (Ploughman et coll., 2009), suggérant un rôle-clé de l'expression de BDNF dans la restauration des fonctions motrices après un accident vasculaire cérébral.

6.5. Changements biochimiques

Nombre de neurotransmetteurs, de facteurs de croissance neuronale (ex: BDNF, NGF), de protéines associées à des gènes précoces (ex: c-Fos, Arc) et d'hormones de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (*HPA*) ont été révélés grâce à leurs rôles dans les mécanismes induits par l'environnement enrichi sur la plasticité cérébrale et les fonctions comportementales. Dans ce paragraphe je rapporterai quelques exemples de l'implication de certains effets neurochimiques dans les changements neuronaux et comportementaux dus à l'EE, et en particulier, de quelques neurotransmetteurs et hormones de l'axe *HPA* participant à la réponse au stress (comme, par exemple, la corticostérone et l'adrénocorticotrophine (ou ACTH)).

Les principaux neurotransmetteurs étudiés sont la dopamine (DA), la noradrénaline (NA), l'acétylcholine (ACh), les opioïdes, l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) et le glutamate (Simpson et Kelly, 2011). Les neurotransmetteurs tels que la sérotonine (5HT), DA et NA sont associés à la régulation des émotions et souvent corrélés à des tests comportementaux évaluant l'anxiété ou la dépression (Brenes et coll., 2008; Galani et coll., 2007; Lanni et coll., 2009). Il a été rapporté chez les rats élevés en environnement enrichi une augmentation des niveaux de 5HT à la fois dans l'hippocampe (Galani et coll., 2007) et dans le cortex frontal (Brenes et coll., 2008) comparativement à des rats standards ou isolés. En effet, dans le test de nage forcée, Brenes et coll. (2008, 2009) ont rapporté à la fois une corrélation positive entre la libération de sérotonine et la durée de nage dans la piscine, et une corrélation négative entre cette libération et le temps d'immobilité des animaux élevés en milieu enrichi par rapport aux animaux contrôles. Ceci suggère un effet bénéfique, antidépresseur, de l'exposition au milieu enrichi. Del Arco et coll. (2007a) n'ont constaté aucun effet significatif sur les niveaux de base de DA dans le cortex préfrontal (PFC) chez des rats enrichis pendant 12 mois comparativement à des rats isolés ou standards, mais ces auteurs ont aussi montré que l'élevage enrichi pendant 12 semaines réduit la densité des récepteurs D1 dans le PFC par rapport aux rats isolés (Del Arco et coll., 2007b). Plus récemment, Garrido et coll. (2013) ont étudié l'impact du milieu enrichi sur les facteurs neurochimiques et hormonaux, y compris la dopamine, en réponse au stress. L'EE permet de diminuer la concentration de dopamine dans le PFC après l'exposition à un stress aigu pendant 20 minutes, et d'améliorer la performance dans certains tests à composante stressante dans lequel le PFC est sollicité, tels que l'habituation à un nouvel environnement, la mémoire spatiale de travail et l'évitement passif. Ces auteurs concluent de leurs études que les rats élevés en milieu enrichi présentent une

meilleure adaptation face à des situations de stress (Garrido et coll., 2013). Les niveaux d'autres neurotransmetteurs associés à la plasticité synaptique, tels que la noradrénaline, augmentent également dans l'hippocampe (Brenes et coll., 2009) et dans le cortex frontal (Brenes et coll., 2008) après l'EE. Dans l'étude de Garrido et coll. (2013), l'EE n'a pas d'effet sur la concentration basale d'acétylcholine, mais les rats enrichis présentent une réduction de la libération de ce neurotransmetteur après exposition au stress en comparaison aux rats isolés. D'autres modifications de taux hormonaux de l'axe HPA en lien avec le stress, comme la corticostérone et l'ACTH, ont également été rapportées chez des animaux élevés dans des conditions d'élevage différentes, mais ces données sont controversées (voir rev. Simpson et Kelly, 2011). Les concentrations basales de corticostérone et d'ACTH semblent diminuer dans le plasma de rats Sprague-Dawley mâles et femelles placés en EE après une période d'isolement. De plus, après un stress modéré (injection i.p), les deux groupes de rats enrichis ont diminué leurs concentrations d'ACTH en comparaison aux rats isolés, cependant par rapport au niveau basal, seules les femelles enrichies présentaient une diminution significative de l'ACTH (Belz et coll., 2003). Dans une autre étude réalisée chez des rats mâles de la souche Wistar, la corticostérone basale a augmenté à la suite de 40 jours d'EE par rapport aux rats contrôles (Moncek et coll., 2004). Dans cette dernière étude, Moncek et collaborateurs ont montré que l'EE permet de diminuer le taux de corticostérone plasmique chez des rats en réponse au stress (manipulations répétées). Cela suggère donc que les animaux EE ont une plus faible réactivité de l'axe HPA en réponse aux situations stressantes que les rats témoins. Cette influence de l'EE sur l'atténuation du niveau des hormones du stress semble indépendante du sexe. Peña et coll. (2009) ont montré, chez des rats placés par paires pendant 44 semaines après avoir été exposés à l'EE pendant 12 semaines, que tous les groupes enrichis, mâles ou femelles, présentent une diminution de la corticostérone induite par la nouveauté dans le test de la planche à trous en comparaison aux rats standards. Cependant, les niveaux de base de corticostérone et d'ACTH étaient plus élevés chez les rats femelles que chez les rats mâles. Ces différences de fonctions de l'axe HPA en réponse au stress, observées chez les sujets mâles ou femelles, peuvent être dues à des interactions entre hormones du stress et hormones sexuelles (rev. Kudielka et Kirschbaum, 2005).

6.6. Restauration fonctionnelle grâce à un élevage en EE

L'ensemble des données obtenues chez les animaux soumis à des conditions d'élevage enrichi montrent des modifications comportementales, structurales, neuronales et neurobiochimiques, et supposent ainsi que l'EE peut induire à certains bénéfices thérapeutiques pour restaurer certaines fonctions atteintes par diverses actions pathologiques et lésionnelles. Dans les paragraphes suivants, je résumerai les capacités de l'EE à récupérer certaines fonctions, en particulier mnésiques (mémoire spatiale) et post-lésionnelles à laquelle ma thèse s'est intéressée.

6.6.1. L'EE : un outil bénéfique pré et/ou post-opératoire

Dans ce paragraphe sera présenté l'utilisation de l'EE comme outil thérapeutique potentiel dans des modèles animaux pathologiques ou lésionnels. Les modèles animaux jouent un rôle crucial dans l'évaluation et la compréhension des processus neurophysiologiques, comportementaux, ainsi que les modifications histopathologiques associés à certaines maladies. En effet, les stimulations physiques, comportementales et cognitives induites par l'EE ont été utilisées pour traiter certains déficits dans divers modèles animaux de lésion ou de maladies neurodégénératives (rev. Hannan, 2014; Laviola et coll., 2008). On trouve dans la littérature une large gamme de protocoles d'EE utilisés comme traitement curatif (post-lésionnel) ou comme traitement préventif (ex: pré-lésionnel). Ainsi, il a été démontré que l'exposition au milieu enrichi entraîne des effets bénéfiques sur la récupération des fonctions après atteintes cérébrales de type traumatique, et ce aussi bien lorsque l'EE est appliqué après l'atteinte (Kovesdi et coll., 2011) que lorsqu'il l'est avant (Johnson et coll., 2013). Dans un article récent, Jacqmain et collaborateurs (2014) rapportent un effet préventif de l'EE chez des rats qui vont subir une lésion du mPFC. Par ailleurs, les auteurs ont trouvé que les rats d'abord élevés en EE mais placés dans un environnement standard après la lésion ont obtenu de meilleurs résultats dans le test de la piscine de Morris par rapport aux rats replacés en EE après la lésion. Ces données suggèrent un effet bénéfique de l'EE quand celui-ci est appliqué avant la lésion. Cependant les mécanismes par lesquels l'exposition au milieu enrichi pré- ou post-traumatique entraînent des effets bénéfiques peuvent être différents (rev. Alwis et Rajan, 2014). Par ailleurs, l'EE est proposé comme outil protecteur dans le stress chronique, notamment par rapport à certaines psychoses associées au stress (rev. Fox et coll., 2006). À titre d'exemple, soulignons que Wright et Conrad (2008) ont démontré, chez le Rat, que l'EE peut prévenir l'influence négative du stress chronique sur l'apprentissage, la mémoire spatiale

et la mémoire de reconnaissance évalués dans les tests de la piscine de Morris et le labyrinthe en Y. En général, l'influence protectrice d'un environnement enrichi contre le développement ultérieur de certains déficits psychiatriques tels que la dépression et l'addiction a été rapportée dans une revue récente (Crofton et coll., 2014). Cet effet préventif du milieu enrichi a également été souligné dans des modèles animaux mimant certaines maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer, d'Huntington ou de Parkinson (rev. Hannan, 2014), mais aussi la schizophrénie et le déclin cognitif associé à l'âge (rev. Pang et Hannan, 2013). Ainsi, Fares et coll. (2013) ont étudié, chez les rats, l'effet protecteur de l'EE dans un modèle d'épilepsie induite par administration de *lithium-pilocarpine* au jour du sevrage. Ces auteurs montrent que l'élevage en milieu enrichi, dès le lendemain du sevrage et ce pendant 13 semaines, réduit le nombre de rats épileptiques présentant des crises spontanées récurrentes et intenses, et empêche l'installation du déclin cognitif (évalué en piscine de Morris) qu'on observe chez les rats épileptiques élevés en conditions standards. Cet effet à long terme (13 semaines) de l'EE chez les rats épileptiques peut être expliqué par la préservation partielle de la plasticité neuronale, en particulier de la potentialisation à long terme (LTP) hippocampique, de même que par l'activation continue de l'hippocampe pendant deux semaines d'élevage en condition enrichies. Chez des rats intacts, l'EE pourrait induire des influences bénéfiques à très long terme : Peña et coll. (2009), par exemple, ont hébergé des rats (mâles et femelles) en EE pendant 12 semaines après sevrage, suivi par un élevage en environnement standard (2 rats par cage) pendant 60 semaines (c.à.d. 15 mois). Pour un certain nombre de mesures comportementales, ces auteurs rapportent des effets durables de l'EE dans la qualité de l'apprentissage, la diminution de l'anxiété et le comportement exploratoire d'un nouvel environnement comparativement aux rats restés en conditions standards. Ainsi, l'expérience précoce de l'EE a des conséquences bénéfiques et durables sur le comportement de ces animaux évalué à l'âge adulte, même lorsque les conditions standards ont précédé le test comportemental (Simpson et Kelly, 2011).

De tels effets bénéfiques longitudinaux de l'EE ont également été observés dans de nombreux modèles lésionnels. Ainsi, dans un modèle d'amnésie diencephalique induit par lésion du thalamus antérieur chez le Rat, Loukavenko et coll. (2007) ont étudié l'effet thérapeutique de l'EE post-opératoire, débutant soit 5 jours soit 40 jours après la chirurgie. Les deux protocoles d'élevage en EE ont réduit le déficit de mémoire spatiale de travail chez ces rats lésés enrichis comparativement à des rats lésés standards. Cet effet bénéfique était durable et persistait jusqu'à deux mois après la fin de l'enrichissement du milieu. Différents protocoles de milieu

enrichi peuvent être appliqués en tant que facteur bénéfique (protecteur ou thérapeutique) pour récupérer tout ou partie de fonctions comportementales perturbées. Cependant, les mécanismes par lesquels les effets de l'EE agissent peuvent être différents en fonction du type d'EE post- ou pré-opératoire utilisé. Enfin, dans les modèles de lésions cérébrales, l'EE post-opératoire semble plus pertinent pour mimer certains cas cliniques humains que l'EE préopératoire (Will et coll., 2004). Dans le cadre de mon travail de thèse, un protocole d'enrichissement post-opératoire est employé pour vérifier l'effet du milieu enrichi sur la récupération des capacités de mémoire spatiale après lésion thalamique des noyaux ReRh chez le Rat.

6.6.2. Restauration de certaines capacités cognitives après lésion cérébrale

La restauration fonctionnelle après lésion cérébrale peut être définie comme la réémergence partielle ou complète de fonctions altérées par la lésion. Dans les modèles de lésions cérébrales induites par un traumatisme ou un accident vasculaire cérébral (AVC), notamment lorsque la lésion touche le cortex sensorimoteur, il a été supposé que l'un des principaux mécanismes sous-tendant la restauration fonctionnelle spontanée relève de la plasticité neuronale (rev. Nudo, 2013), et, dans la plupart des cas, cette restauration spontanée peut être due à une compensation comportementale adaptative (Whishaw et coll., 1991, cité par Nudo, 2013). Cette étude portait sur l'apprentissage de capacités motrices affectées par la lésion des régions corticales, mais il est probable que des mécanismes semblables sous-tendent aussi des processus mnésiques. Dans les modèles expérimentaux de lésions cérébrales provoquées par un traumatisme ou par un AVC, certains travaux montrent clairement que l'EE post-opératoire produit à la fois une restauration des fonctions motrices, et une atténuation de déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale (Briones et coll., 2006; Kovesdi et coll., 2011). Dans ces deux études, les chercheurs rapportent également des modifications de certains indices de plasticité neuronale pouvant expliquer cette restauration fonctionnelle. En effet, le moment d'action de l'EE, ainsi que la réhabilitation potentielle après la lésion, tant dans l'AVC que dans le traumatisme cérébral, semble critique pour induire une restauration des fonctions ou une atténuation des déficits (Alwis et Rajan, 2014; Biernaskie et coll., 2004; Murphy et Corbett, 2009). Un certain nombre de changements neurophysiologiques sont également associés à l'exposition à un EE dans le modèle de l'AVC, tels que la diminution du volume de l'infarctus (Buchhold et coll., 2007), l'augmentation de la synaptogenèse et de la croissance dendritique (Briones et coll., 2006), l'augmentation de la densité des épines

dendritiques (Johansson et Belichenko, 2002), et enfin l'augmentation de l'activité neurotrophique telle que celle du BDNF (Pereira et coll., 2009), du NGF-A et du NGF-B (Dahlqvist et coll., 2003). De même, l'enrichissement après lésion cérébrale traumatique provoque des effets bénéfiques sur le cerveau, comme par exemple la réduction de la taille de la lésion, l'augmentation de la survie neuronale hippocampique (Monaco et coll., 2013) et l'augmentation du niveau d'expression de BDNF (Chen et coll., 2005). Par ailleurs, dans un modèle de lésion cérébrale périnatale, Kolb et Gibb (2010) ont montré, chez des rats âgés de 2 à 4 jours porteurs d'une vaste atteinte du cortex frontal et pariétal, que des stimulations tactiles post-natales effectuées 3 fois 15 minutes par jour durant deux semaines facilitent la récupération à long terme de fonctions sensori-motrices et cognitives évaluées à l'âge adulte, et ce en augmentant la longueur et la densité des épines dendritiques dans les cortex adjacents aux cortex pariétal et frontal, respectivement. Cependant, dans les deux modèles pathologiques cités précédemment (le traumatisme et l'AVC), cette restauration fonctionnelle par l'EE reste encore à confirmer, et des recherches plus approfondies devraient permettre de comprendre les mécanismes neurobiologiques sous-jacents (rev. Alwis et Rajan, 2014; Murphy et Corbett, 2009; Nudo, 2013). De façon générale, dans de nombreux modèles de lésion cérébrale induisant des déficits cognitifs, l'effet bénéfique de l'EE sur la récupération fonctionnelle, et notamment sur la capacité de rappel d'un souvenir, a été largement démontré dans la littérature (rev. Will et coll., 2004; Pang et Hannan, 2013; voir aussi paragraphe 6.3.4). Ainsi, les effets bénéfiques dus aux conditions d'élevages enrichies post-opératoires sur les capacités d'apprentissage et de mémoire ont été soulignés en utilisant différentes tâches comportementales, notamment celles qui relèvent de la mémoire spatiale, que cette dernière soit évaluée dans le test du labyrinthe en T, du labyrinthe radial (Loukavenko et coll., 2007) ou de la piscine de Morris (Fréchette et coll., 2009; Rijzingen, 1997; Wolff et coll., 2008a). Bindu et coll. (2005) ont montré chez des rats porteurs d'une lésion du subiculum ventral et élevés en conditions enrichies, une récupération de fonction mnésique dans le test du labyrinthe radial à 8 branches, mais non dans le test de la piscine de Morris. Ces résultats soulignent que l'efficacité de l'EE sur la récupération fonctionnelle dépend étroitement à la fois de la localisation de la lésion, mais aussi de la tâche utilisée, comme du protocole d'enrichissement du milieu. Bien que l'effet positif de l'EE post-lésionnel sur la récupération mnésique ait été largement démontré, et ce dans de nombreux modèles animaux, il est surprenant que très peu d'études se soient intéressées à l'effet de l'EE sur la correction d'un déficit de consolidation de la mémoire au niveau systémique après atteinte des régions cérébrales impliquées dans ce processus. Si la première qui vient à l'esprit est évidemment le

cortex préfrontal médian, il ne faut pas oublier pour autant l'intervention des noyaux reuniens et rhomboïde (ReRh). Mon objectif de thèse sera de vérifier l'influence des stimulations physiques et sociales induites par l'EE sur la persistance d'une mémoire spatiale après lésion des noyaux ReRh.

3. Matériels et Méthodes

3. Matériels et Méthodes

3.1. Sujet animal

3.1.1. Souche et sexe

Les animaux utilisés dans ce projet sont des rats mâles Long-Evans en provenance du centre d'élevage René Janvier en France. Nous avons choisi cette souche des rats à cause de ses bonnes capacités d'apprentissage et de mémoire spatiale notamment dues à leur bonne acuité visuelle (Figure 15). De plus, cette souche de rat est utilisée dans notre laboratoire comme modèle de recherche avec des dizaines de résultats publiés sur des modèles lésionnelles ou avec inactivation fonctionnelle, pour mettre en évidence leurs conséquences sur l'apprentissage et les différents processus mnésiques, ainsi que les substrats neuronaux qui les sous-tendent.



Figure 15 : Deux rats Long-Evans placés au sein d'un milieu enrichi.

Pour le choix du sexe, nous avons utilisé des rats mâles afin de garder le même sujet expérimental que pour les travaux précédents au laboratoire. Il faut noter qu'en comparaison aux rats mâles, les femelles Long-Evans présentent moins d'agressivité lors de l'élevage en groupes dans les milieux enrichis. Ce qui pourrait faciliter les manipulations. Des chercheurs

3. Matériels et Méthodes

ont également préférés des rats mâles en tant qu'ils sont plus performants que les femelles en piscine de Morris (ex : Saucier et coll., 2008), le principal test utilisé dans ce travail de thèse. Ainsi, le facteur du sexe semble important pour évaluer l'effet du milieu enrichi et de la lésion des noyaux ReRh dans cette tâche spatiale.

3.1.2. Âge des animaux

À l'arrivée dans le laboratoire, les rats avaient environ deux mois et demi d'âge et pesaient en moyenne 250 grammes (Figure 16). Les rats étaient âgés de trois mois au moment de l'intervention chirurgicale et ont été placés dans le milieu enrichi deux semaines après l'opération chirurgicale, soit à l'âge de 3 mois et deux semaines. Les rats ont ensuite été testés en piscine de Morris à l'âge de 5 mois (8 jours d'acquisition), et environ à l'âge de 6 mois au moment du test du rappel réalisé 25 jours après le dernier jour d'entraînement (soit 3 mois après la chirurgie).

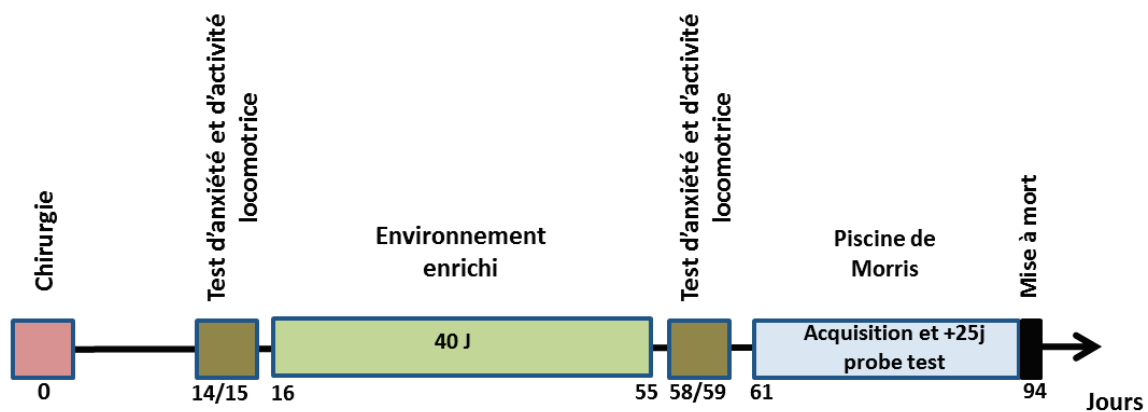


Figure 16 : représentation schématique des différents tests comportementaux effectués au cours du temps.

3.2. Conditions d'élevage

3.2.1. Conditions préopératoires

Les rats sont arrivés au laboratoire en groupes composés de 5 rats dans chaque boîte. Nous avons conservé cette composition initiale des groupes des rats. Ils ont été transférés dans de grandes cages transparentes (56 x 35 x 19 cm), et placés dans une pièce de stabulation qui est restée par la suite la même pièce tout au long de l'expérience. Les rats ont été laissés sans manipulation pendant une semaine pour s'habituer à l'ambiance de la salle de stabulation et

3. Matériels et Méthodes

aux conditions d'élevage. Après avoir identifié les rats, chaque rat a été manipulé de deux à trois minutes par jour pendant une semaine. La température et l'humidité de la salle de stabulation étaient contrôlées ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et $50\% \pm 10\%$, respectivement). Le cycle quotidien d'éclairage était réglé en deux phases de 12 heures chacune (phase diurne : de 7h à 19h et phase nocturne : de 19h à 7h). Pour neutraliser l'impact des bruits liées à l'activité quotidienne autour la pièce de la stabulation, une radio était mise en place pendant la phase diurne. Ces conditions s'appliquaient aussi dans toutes les autres pièces d'expérimentation sauf dans celle du test du labyrinthe en croix surélevé. L'alimentation des rats et l'accès à l'eau se font de manière *ad libitum*. Le changement des cages et des biberons était réalisé une fois par semaine.

3.2.2. Conditions post-opératoires

Just après la chirurgie, chaque rat était placé individuellement dans une cage normale transparente (40 x 24.5 x 18.5 cm). Ce de manière à assurer une bonne cicatrisation avant les tests comportementaux et avant qu'ils soient soumis aux deux types de condition d'élevage présentés ci-dessous, à savoir la condition enrichie et la condition standard. Dans cette condition d'élevage individuel post-chirurgie, les rats étaient hébergés pendant deux semaines dans la même pièce utilisée à leur arrivée, et dans les mêmes conditions que décrites précédemment. Quelques jours après l'opération chirurgicale, les rats étaient manipulés à nouveau pendant une semaine. Ces conditions d'élevage individuel ont également été utilisées pendant les tests comportementaux réalisés, dès la sortie du milieu enrichi et jusqu'au jour de la mise à mort des rats.

3.2.3. Protocole d'environnement enrichi (EE) vs environnement standard (ES)

Après un délai de deux semaines post-chirurgie, les rats étaient soumis à deux types de conditions d'élevage pendant 40 jours (Figure 17) : *i*) condition contrôle ou environnement standard, et *ii*) condition enrichie ou environnement enrichi. Les rats de ces deux conditions étaient maintenus dans la même pièce d'animalerie, dans laquelle les deux milieux d'élevage étaient séparés par un mur interne. Ainsi, tous les rats disposaient des mêmes conditions de température, d'hygrométrie et de cycle d'éclairage.

3.2.3.1. Condition contrôle ou environnement standard (ES)

La moitié de rats Shams et de rats avec une lésion des noyaux reuniens et rhomboïde (ReRh) ont été maintenus individuellement dans des cages en plastique transparentes comme indiqué

précédemment (Figure 17a). Il est à noter aussi que ces mêmes conditions étaient déjà utilisées dans notre laboratoire pour étudier l'impact de la lésion ReRh sur les processus mnésiques, en plus particulier, son rôle dans la persistance de la mémoire spatiale à long terme. Par commodité, j'utiliserai l'abréviation (ES) pour faire référence à cette condition d'élevage, et (EE) au lieu de l'environnement enrichi. Cette condition d'élevage standard est utilisée comme condition contrôle qui devraient minimiser les interactions physiques et sociales comparées à celles de l'EE. De plus, d'après Simpson et Kelly (2011), il semble que cette condition d'élevage individuel a été préférentiellement utilisée comme une condition contrôlant l'effet du milieu enrichi.

3.2.3.2. Condition enrichie (EE)

Un deuxième lot de rats Sham et de rats avec lésion ReRh a été utilisé pour la condition 'enrichie'. Dans cette condition, nous avons placé 11 ou 12 rats dans des grandes cages grillagées (112 x 40 x 40 cm). Chaque cage se composait de deux compartiments interconnectés par deux fenêtres de passage (Figure 17b, c). Un grand espace dans cette cage permettait aux rats de se déplacer très facilement et facilitait ainsi les interactions sociales entre congénères et physiques avec les objets de l'environnement. Le nombre de rats que nous avons utilisé dans ce travail est en accord avec celui de la plupart des études de l'impact de l'environnement enrichi (Voir Simpson et Kelly, 2011). Cependant, Fares et coll. (2013) ont rapporté qu'il n'y a pas de corrélation entre le nombre des rats par cage et les effets de l'environnement enrichi sur la mémoire spatiale, notamment celle évaluée en piscine de Morris (Fares et coll., 2013).

Les rats regroupés par 5 à leur arrivée au laboratoire ont subis soit une chirurgie Sham (n= 2), soit une lésion ReRh (n= 3). Ainsi, chaque cage d'EE (11-12 rats) comprend des animaux lésés ReRh et des animaux Sham issus d'au moins 3 groupes initiaux. La période d'enrichissement effectuée dans cette expérience est de 40 jours. Nous avons employé un protocole d'enrichissement quotidien qui fournit le maximum de stimulations environnementales (sociales et physiques) aux rats lésés et Sham, et ce deux semaines de après l'opération chirurgicale. A cette fin, nous avons répliqué un protocole du milieu enrichi réalisé et validé par l'équipe de John Dalrymple-Alford en Nouvelle-Zélande (Annexes 2, 3, et 4). Initialement, ce protocole a été utilisé pour évaluer l'effet de 30 jours de EE, appliqués à différents délais post-opératoire, sur la restauration fonctionnelle des capacités mnésique après lésion du noyau thalamique antérieur (AT) (Loukavenko et coll., 2007; 2014). Dans la

3. Matériels et Méthodes

littérature, on peut trouver que la durée d'enrichissement est très variable selon l'objectif de chaque expérience. Par exemple, une longue période d'enrichissement (3, 6 et 12 mois) a été utilisée chez les animaux âgés dans le modèle de recherche sur le vieillissement cognitif (Harati et coll., 2011). Dans les études de l'effet d'un EE sur la récupération fonctionnelle après lésion cérébrale, un délai d'un à deux mois est le plus souvent utilisé (Simpson et Kelly, 2011).

Dans ce protocole, une seule configuration d'objets est attribuée à chaque cage pendant 24h. L'attribution des nouveaux objets se fait chaque jour entre 11h et 12h. Différents types d'objets ont été utilisés comme des créations en céramique, des jouets, des balles, des pièces en bois, des cailloux, des bouteilles en verre, des éléments métalliques, des tuyaux et objets en plastique. Aucun objet n'était présenté à nouveau aux rats dans un délai de 4 jours. Deux mangeoires (une petite boîte métallique) étaient attribuées aux deux compartiments de chaque cage enrichie. Un couvercle grillagé de cage standard a été placé dans la cage du milieu enrichi comme un objet pour créer une étagère interne permettant aux rats de grimper pour obtenir la nourriture, et augmentant l'activité physique. Dans ce protocole d'élevage en milieu enrichi, les rats étaient changé de cage afin d'être exposés à une nouvelle configuration dans une autre cage enrichie, et ceci de manière randomisée. Une cage supplémentaire était nécessaire pour faciliter le déplacement des rats entre les cages enrichies. Ainsi, par semaine, 7 configurations différentes étaient alternées et présentées aux rats de façon identique, dont une configuration était composée uniquement de tuyaux. Chaque 8^{ème} jour les rats ne recevaient aucun objet. Les mangeoires et les biberons étaient fixés différemment dans les cages, ce qui permet aux rats de les redécouvrir chaque jour. Pour assurer l'hygiène des animaux et leur bien-être, le changement des litières se faisaient quotidiennement. Tous les jours, les objets d'une cage étaient lavés et séchés avant nouvelle utilisation, et les cages étaient lavées toutes les deux semaines. A la fin de la période d'élevage dans le milieu enrichi, les rats étaient placés individuellement dans des cages standards jusqu'à la fin de l'expérience. Ils étaient manipulés une fois par semaine, tout comme les rats du groupe standard.

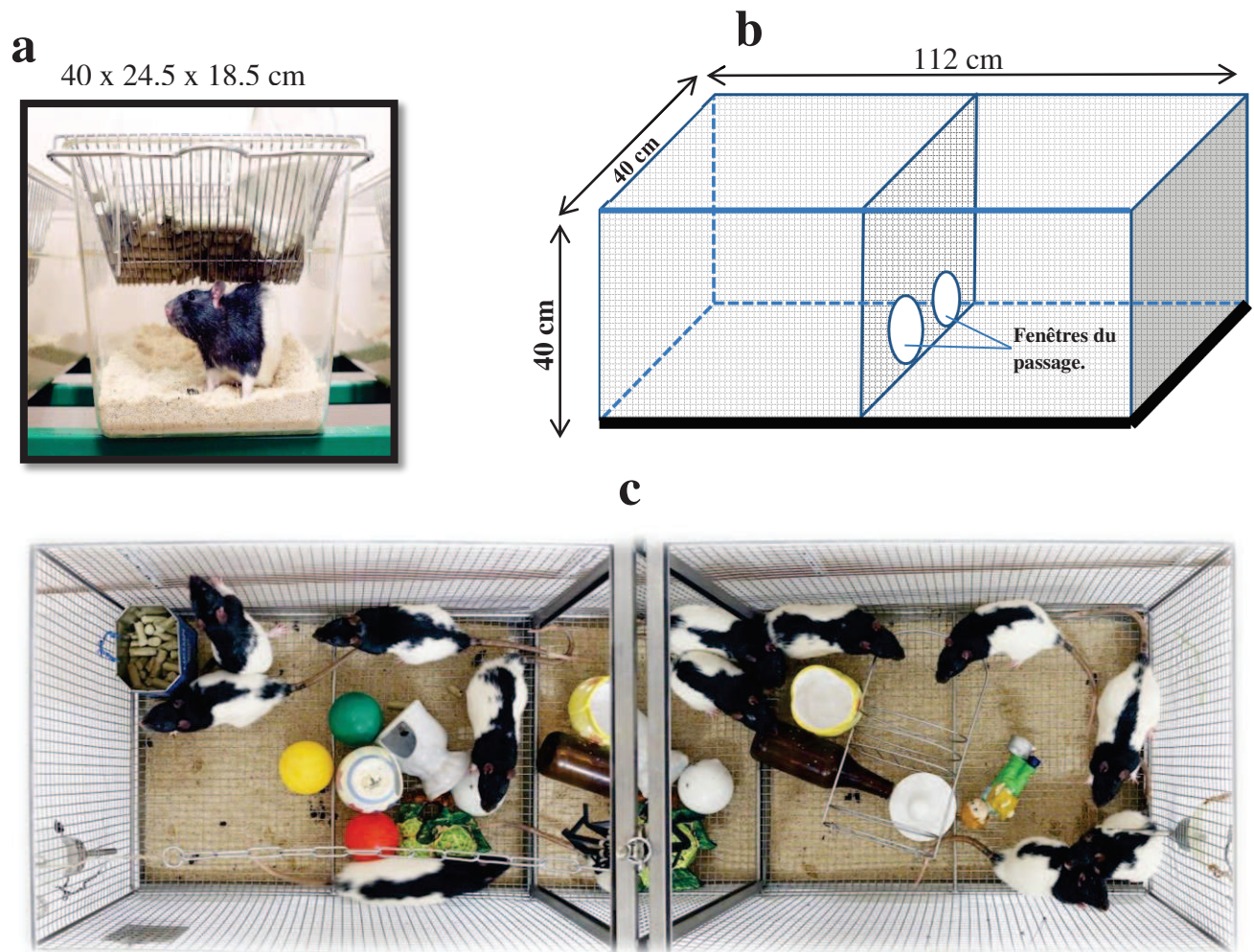


Figure 17 : Conditions d'élevage post-opératoires présentant l'élevage individuel dans une cage standard ou (ES) (a), et l'élevage en conditions enrichies (EE) dans une grande cage grillagée contenant 12 rats avec les objets d'enrichissement (c). L'image (b) présente une illustration schématique d'une cage de milieu enrichi avec ses dimensions en cm.

3.3. Opérations chirurgicales : (Lésion ReRh)

3.3.1. Anesthésie

Avant toute intervention chirurgicale, chaque animal était pesé et anesthésié par une injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique, dilué au 50% avec du NaCl 0,9%. Ainsi, chaque rat a reçu une dose d'environ 68 mg/kg. Les rats étaient laissés pendant 10-15 minutes avant l'opération jusqu'à la disparition des réflexes, observée par le pincement de la queue. Le rat injecté était également placé dans une cage avec des copeaux du bois de grande dimension, pour éviter que le rat ne s'étouffe dans une sciure trop fine lors de l'endormissement.

3. Matériels et Méthodes

L'anesthésique utilisé a l'avantage d'induire une longue durée de sédation (de 2 à 3 heures). A la fin de l'opération chirurgicale et afin de limiter les douleurs et les réactions inflammatoires, les rats ont reçu une injection sous-cutanée de Metacam (0.5 mg/kg).

3.3.2. Dispositif stéréotaxique et préparations pré-injection

Pour effectuer des instillations intracérébrales d'acide N-méthyl-D-Aspartate (NMDA) ou de PBS dans les noyaux Reuniens et Rhomboïde (ReRh), les rats ont été placés dans un cadre stéréotaxique (Figure 18). L'appareil stéréotaxique est équipé d'un descendeur sur lequel on fixe l'aiguille de micro-injection de 0.28 mm de diamètre. Le descendeur peut se déplacer dans les trois dimensions via 3 vis réglant les 3 axes d'orientation (antéro-postérieur, médio-latéral et dorso-ventral). Pour installer le rat dans le cadre stéréotaxique, la tête du rat a été rasée, puis fixée par deux barres auriculaires et une barre incisive qui permettent de bien positionner le crâne du rat à plat entre les deux points de repères (Lambda et Bregma). Ensuite, le corps, ainsi que la queue du rat étaient emballés dans une couverture chauffante pour maintenir sa température corporelle. Pour éviter l'assèchement de ses yeux pendant l'opération, nous avons appliqué un gel ophtalmique (Lubrithal).

Une injection d'une anesthésie locale (Xylovet-lidocaine, 0.1 ml/rat) était effectuée sous la peau du crâne juste avant l'incision. La peau était nettoyée et désinfectée (alcool 70%) puis incisée longitudinalement sur l'axe de la suture sagittale jusqu'à la ligne médiane entre les deux oreilles. Le scalp était dégagé, l'os crânien nettoyé et asséché jusqu'à la visualisation des différentes sutures sur la surface de l'os, ce qui permet d'ajuster la position de crâne du rat verticalement et horizontalement si nécessaire, et de calculer les coordonnées des 3 sites d'injection via les deux points de références (Lambda et Bregma). Une fois les sites d'instillation déterminés, l'os crânien était percé en un seul point (en utilisant une fraise dentaire (\varnothing 0.3 mm)). Puis le petit trou réalisé dans la boîte crânienne était élargi sous la forme d'une fenêtre allongée permettant de réaliser les 3 instillations de NMDA / PBS dans les noyaux ReRh. Enfin, le crâne de l'animal était nettoyé et asséché à nouveau avant de commencer l'instillation (voir tableau 1).

3. Matériels et Méthodes

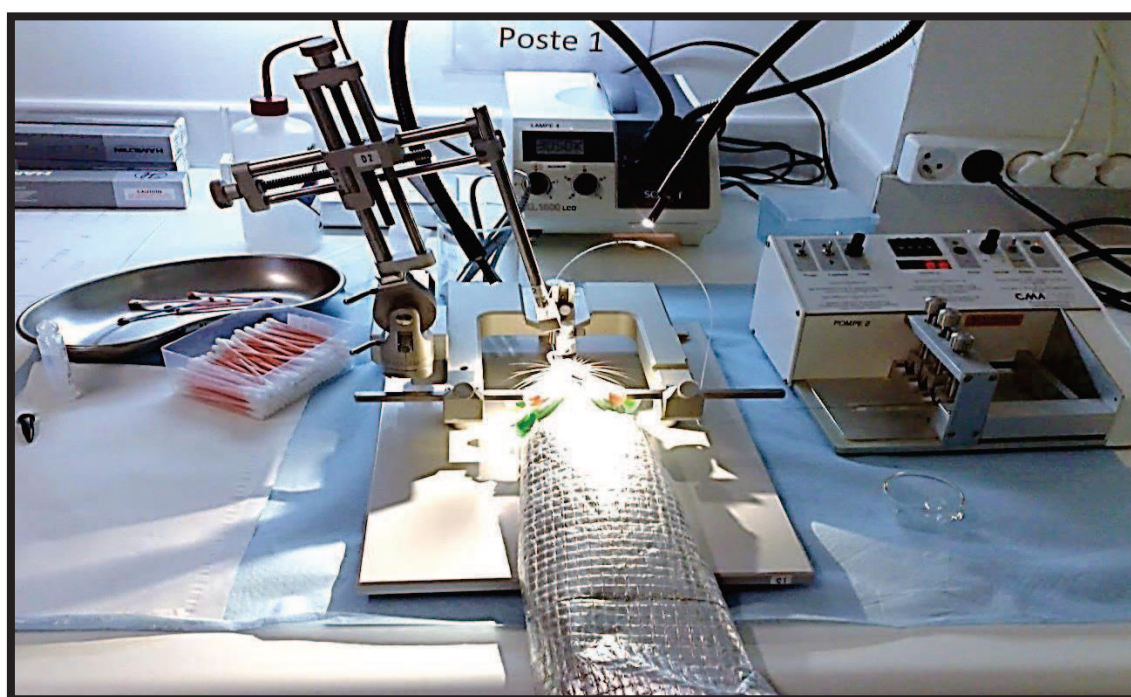
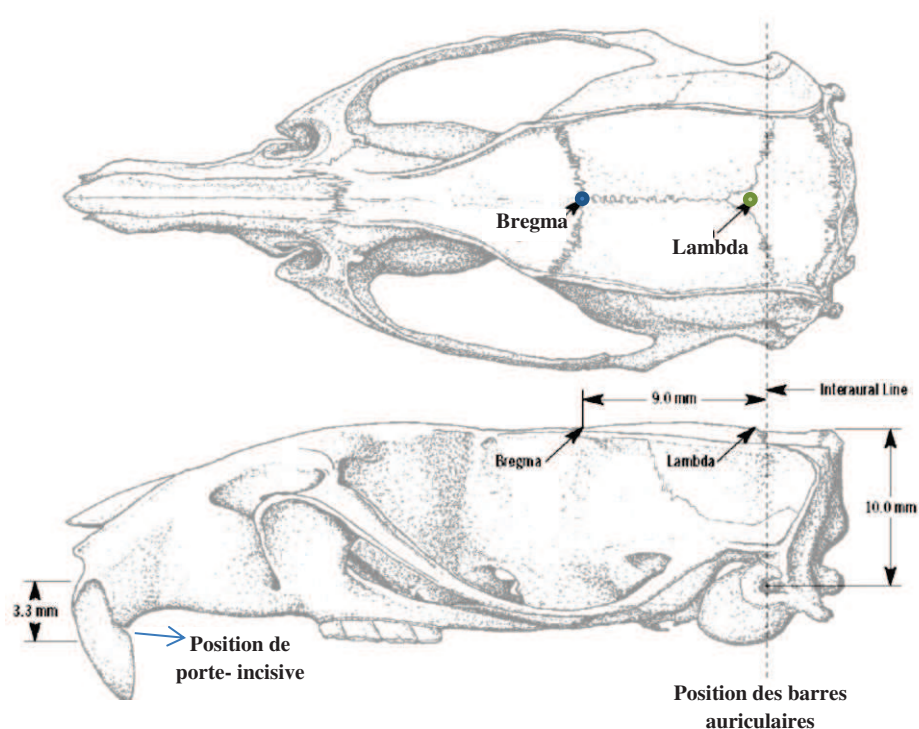


Figure 18 : (En haut), crâne du rat montrant les points Lambda et Bregma et les positions des barres auriculaires et position du porte-incisive. (En bas), poste de travail sur lequel des matériels nécessaires pour l'injection intracérébrale sont placés, dont le cadre stéréotaxique, l'aiguille d'injection, le cathéter et la pompe des micro-injections.

3. Matériels et Méthodes

3.3.3. Sites d'instillation

Les coordonnées des 3 sites d'instillation pour l'ensemble des noyaux ReRh étaient déterminées à l'aide d'un atlas stéréotaxique (Paxinos et Watson, 2007). Les trois micro-injections étaient réalisées sur la moitié des rats avec un angle du descendeur à +15°, et avec l'angle -15° pour l'autre moitié des rats (Figure 19). Cette démarche a pour but d'éviter le sinus sagittal du cerveau d'une part et l'hémorragie qui peut se produire lors de cette instillation, et d'autre part pour alterner la pénétration de l'aiguille d'injection dans l'hémisphère droit et l'hémisphère gauche. Les coordonnées stéréotaxiques pour chaque point d'injection des noyaux ReRh ont été définies sur la base des 3 dimensions : antéro-postérieure (AP) par rapport au bregma, médio-latérale (ML) par rapport à la suture sagittale et dorso-ventrale (DV) par rapport à la surface de la dure-mère. Ces coordonnées étaient calculées en fonction de bregma de chaque rat comme suivant :

Sites d'injection ReRh	AP	ML	DV
1	-1.5	±1.8	-7.0
2	-2.1	±1.8	-7.1
3	-2.7	±1.9	-7.2

Tableau 1 : Coordonnées stéréotaxiques en (mm) par rapport au bregma pour les trois sites d'injection couvrant l'étendue des noyaux reuniens et rhomboïde (**ReRh**) en trois dimensions d'après l'atlas de Paxinos et Watson, 2007. Abréviations : **ML** : axe médio-latérale; **AP** : axe antéro-postérieure; **DV** : axe dorso-ventral.

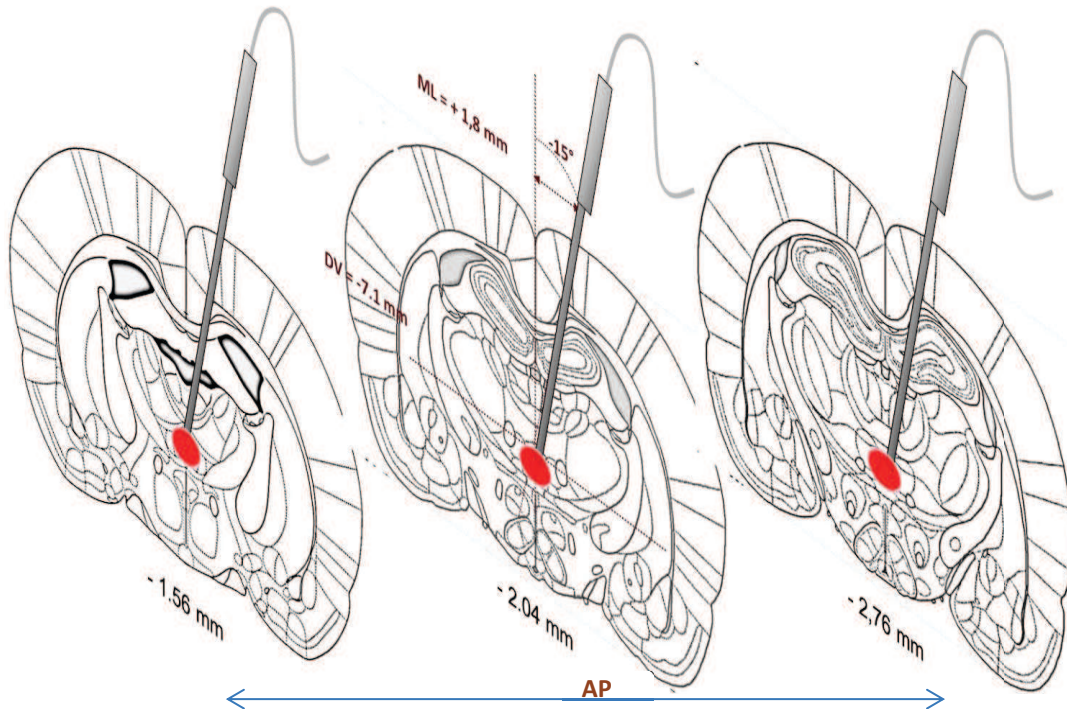


Figure 19 : Représentation schématique des sites d'instillation de NMDA dans les noyaux **ReRh** du thalamus par rapport au bregma selon l'atlas de Paxinos et Watson, 2007. **ML** : axe médio-latérale; **AP** : axe antéro-postérieure; **DV** : axe dorso-ventral.

3.3.4. Produits injectés

Pour effectuer la lésion dans les noyaux ReRh, nous avons instillé dans chaque site cible 0.1 μ l de N-méthyl-D-Aspartate (NMDA) à la dose de 0.1M (Sigma-Aldrich, ST Quentin Fallavier, France) dissout dans un tampon de phosphate salin (PBS) PH=7.0. Cette dose était déjà validée au sein de notre laboratoire (Loureiro et coll., 2012) . Pour les rats contrôle (Sham), un volume identique de PBS était instillé. Le NMDA est un agoniste des récepteurs glutaminergiques de type NMDA comme le glutamate, qui sont les principaux récepteurs excitateurs du système nerveux central. Mais contrairement au glutamate, le NMDA ne se fixe pas sur les autres récepteurs glutaminergiques AMPA et Kainate. Ainsi l'injection localisée de NMDA avec une dose appropriée dans les noyaux ReRh induit une entrée massive d'ions calcium (Ca^{++}) dans les cellules neuronales, qui amène à la mort des cellules par un mécanisme d'excitotoxicité, ainsi la destruction neuronale localisée dans le site d'instillation de NMDA.

3.3.5. Protocole d'injection

Pour l'instillation de NMDA ou de PBS, 2 rats Sham et 3 rats lésés (ReRh) étaient injectés en alternance. Juste avant l'injection, nous avons effectué des petites ponctions au niveau des méninges avec une aiguille stérile afin que les tissus du cerveau ne s'écrasent pas sous la pression superficielle de la canule d'injection fixée sur le descendeur stéréotaxique. Une pompe de micro-injection motorisée était utilisée et ajustée pour effectuer l'instillation de produit avec un débit de 0.1 μ l / min. A la suite de l'instillation, la canule était laissée en place pendant 5 min pour assurer la diffusion du produit au niveau du site. Sur le pousse-seringue de la pompe, nous avons installé une seringue en verre Hamilton de 2 μ l reliée par un cathéter en polyéthylène (50 cm longueur), et sur l'autre extrémité du cathéter, une aiguille d'injection (\varnothing 0.28 mm) était attachée et fixée sur le descendeur. Pour vérifier l'avancement du produit dans le cathéter, le système (cathéter-canule) et la seringue étaient remplis d'abord avec l'eau et une petite bulle d'air était faite entre la solution à instiller et l'eau stérile permettant de repérer le déplacement de liquide : l'eau dans la seringue était évacuée par la canule, la bulle d'air formée en retirant le pousse-seringue d'environ 0.1 μ l, puis le produit à instiller était prélevé à partir de la canule. Une fois l'instillation réalisée, la canule est retirée lentement, le champ opératoire nettoyé, et le scalp refermé et suturé avec un fil à coudre en coton stérile. Enfin, le scalp était nettoyé et désinfecté à nouveau, puis le rat était placé dans une cage individuelle sous une lampe chauffante jusqu'au son réveil, et enfin ramené dans la pièce de stabulation..

3.4. Observations comportementales

Tous les tests comportementaux étaient effectués durant la phase diurne sauf le test d'actographie où les activités locomotrices étaient enregistrées pendant 24h.

3.4.1. Piscine de Morris

Il existe plusieurs dispositifs permettant d'évaluer la capacité d'apprentissage et de la mémoire spatiale chez le Rat. Le test de la piscine de Morris a été décrit par son fondateur Richard Morris en 1984. Il est l'un des tests les plus utilisés dans les recherches expérimentales en Neurosciences cognitives et présente beaucoup d'avantages notamment

3. Matériels et Méthodes

pour les protocoles visant à évaluer la mémoire spatiale de référence chez le Rat (D'Hooge et De Deyn., 2001, voir aussi chapitre 3, paragraphe 3.4).

3.4.1.1. Dispositif

La piscine de Morris est un dispositif aquatique circulaire (\varnothing 160 cm et 60 cm d'hauteur) rempli à mi-hauteur avec de l'eau fraîche (21 ± 1 °C) et opaque (en ajoutant 550 g de lait en poudre). Le dispositif est divisé virtuellement en 4 quadrants et placé dans une pièce comprenant de nombreux indices distaux (Figure 20). Il dispose également d'une plateforme transparente (\varnothing 10 cm) immergée à 2 cm sous la surface de l'eau. Le principe de ce test est simple : le rat en nageant dans la piscine doit échapper à l'eau fraîche, et donc trouver la plateforme cachée en s'aidant des indices spatiaux présents dans la pièce. En effet, cette aversion aquatique pour l'eau fraîche est suffisante pour motiver le rat à réaliser cette tâche. Pour enregistrer tous les paramètres comportementaux et suivre le trajet de chaque rat, une caméra est placée au-dessus du bassin et branchée à un ordinateur, et les données sont analysées par un logiciel (SMART; PanLab).

3.4.1.2. Procédures

Nous avons utilisé un protocole qui permet d'examiner la mémoire spatiale de référence chez les rats (Annexe 1). Pour cela, la localisation de la plateforme cachée ne varie pas pendant la phase d'acquisition. La tâche dans ce protocole nécessite donc l'utilisation d'une carte cognitive, qui permet l'acquisition de la localisation de la plateforme. Le test a commencé le jour 0 (phase d'habituation) avec 4 essais consécutifs et différents points du lâcher, les rats étaient testés pendant ce jour en utilisant des rideaux masquant les indices distaux et une plateforme visible. Ce jour d'habituation permettait, d'une part de familiariser les rats au dispositif expérimental et d'autre part, d'évaluer la présence d'éventuels problèmes pouvant influencer les paramètres spatiaux comme par exemple, aspects sensorimoteurs et d'ordre motivationnel. Ensuite, les rats étaient entraînés pendant 8 jours (phase d'acquisition) avec une plateforme cachée. Cette durée permet d'obtenir de bonnes performances lors du test de rappel d'une mémoire ancienne chez les animaux contrôles (Loureiro et coll., 2012; Lopez et coll., 2012). Durant cette phase d'acquisition, l'animal était placé dans la piscine face à la paroi et devait effectuer 4 essais consécutifs de 60 sec chacun, les 4 points de lâcher étant randomisés chaque jour. Cette randomisation des points du départ empêche l'animal d'utiliser une stratégie de type égocentrique pour localiser la plateforme (exemple : tourner toujours à droite ou suivre des séquences de mouvements), et favorise l'utilisation d'une stratégie

3. Matériels et Méthodes

allocentrique basée sur l'utilisation des indices visuels de l'environnement quelle que soit sa position dans la piscine (Terry, 2009). Quand le rat arrivait à la plateforme, il y était laissé durant environ 15 sec avant d'être récupéré pour débiter l'essai suivant. Si le rat ne trouvait pas la plateforme au terme des 60 sec, il était guidé par l'expérimentateur vers celle-ci et y était laissé durant 15 sec. Différents paramètres peuvent être enregistrés, comme la latence d'arrivée à la plateforme, la distance parcourue pour l'atteindre, la vitesse et également le temps passé dans la zone prédéfinie de 20 cm tout au long des parois de la piscine que l'on appelle la thigmotaxie. En général, cette phase d'acquisition se caractérise par une diminution progressive de la latence ainsi que la distance pour arriver à la plateforme au cours des jours d'entraînement. Ainsi, l'animal au début du test passera plus du temps dans la zone de thigmotaxie, mais avec les essais le rat explore progressivement l'ensemble de la piscine et apprend à retrouver rapidement la plateforme. À la fin de cette phase, le trajet parcouru jusqu'à la plateforme devient très direct chez un animal 'standard' (Figure 20 c).

Le test de rétention ou (*probe test*) était réalisé 25 jours après le dernier jour d'acquisition. La plateforme était enlevée et le rat disposait d'un seul essai de 60 sec pour explorer la piscine. Plusieurs paramètres étaient analysés comme le temps passé dans chaque quadrant, la latence de la première visite à l'emplacement où se trouvait la plateforme durant l'acquisition, ainsi que le nombre de passages dans cette zone ou dans *l'annulus*, qui désigne une zone virtuelle correspondant à la surface de la plateforme élargie d'un anneau de 10 cm. La performance de rappel pour les rats était ainsi évaluée par la préférence de recherche dans le quadrant cible où la plateforme était localisée lors de l'acquisition. Ainsi, un rat qui se souvient de l'emplacement de la plateforme passe significativement plus de 25% du temps (soit 15 sec de la période de test) dans le quadrant cible, c'est-à-dire plus de temps que ne le prédit le hasard.

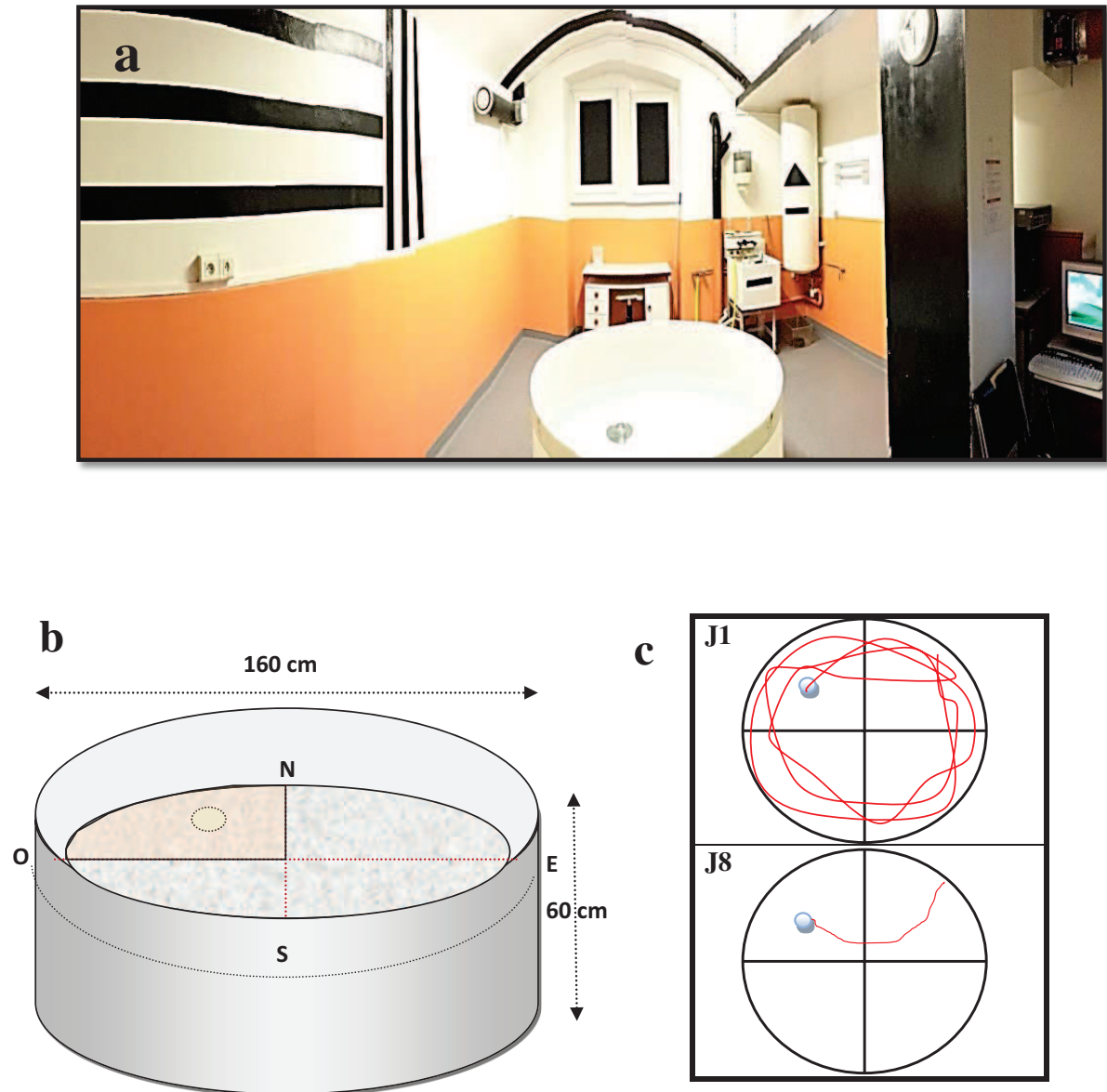


Figure 20 : Test de la piscine de Morris ou (MWM). **Image (a)**, salle du test de piscine de Morris dans laquelle des indices distaux sont distribués autour du bassin. **Image (b)**, une représentation tridimensionnelle du bassin utilisé pour le test de la piscine de Morris, rempli avec de l'eau et divisé en 4 quadrants, l'un des quadrants (le quadrant NO) contient une plate-forme cachée sous l'eau. Dans l'image (c), une représentation caractéristique du trajet d'un rat intact dans la piscine pendant le premier jour (J1) et le dernier jour d'entraînement (J8), le cercle gris représente la plateforme cachée, le trajet devient direct après 8 jours d'acquisition montrant un bon apprentissage de cette tâche spatiale (voir également annexe 1).

3.4.2. Labyrinthe en croix surélevé (*plus maze*)

Le test du labyrinthe en croix sur-élevé (ou *plus maze* est) le test le plus commun pour examiner l'anxiété chez les rongeurs et les effets des substances anxiolytiques ou anxiogènes (Pellow et File, 1986). Nous avons évalué le niveau d'anxiété de nos rats en deux occasions, deux jours avant l'entrée dans le milieu enrichi, et deux jours après la période de milieu enrichi. Puisqu'il existe des connexions anatomiques entre les structures d'intérêt dans cette étude (mPFC, hip et ReRh) et d'autres structures du système limbique impliquées dans l'anxiété comme l'amygdale (Vertes et coll., 2015); ce test permettrait de vérifier l'influence de la lésion ReRh et de la condition d'élevage enrichi vs standard sur le niveau d'anxiété pouvant affecter la performance dans la piscine de Morris.

3.4.2.1. Dispositif

Le labyrinthe en croix sur-élevé (Figure 21) consiste en 4 branches dont deux branches ouvertes orientées Est-Ouest et deux branches fermées orientées Nord- Sud; chacune mesure 10 cm de largeur et 50 cm de longueur, et la hauteur des parois pour les branches fermées était de 40 cm, les bras à l'intersection faisait une zone centrale. L'ensemble du dispositif était à une hauteur d'environ 70 cm du sol. L'éclairage dans la pièce du test était ajusté avec 4 lampes halogènes de manière à ce que l'intensité de la lumière sur les deux bras ouverts ne dépasse pas 10 lux et 2 à 3 lux dans les bras fermés. Une caméra située au-dessus du dispositif était reliée à un écran pour visualiser les déplacements des rats. Sur un ordinateur, le logiciel '*CRONOS*' était utilisé pour enregistrer le nombre d'entrées, ainsi que le temps passé dans les différentes zones. Le test est basé sur le fait que les rats n'aiment pas les endroits ouverts (éclairés) et surélevés. En règle générale, les rats passeront plus du temps dans les bras fermés qui représentent un lieu sombre et plus sécurisant. Un rat anxieux passera alors moins de visites et/ou du temps passé dans un environnement inconfortables et plus aversif (les bras ouverts et sur-élevés), et en vice versa. De plus, le nombre total de visites effectué dans tous les bras est un indicateur de l'activité générale des rats.

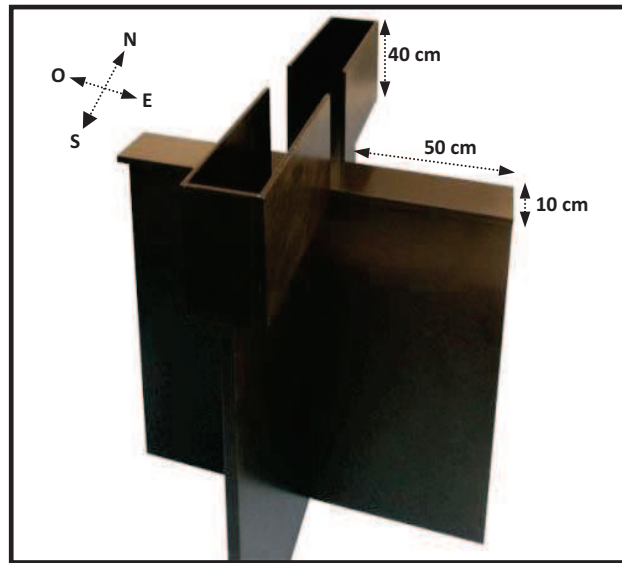


Figure 21 : Photographie du labyrinthe en croix surélevé (ou *plus maze*) avec ses dimensions.

3.4.2.2. Procédures

Trente minutes avant le test, tous les rats étaient installés dans une pièce adjacente de la salle de test. Chaque rat disposait ensuite de 5 min d'habituation dans la salle de test. Pendant ce temps (5 min), un autre rat passait dans le test. Pour commencer le test, le rat était placé au centre du labyrinthe, sa tête dirigée vers le bras nord (bras fermé). Une entrée était comptée lorsque les quatre pattes étaient entièrement dans l'un des bras du labyrinthe. Avant de passer un rat suivant, le dispositif était nettoyé à l'aide d'alcool absolu pour limiter l'influence des traces olfactives qui pourraient perturber la performance pendant le test.

3.4.3. Test d'activité locomotrice (Actographie)

Le test d'actographie permet d'enregistrer l'activité locomotrice spontanée horizontale d'un rat dans sa cage d'élevage pendant une période variable, à savoir de quelques heures à plusieurs jours (24h le plus souvent). Le test était réalisé dans l'objectif de vérifier l'impact de la lésion ReRh et/ou l'environnement enrichi sur l'activité locomotrice chez les rats.

3.4.3.1. Dispositif

L'actographie (Figure 22) consiste en des cages standards placées sur des étagères en parallèle, le test permet de mesurer l'activité locomotrice de plusieurs rats simultanément. Chaque cage transparente était équipée de deux cellules photoélectriques avec leurs

3. Matériels et Méthodes

réflecteurs situés latéralement à 4,5 cm du fond de la cage et à 4 cm de l'extrémité de la cage, latéralement. Celle-ci ne contenait que peu de la litière de façon à ce que les faisceaux infrarouges qui traversent les deux extrémités de la cage ne soient pas bloqués pendant le déplacement de rat. Toutes les cellules sont reliées à un ordinateur fourni avec un logiciel permettant d'enregistrer le nombre de passages entre les deux extrémités de chaque cage. Un passage est compté quand les deux faisceaux sont interrompus successivement. Le logiciel permet aussi d'enregistrer les activités avec différents intervalles (5 min, 10 min, 15 min, 60 min....etc.).

3.4.3.2. Procédures

Le jour de test, tous les rats étaient placés individuellement dans des cages propres fournies avec de l'eau et de la nourriture, l'enregistrement était ensuite lancé pour une période de 24h à partir de 10h. Ainsi, trois phases étaient enregistrées, l'habituatation (3 premières heures), une phase diurne (13h-19h et 7h-10h le lendemain), et la phase nocturne (19h-7h).

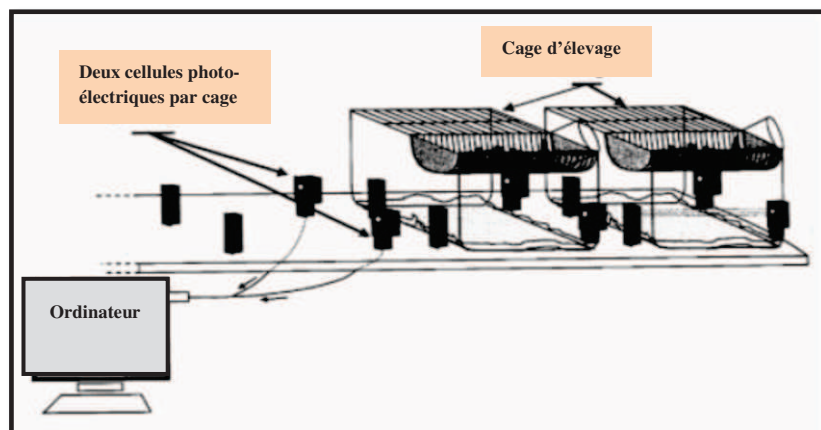


Figure 22 : Représentation schématique du test d'actographie dans les cages d'élevage.

3.4.4. Relevés des poids des animaux

Afin de surveiller l'évolution pondérale de nos rats tout au long de nos expériences, les rats ont été pesés une fois par semaine. En effet, cette mesure nous permettait d'une part, de contrôler leur bien-être et d'autre part, d'évaluer l'impact de la lésion ReRh et/ou de la condition d'élevage sur la prise de poids.

3.5. Analyse biochimique du niveau de corticostérone plasmique

Généralité: Pour effectuer une mesure complémentaire permettant de vérifier le niveau de stress chez nos animaux, nous avons analysé le taux de corticostérone après le test de rappel d'une mémoire ancienne. La corticostérone est une hormone du type glucocorticoïde produite principalement par les glandes surrénaliennes à partir du cholestérol, et qui est libérée dans la circulation sanguine. La corticostérone exerce un contrôle rétroactif important sur l'axe HPA (*hypothalamic-pituitary-adrenal axis*). Les effets de cette hormone sont médiés à la fois *via* les récepteurs cytoplasmiques minéralcorticoïdes et les récepteurs glucocorticoïdes, qui agissent comme des ligands induisant les facteurs de transcription. Ainsi, cette hormone est impliquée dans de nombreuses fonctions physiologiques et comportementales. Son influence sur les processus mnésiques et émotionnelles est multiple, souvent associée au stress, qui pourrait avoir un impact facilitateur ou inhibiteur sur l'apprentissage et la consolidation de la mémoire (rev. Joëls et coll., 2006; Sandi et Pinelo-Nava, 2007).

Protocole : Nous avons évalué la concentration de la corticostérone plasmique chez les différents groupes étudiés en condition de rappel ancienne (90 min), ou en condition basale (*home cage*). Pour limiter la variation des taux de la corticostérone liée à la période journalière, nous avons mesuré les échantillons prélevés entre 8h30 et 12h30. Le prélèvement sanguin était réalisé directement via une ponction cardiaque (oreillette droite) au moment de la perfusion des cerveaux et avant la circulation du produit fixateur. Les prélèvements étaient récupérés dans des tubes (3ml) prétraités avec 15µl d'héparine sodique (Choay, 25000 U.I/5ml), puis centrifugés pendant 6 minutes (10000 rpm) à la température ambiante, ensuite les plasmas séparés étaient récupérés par une pipette et placés dans des tubes Eppendorfs (300µl chacun), ceux-ci étaient conservés au congélateur -80°C. Brièvement, le dosage dépendait principalement en immuno-absorption par une enzyme liée permettant de détecter la présence d'un anticorps spécifique de la corticostérone dans un échantillon. Ensuite, on incube un substrat spécifique à l'enzyme qui, si la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché), va être transformé et induire un changement de couleur proportionnel à la quantité de corticostérone capturées dans l'échantillon. Ainsi, l'intensité de cette coloration va révéler la concentration de corticostérone, celle-ci était mesurée par un lecteur de microplaque avec spectrophotomètre (*SPECTROstar Nano*).

3.6. Histologie et Immunohistochimie

3.6.1. Euthanasie et prélèvement des cerveaux

À l'issue du dernier test comportemental, tous les rats (y compris les animaux HC) ont été mis à mort et leurs cerveaux ont été prélevés pour les vérifications histologiques de l'étendue de la lésion ReRh et les analyses immuno-histochimiques de l'expression de la protéine c-Fos. Quatre-vingt-dix minutes après la fin du test de rétention, chaque rat recevait une injection intra-péritonéale de pentobarbital sodique à une dose létale (273,5 mg/kg). Ce délai (90 min) après le test du rappel est utilisé dans la plupart d'études visant à mettre en évidence l'expression de certains gènes précoces liés avec les processus de la plasticité synaptique et/ou la mémoire car il correspond au temps nécessaire à l'expression de ces gènes et à leur traduction en protéines (exemple : Loureiro et coll., 2012).

3.6.2. Fixation des cerveaux

Afin de fixer les tissus cérébraux, nous avons réalisé une perfusion lente intra-cardiaque en injectant 50 ml de NaCl à 4°C pendant 5 minutes dans la circulation sanguine, puis 150 ml de paraformaldéhyde (PAF 4%) à 4°C pendant 20 min. Par la suite, les cerveaux étaient prélevés délicatement de la boîte crânienne et placés dans le même fixateur à 4°C pendant une période de post-fixation de 2h, puis transférés dans une solution de saccharose (30 %; étape de déshydratation permettant une meilleure cryoconservation du tissu, ainsi éviter la formation de cristaux lors de la congélation) et conservés ainsi pendant 48h à 4°C. Enfin, les cerveaux étaient congelés rapidement (1 min) dans l'isopentane à -40°C et conservés à -80°C.

3.6.3. Coupes au cryostat

Pour chaque cerveau nous avons réalisé des coupes coronales d'épaisseur 40 µm via un cryostat (HM-500) à -20°C. Les coupes étaient placées directement dans une plaque à puits (24 puits), contenant un cryoprotectant composé de mélange de glycérol, éthylène glycol et de phosphate de sodium dissout dans l'eau distillée. Les coupes de chaque bloc d'une région cérébrale étaient placées de manière sérielle dans 6 puits adjacents, puis conservées à -20°C.

3.6.4. Evaluation de la lésion des noyaux ReRh (Marquage NeuN)

Pour quantifier l'étendue de la lésion ReRh pour chaque animal, nous avons réalisé une révélation immunohistochimique (IHC) de la protéine NeuN pour détecter spécifiquement les neurones. Le NeuN (*Neuronal Nuclei*) est une protéine nucléaire qui caractérise les neurones, décrit pour la première fois en 1992 par Mullen et ses collaborateurs comme un marquage

3. Matériels et Méthodes

spécifique des neurones chez les vertébrés. Ainsi, avec une injection de NMDA, entraînant la mort des neurones par excitotoxicité, le marquage doit être absent dans le site injecté (Figure 23). Nous avons utilisé un protocole immunohistochimique sur des coupes flottantes. Les coupes sur lesquelles sont présents les noyaux ReRh s'étendent à partir du Bregma -1.20 mm jusqu'au Bregma -3.48 mm, selon l'atlas de Paxinos et Watson (2007). Dans l'ensemble de cet intervalle, 1 coupe sur 6 a été utilisée pour cette immunohistochimie. Les coupes étaient transférées dans des puits contenant 350 µl de PBS chacun, et rincées 3 fois pendant 10 min sous agitation lente et à la température ambiante. Les coupes étaient incubées par la suite dans un sérum d'âne pendant 1h, dilué à 5% dans un tampon PBS Triton. Ce dernier diluant contient 0.5% de Triton X-100 pour augmenter la perméabilité des membranes, ainsi que l'efficacité de différents réactifs. Cette incubation permet de bloquer les sites aspécifiques grâce au sérum d'âne. Après cette étape, les coupes étaient incubées pendant toute la nuit et à température ambiante avec l'anticorps primaire anti-NeuN (AcI^{aire} anti-NeuN monoclonal dérivé et purifié de l'immunoglobuline de la souris : Millipore, Chemicon, MAB377), dilué dans le PBS Triton au 1/2000^{ème}. Le lendemain, les coupes étaient rincées 3 fois pendant 10 min avec du PBS, puis incubées avec l'anticorps secondaire anti-souris pendant 1h (AcII^{aire} biotinylé anti-souris : Vector, BA 2001), dilué au 1/500^{ème} dans le PBS Triton. Les coupes étaient rincées comme précédemment avant d'être incubées à l'obscurité pendant 45 min avec le complexe Avidine-Biotine-Peroxydase (Kit Elite ABC standard, Vectastain, Vector, PK 6100), dilué au 1/500^{ème} dans de l'eau ultra-pure. Les réactifs étaient préparés avant 30 minutes de l'incubation. Les coupes étaient ensuite rincées 2 fois pendant 10 min avec le PBS puis, une fois avec un tampon TRIS (pH 7.6). Ensuite, la révélation était réalisée avec la solution de 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB) diluée dans l'eau distillée (Kit DAB, SK 4100, Vector). Le temps de la révélation était de 8 min, puis la réaction était arrêtée par 2 rinçages avec le PBS et un troisième rinçage avec le PBS merthiolate utilisé comme un agent de conservation et de destruction des germes. Après la révélation immunohistochimique, les coupes étaient montées sur des lames gélatinées et séchées dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Les lames étaient ensuite rincées dans un bain d'eau ultra-pure, puis déshydratées dans une série de bains contenant de l'alcool de concentration croissante (75%, 95%, 100%). Enfin, les lames étaient placées dans un bain contenant un solvant histologique (Clearify, Houston, USA) avant d'être montées sous lamelles en utilisant un milieu de montage (DIAMOUNT).

3. Matériels et Méthodes

L'évaluation des lésions ReRh étaient effectuées par une observation au microscope optique et en les dessinant sur des planches de l'atlas (Paxinos et Watson, 2007). Les rats qui présentaient des lésions inadéquates (ex : trop petites, trop larges ou mal localisées) étaient éliminés des résultats selon les critères utilisés précédemment par Loureiro et coll. (2012). Les dessins étaient ensuite retracés sur une tablette graphique reliée à un ordinateur avec le logiciel '*ImageJ*' qui permet de transformer les surfaces dessinées et calculées en unité de pixel vers l'unité en mm². Ainsi, la lésion des noyaux thalamiques étaient quantifiée par la division de l'aire lésée sur l'aire totale de ces noyaux. Pour chaque noyau de chaque animal, cette méthode était appliquée sur plusieurs plans afin d'obtenir une estimation totale pour la lésion sur toute l'étendue antéro-postérieure des noyaux thalamiques. Enfin, une évaluation de la taille de lésion chez tous les animaux opérés (ReRh) était calculée par la moyenne totale des lésions pour chaque noyau.

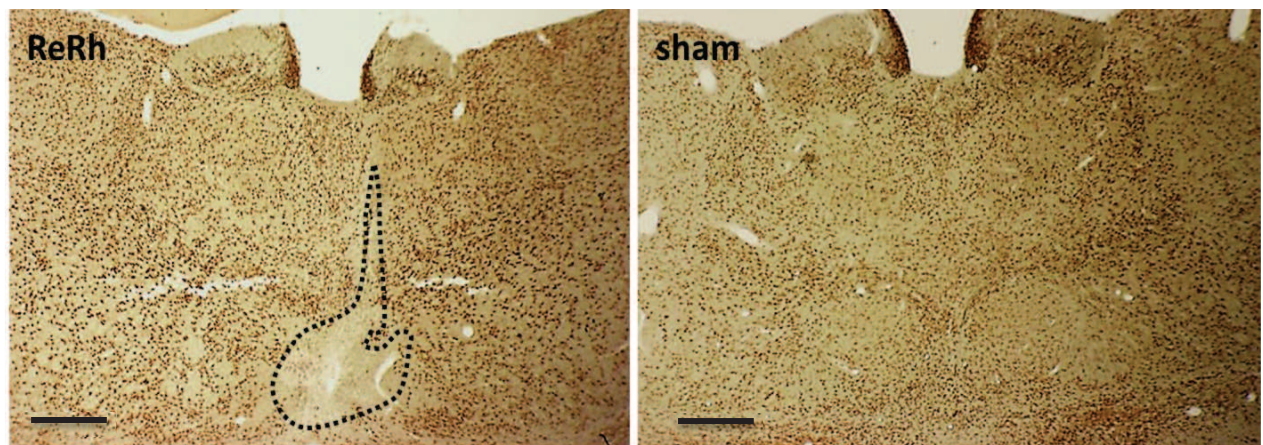


Figure 23 : Un exemple typique d'immuno-marquage NeuN pour deux coupes cérébrales au même niveau antéro-postérieur (AP) de l'atlas de Paxinos et Watson (2007), présentant une lésion excitotoxique des noyaux ReRh (à gauche) ou un tissu sain issu d'un animal Sham (à droite). Barre d'échelle = 500 μ m.

3.6.5. Immunomarquage de l'activité neuronale (c-Fos)

3.6.5.1. Principe

Les protéines Fos, Zif268 et Arc sont très fréquemment utilisées comme des marqueurs d'activité neuronale, visant à mettre en évidence la cartographie de l'activité fonctionnelle de certaines régions cérébrales à l'issue d'une stimulation. L'expression des gènes précoces

3. Matériels et Méthodes

codant ces protéines est rapide et immédiate. En fait, le déclenchement de cette expression nécessite l'activation par une cascade de kinases suite à l'activation du récepteur NMDA (dizaines de minutes). Cette expression nécessite également la synthèse des facteurs de transcription comme CREB qui modifient l'expression d'autres gènes appelés gènes tardifs, qui sont à leur tour responsables de multiples fonctions cellulaires et biologiques (pour revue voir Herdegen et Leah, 1998; Kim et coll., 2013). Certains auteurs ont démontré que l'expression de ces gènes est liée à des modifications synaptiques importantes après la réalisation d'un test de mémoire et participent notamment aux processus de consolidation mnésique (He et coll., 2002; Hughes et Dragunow, 1995; Okuno, 2011; Zhang et coll., 2011). Ainsi, le blocage ou l'inhibition de la transcription des gènes *c-fos* et *zif268* peut induire une perturbation de la consolidation de mémoire à long terme mais sans affecter l'acquisition ou la rétention des informations à court terme. A titre exemple, chez la souris transgénique KO (gènes *c-fos* invalides dans le système nerveux central), l'animal présentait un déficit dans la mémorisation à long terme à la fois, dans une tâche de navigation spatiale évaluée en piscine de Morris, et dans un test de conditionnement de peur contextuelle (Fleischmann et coll., 2003; voir aussi chapitre 6, paragraphe 6.4.2).

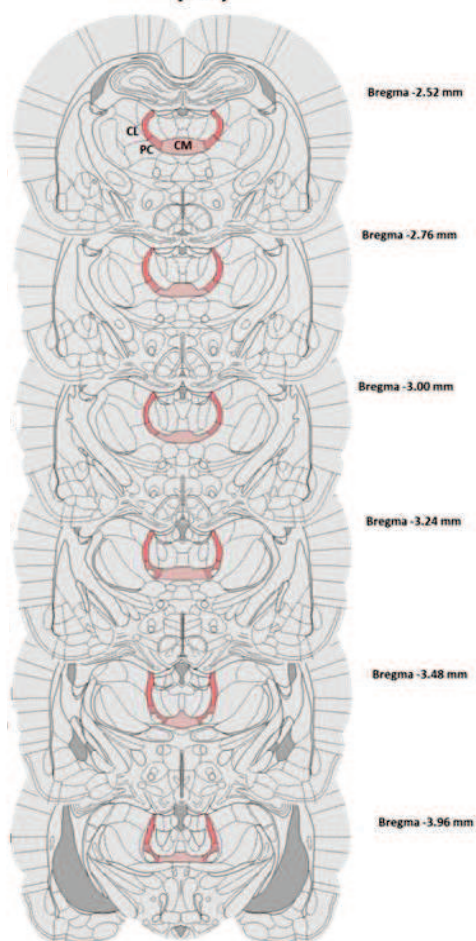
L'expression du gène *c-fos* a un avantage de l'activité basale très faible dans les tissus non stimulés, du fait que le seuil d'induction du gène *c-fos* est assez élevé par rapport à d'autres gènes précoces comme *zif268*. Ainsi, *c-fos* pourrait présenter une mesure d'activité neuronale fiable dans les études comportementales notamment cognitives et émotionnelles (rev : Okuno, 2011). De plus, le délai entre le moment de la stimulation neuronale et la synthèse protéique de Fos, qui est nécessaire pour la mise en œuvre d'une cascade des processus intracellulaires, sera un autre avantage de cette technique permettant de refléter une image miroir de l'activité cérébrale dans un délai de temps retardé par rapport le moment du test comportemental provoquant cette activation, soit 90 min plus tard. Dans nos expériences, des groupes des rats contrôles (*home cage*) étaient utilisés pour comparer le profil d'expression neuronale basale dans plusieurs régions cérébrales, à celui chez des rats ayant les mêmes conditions réalisant le test du rappel spatial, ce qui permettrait d'isoler l'influence de tout autre facteur non-associé au processus du rappel d'une mémoire ancienne (stress, navigation ou manipulation), ceci peut modifier l'activation neuronale dans des régions étudiées.

3.6.5.2. Protocole

Pour voir la cartographie de l'activité neuronale des structures cérébrales à l'issue du test de rappel ancien, une révélation immunohistochimique de la protéine Fos était réalisée dans les régions et sous-régions suivantes : le **cortex préfrontal médian (mPFC)**, soit le cortex prélimbique (**PL**), infralimbique (**IL**) et cingulaires antérieur rostraux (**Cg1**) complété au **cortex cingulaire caudal (Cg1+Cg2)**. **Hippocampe dorsal (dHip)** : la corne d'Ammon (**CA1, CA3**) et le gyrus denté (**DG**). **Noyaux intralaminaires (ILN)** qui comprend les noyaux centraux médians (**CM**), paracentraux (**PC**) et centraux latéraux (**CL**). **Noyaux amygdaliens** qui comprennent les noyaux centraux (**CE**), basolatéraux (**BLA**), basomédiaux (**BMA**) et médiaux (**ME**). Les coupes sélectionnées de chaque région, ainsi que leurs étendues en bregma, sont représentées dans la figure 24. Le protocole immunohistochimique de la protéine Fos est similaire à celui utilisé pour la révélation IHC décrite pour le marquage NeuN, sauf que les anticorps sont différents : AcI^{aire} anti-c-Fos polyclonal dérivé et purifié de l'immunoglobuline du lapin (CS-52, Santa Cruz, USA), dilué au 1/2000^{ème}, et l'AcII^{aire} biotinylé de chèvre anti-lapin (111-065-144, Jackson Immuno-Research, West Grove PA), dilué au 1/500^{ème}.



Noyaux intralaminaires du thalamus (ILN)



Suite figure 24.

3.7. Méthode stéréologique pour évaluer l'activité de c-Fos

3.7.1. Introduction

Dans le cadre d'une quantification microscopique de cellules dans un tissu ou une structure d'intérêt, les méthodes de comptages classiques en deux dimensions (2D), appelées comptages de profils, présentent certaines limitations et notamment peuvent induire des biais forts, conduisant à une surestimation ou sous-estimation des objets quantifiés (ex, cellules, tissus lésés pathologiques), en particulier car les échantillons choisis ne représentent pas nécessairement l'organe entier du fait que ceux-ci ne sont pas déterminés au hasard et donc que chaque cellule ou objet n'a pas une chance égale d'être sélectionné(e) et analysé(e) (Ochs et Mühlfeld, 2013). En revanche, grâce à la méthode stéréologique, aucune hypothèse n'est posée à priori, limitant ainsi les biais qui peuvent se produire dans l'analyse quantitative (Boyce et coll., 2010). La stéréologie offre un ensemble d'outils d'évaluation quantitative de structures en trois dimensions (3D) à partir d'observations faites sur des sections en 2D. Elle permet l'estimation de 4 grandeurs (nombre, surface, longueur, volume) et est basée sur des méthodes mathématiques et statistiques. La stéréologie utilise comme outils de mesure, des sondes géométriques qui sont superposées sur les coupes, et le nombre des intersections de la sonde avec les éléments structuraux à estimer est déterminé. Ainsi, dans le cas d'un comptage cellulaire au sein d'une structure, la stéréologie prend donc en compte la composition tridimensionnelle dans l'espace (largeur, longueur et profondeur) permettant d'estimer quantitativement les éléments structuraux qui ne peuvent pas l'être avec les méthodes classiques en 2D (Figure 25).

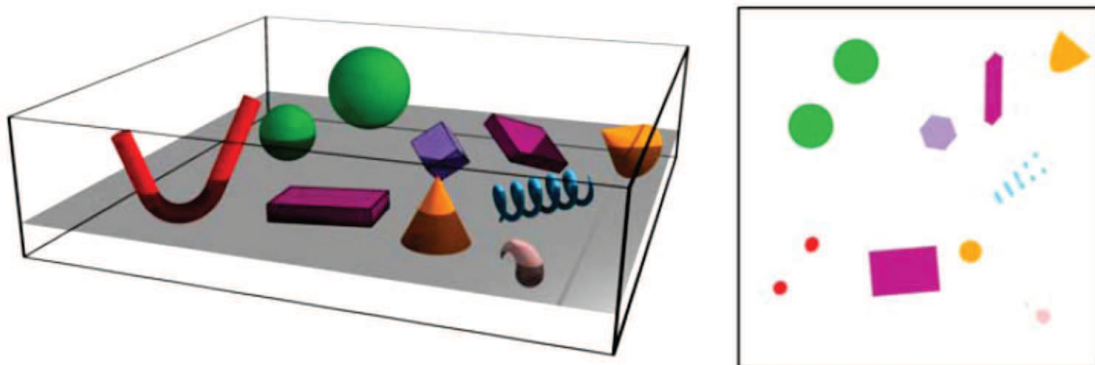


Figure 25 : Une structure complexe en 3D découpée horizontalement selon un plan en 2D dans lequel des informations précises sont masquées car les différentes structures 3D sont réduites à des profils en 2D dans le plan de coupe. Ainsi, des structures non-similaires en 3D peuvent produire des profils similaires en 2D et vice versa d'après Boyce et coll., 2010.

3. Matériels et Méthodes

Dans nos expériences, l'approche stéréologique était utilisée pour faire une estimation quantitative de nombre total de neurones exprimant la protéine Fos dans différentes structures cérébrales, ceci à partir des coupes représentatives (ou échantillons).

3.7.2. Principes d'échantillonnage

En pratique, la stéréologie consiste en 2 principales étapes : l'échantillonnage et la mesure. La quantification stéréologique dépend donc: **(i) d'un échantillonnage non-biaisé au niveau des coupes** et **(ii) d'un sondage mathématique non-biaisé d'images microscopiques**. Dans la première étape, elle s'agit donc d'une sélection aléatoire pour obtenir un échantillon uniforme et systématique (c'est-à-dire que tout élément du tissu d'intérêt a une chance égale d'être sélectionné) qui est représentatif de l'organe ou de la région étudiée dans son entier. Dans notre cas et pour compter les neurones c-Fos, nous avons utilisé un échantillonnage de sections uniformes et systématique (voir Figure 26) à savoir: après avoir défini les limites selon l'atlas de Paxinos et Watson (2007) de chaque structure telles que le mPFC par exemple, des sections (échantillons) à une épaisseur égale (40 μm) étaient découpées à l'aide d'un cryostat et placées dans des plaques à 24 puits de manière à ce que toutes les coupes issues d'une région cérébrale soient collectées dans 6 puits adjacents, puis les coupes étaient placées dans l'ordre de 1 à 6 (Figures 26D et E). Ainsi, dans chaque puit se trouvait une fraction des coupes représentant un échantillon d'une région d'intérêt (1 coupe sur 6 pour chacun) avec un intervalle uniforme entre 2 coupes d'un puit égal à 240 μm . L'étape suivante à ce niveau de l'échantillonnage des coupes était de sélectionner un puit/6 aussi de manière aléatoire (non-biaisée) en utilisant un dé pour obtenir un échantillon uniforme et systématique. Cette méthode assure que toutes les coupes dans une région avaient la même probabilité d'être échantillonnées et testées en immunohistochimie.

3. Matériels et Méthodes

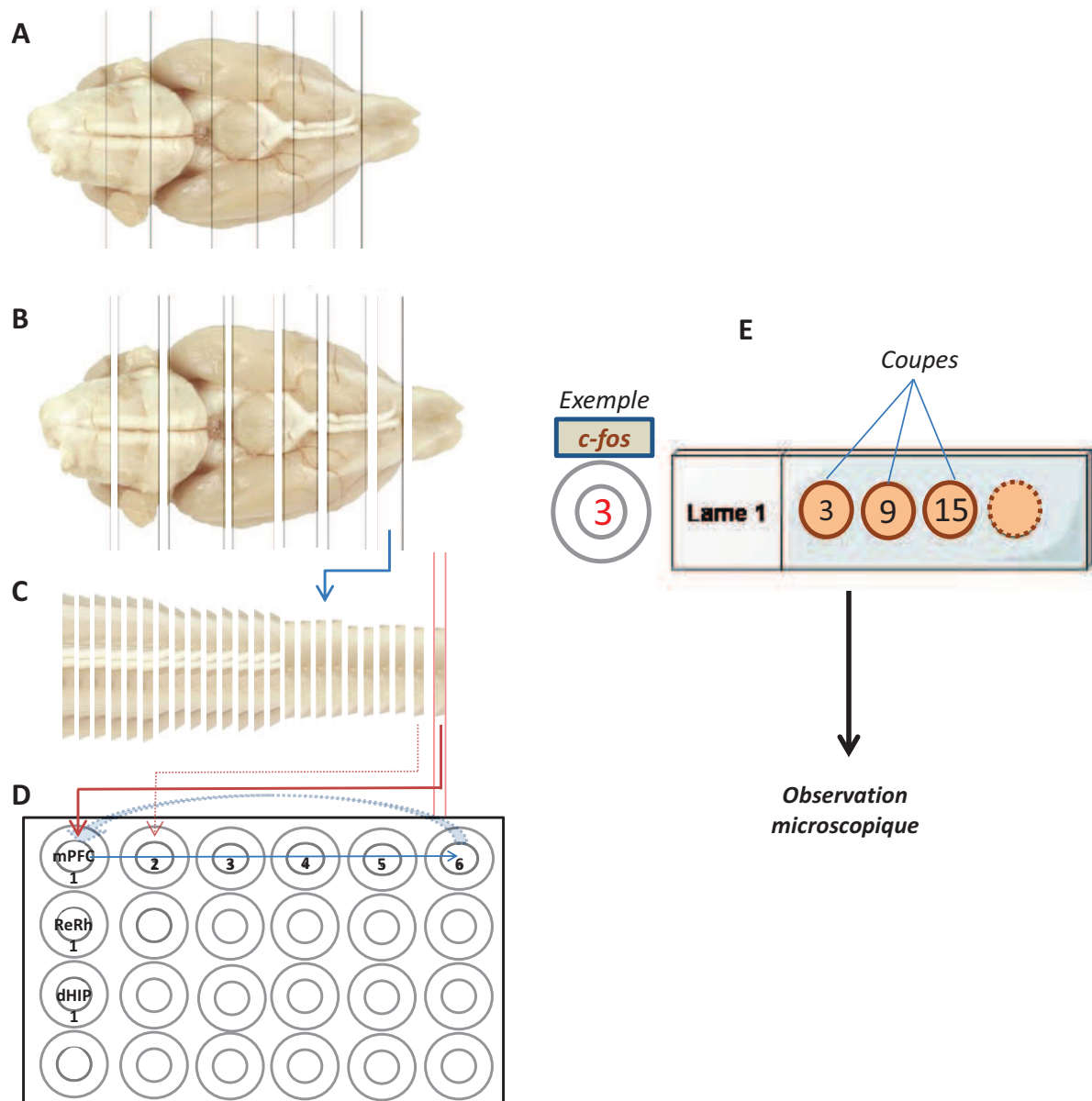


Figure 26 : Echantillonnage au niveau de sections (coupes) pour un comptage stéréologique. Les régions d'intérêt dans un cerveau du rat (A) étaient déterminées, au niveau antéro-postérieur, selon des blocs (B) contenant l'étendue d'une ou plusieurs régions cibles à l'aide de l'atlas Paxinos et Watson, 2007. Chaque bloc était découpé au cryostat en coupes coronales de 40 µm d'épaisseur (C). Celles-ci étaient placées en série dans 6 puits d'une plaque à 24 puits selon l'ordre de 1 à 6 (D). Un puit sur 6 était sélectionné aléatoirement pour l'immunohistochimie de c-Fos et le comptage stéréologique après montage sur lames. Ainsi tout puit ainsi randomisé représente un échantillon systématique et uniforme d'une région cible pour un animal (E).

3. Matériels et Méthodes

La deuxième étape utilise un outil de sondage stéréologique; **le dissecteur optique pour l'estimation du nombre de neurones Fos positifs**. Le dissecteur, par définition, est une sonde 3D géométrique optique permettant de compter le nombre d'objets (cellules) avec une probabilité qui ne dépend pas de la taille, de la forme, ou de l'orientation des objets. Il s'agit d'un carré placé régulièrement et de manière aléatoire par le logiciel au sein de la zone d'intérêt. Ici dans notre cas, ce carré mesurait 45 x 45 µm, réparti sur une grille virtuelle de 100 x 100 µm défini par l'expérimentateur. Ainsi, le comptage des cellules c-Fos était réalisé au sein d'un cube ou dissecteur optique de 45 x 45 x 10 µm³, le dernier chiffre représentant l'épaisseur réelle moyenne de nos coupes après avoir éliminé deux zones superficielles (supérieure et inférieure ou '*guard zone*') d'une épaisseur de 2 µm en raison de leur irrégularité. En effet, à la suite du traitement immunohistochimique, l'épaisseur réelle des coupes mesurée était de 14 µm en moyenne : cette diminution d'épaisseur des coupes (de 40µm à 14µm) est due à des processus du rétrécissement ou '*shrinkage*' qui peuvent dépasser 50-70% (Boyce et coll., 2010). Nous avons utilisé la **méthode du fractionateur optique** c'est-à-dire, le dissecteur optique combinée avec un échantillon systématique et uniforme (1/6). Enfin, à partir de ces données à savoir: le nombre de cellules c-Fos positives comptées dans les échantillons, la surface d'une section et le volume de comptage, l'échantillonnage systématique aléatoire des coupes (1/6) avec leur épaisseur réelle; il était alors possible de quantifier le nombre total de cellules c-Fos exprimées dans une structure cérébrale de manière très fiable par le logiciel selon l'équation suivante :

$$\text{Nombre total} = \sum Q \cdot \frac{1}{HSF} \cdot \frac{1}{ASF} \cdot \frac{1}{SSF}$$

Ainsi, Q est le nombre de cellules comptées par échantillon, SSF l'échantillonnage des coupes, ASF échantillonnage de la surface, HSF échantillonnage de l'épaisseur.

Coefficient d'erreur (CE) est un indice de la précision des estimations individuelles rapporté par le logiciel. Cette valeur exprime la variation inter-coupe et inter-dissecteur pour un animal donné ou au sein d'un groupe expérimental. Ainsi, il permet d'ajuster la méthode de comptage pour augmenter la précision de comptage; il n'est pas un indicateur de la variété biologique mais de celui d'un échantillonnage correct (Mura et al., 2004). Le CE est calculé en divisant le coefficient de variation CV par \sqrt{n} , où n est le nombre de mesures ou du comptage (Boyce et coll., 2010); un CE inférieur à 0.10 est considéré comme un critère de fiabilité (West, 2012).

3.7.3. Microscope et comptage *via* le logiciel Mercator

Le comptage de neurones c-Fos positifs était réalisé à l'aide d'un microscope (*Leica DM5500B*) fourni avec une caméra couleur (*Optonics Microfire*), et d'une platine automatisée dans les trois axes (X, Y, Z), reliés à un ordinateur avec le logiciel d'analyse d'image (Mercator, Explora Nova, La Rochelle, France) Figure 27A. Le logiciel permettait de délimiter et désigner une maquette pour les zones d'intérêt au grossissement X2.5, et de poser les dissecteurs optiques randomisés et uniformes, en fonction de la surface de la région à compter et de leur taille et espacement qui s'effectuait automatiquement et de manière aléatoire (Figure 27B). Le dissecteur, lui-même, est délimité par deux lignes vertes et deux lignes rouges, de sorte que les cellules situées au milieu de dissecteur ou en contact avec les lignes vertes étaient seulement comptées. De plus, le logiciel permettait également de limiter une épaisseur déterminée pour chaque coupe, ainsi que d'éliminer tout marquage irrégulier pouvant être présenté au-delà de cette épaisseur. Le comptage des cellules exprimant la protéine Fos a été effectué au grossissement X100 avec un objectif à immersion dans les deux hémisphères (droit et gauche). Les paramètres du microscope (ex: intensité de lumière) étaient gardés constants pour toutes les coupes. Le nombre de coupes à quantifier par animal variait selon la taille de la région étudiée, par exemple, 4 à 6 coupes dans mPFC (voir Figure 24). Comme montré précédemment, le programme a permis d'estimer le nombre total des cellules c-Fos marquées dans l'ensemble d'une région cérébrale. Enfin, l'ensemble des résultats étaient calculé en moyenne par groupe d'animaux.

3. Matériels et Méthodes

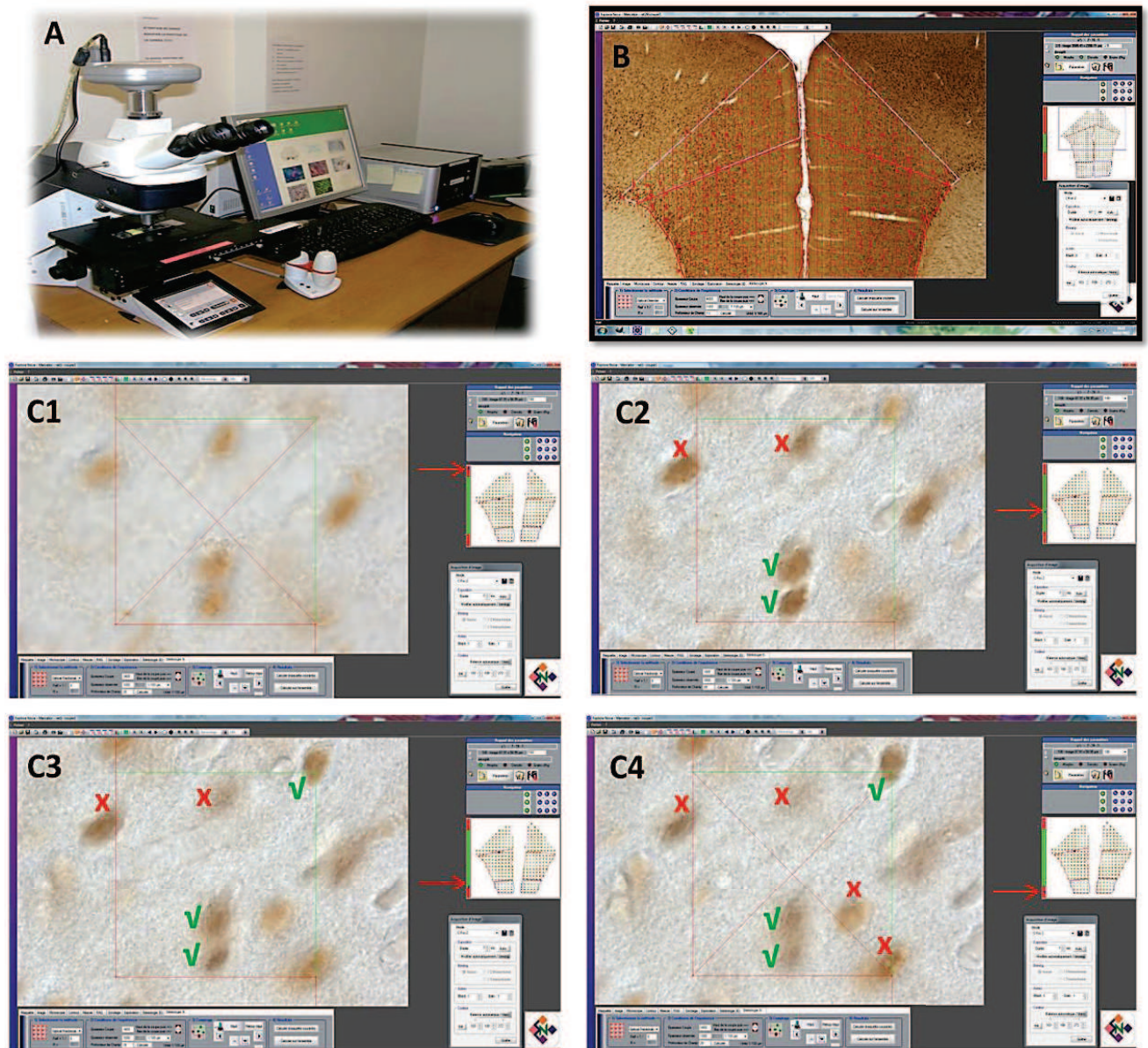


Figure 27 : Une photo de la station d'imagerie (A) et de l'interface du logiciel d'analyse d'images (*Mercator, Explora Nova*) présentant la distribution des dissecteurs uniformes du sondage dans une maquette déterminant les régions du cortex préfrontal médian mPFC (B). Les images de C1 à C4 représentent un exemple de comptage de cellules c-Fos positives dans un dissecteur occupant le champ visuel de l'écran au sein de la structure et en suivant l'axe X (noter la flèche rouge). Dans le plan C1, comptage non-autorisé dans une zone superficielle supérieure (2 μ m d'épaisseur) hors dissecteur. Deux cellules c-Fos positives les plus sombres (nettes dans le plan Z) peuvent être comptées dans le plan C2 (10 μ m d'épaisseur) et une troisième située sur la ligne verte de dissecteur a été ajoutée au plan C3, alors que toute cellule sur la ligne rouge n'a été pas prise en considération. Sur les plans C2 et C3, le neurone situé en haut au centre, n'a pas été pris en considération en raison d'une intensité de marquage trop faible. Le dernier plan C4 étant dans une zone non-autorisée de comptage (hors dissecteur, 2 μ m inférieur de la coupe), les cellules Fos positives qui apparaîtraient dans le plan ne seraient pas comptées. Légende : X: neurone exclu du comptage; V: neurone compté.

4. Contributions Expérimentales

Manuscript 1

4. Contributions expérimentales

Environmental enrichment reverses accelerated forgetting in rats with lesions of the ventral midline thalamus

Abbreviated title: enriched environment, spatial memory and ventral midline thalamus

Mohamad Ali^{1,2}, Thibault Cholvin^{1,2}, Marc Antoine Muller^{1,2}, Brigitte Cosquer^{1,2}, Christian Kelche^{1,2}, Jean-Christophe Cassel^{1,2*} and Anne Pereira de Vasconcelos^{1,2*}

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

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

*Both authors are equally contributors

Corresponding author: Anne Pereira de Vasconcelos, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, UMR 7364 University of Strasbourg – CNRS, 12 rue Goethe, F-67000 Strasbourg, France. Phone: +33 368 851 971. E-mail address: pereira@unistra.fr

4. Contributions expérimentales

Number of pages: 31

Number of figures: 5

Number of words for abstract (286), Introduction (724) and discussion (2596)

Abstract : Recent studies have shown that pre-acquisition lesions of the reuniens and rhomboid thalamic nuclei (ReRh) in rats induced accelerated forgetting. Persistence of a declarative-like (spatial) memory requires a hippocampo-cortical (prefrontal) dialog for consolidation at systems-level. Electrophysiological and neuroanatomical evidence for reciprocal connections with the hippocampus and the medial prefrontal cortex (mPFC) make the ReRh particularly well-positioned as a potential hub for regulations of hippocampo-cortical interactions. As environmental enrichment promotes recovery of declarative-like memory after diencephalic (anterior thalamus) lesion, we studied the possibility of functional recovery in ReRh lesioned rats following 40 days of environmental enrichment (EE) starting 2 weeks after fiber-sparing excitotoxic ReRh lesions. Spatial memory was tested in a Morris water maze and the associated brain functional activity was assessed using c-Fos immunolabelling in 4 brain regions, i.e., the dorsal hippocampus, mPFC, intralaminar thalamic and amygdala nuclei. Enriched housing allowed the recovery of memory persistence (i.e. 25 days post-acquisition) in ReRh rats, whereas ReRh rats housed in standard conditions showed impaired performance. Immunohistochemistry of the Fos protein showed a higher recruitment of the mPFC concomitant with restore remote memory capacities in enriched ReRh rats. Conversely, ReRh rats raised in standard condition showed weaker c-Fos expression than their sham-operated counterparts. Finally, imaging data suggested that the reinstatement of memory capacity implicated an EE-triggered decrease in baseline hyperactivity in the amygdala induced by the ReRh lesion by rescuing possible deleterious effect of amygdala dysfunction on memory consolidation. Thus, enriched housing conditions exerted beneficial effects that were sufficient to counterbalance the negative impact of ReRh lesion on spatial memory persistence. These effects could be the consequence of an enhanced neuronal activation in the mPFC, along with an attenuation of a lesion-induced baseline hyperactivity in the amygdala.

Keywords: *c-Fos expression, Reuniens and Rhomboid nuclei, spatial memory, Systems-level consolidation, Water maze.*

Introduction

Encoding, consolidating and retrieving memories require interactions between distributed neuronal assemblies. In order to be carried over time, declarative-like memories must undergo systems-level consolidation, a gradual process that reorganizes them in brain regions from which they were not dependent right after having been formed (Frankland and Bontempi, 2005). The medial prefrontal cortex (mPFC) has been repeatedly proposed to represent such a region. Indeed, recent declarative-like memory is mainly supported by the hippocampus, whereas, part or all remote memories retrieval seems to rely on regions of the mPFC (Frankland et al., 2004; Maviel et al., 2004; Lopez et al., 2012). Such a neuroanatomical redistribution of the engram over time is likely to be based on an information flow from the hippocampus to the mPFC and back to the hippocampus. As no direct projection from the mPFC to the hippocampus has been reported yet (e.g., Thierry et al., 2000), one or more relay structures are needed to ensure this information flow. The reuniens and rhomboid (ReRh) nuclei show a connectivity pattern that places them in an ideal hub position between the hippocampus and the mPFC, from which they receive and to which they provide dense projections (e.g., Hoover and Vertes, 2012; Cassel et al., 2013;). In rats, damage to the ReRh does not obliterate learning and retrieval of a spatial memory acquired recently in a water maze. What it precludes, however, is the transformation of a recent memory into a remote one at systems level. Indeed, after ReRh lesions, rats are able to learn the location of a hidden platform in a water maze normally, can remember this position 5 days after acquisition, but behave as if no training ever occurred when tested at a longer post-acquisition delay (i.e., 25 days) (Loureiro et al., 2012). These findings make the ReRh nuclei crucial contributors to memory consolidation at systems level, in addition to their other cognitive implications (rev Cassel et al., 2013; Griffin, 2015; Pereira de Vasconcelos and Cassel, 2015; see also Wheeler et al., 2013 for connectomic analyses in mice). Interestingly, recent evidence suggests that the same might hold true in humans (e.g., Thielen et al., in press) and, interestingly, accelerated forgetting has been described in patients with thalamic dysfunctions (stroke, epilepsy), although without any evidence that the ventral midline thalamus was specifically affected (e.g., Fitzgerald et al., 2013; Tu et al., 2014; Mair et al., 2015).

Physical and social environmental enrichment (EE) produces marked effects at various structural and functional levels of the adult central nervous system. For instance, at a molecular level, genes involved in neurotransmission, production of neurotrophic factors, synaptic excitability and more generally plasticity undergo increased expression under the influence of EE (e.g., Will et al., 2004). Structurally, macroscopic and microscopic effects of EE have been described for decades in various brain regions; increased cortical thickness (e.g., Rosenzweig et al., 1967; Diamond et al., 1976), increased dendritic branching and length, proliferation of dendritic spines, larger synapses (e.g., Greenough et al., 1985; rev Van Praag et al., 2000;) and local volume changes (e.g., Scholz et al., 2015) are just a few examples. EE also produces beneficial effects in a variety of models of brain lesions and

4. Contributions expérimentales

neurodegenerative diseases (e.g., Hannan, 2014; Will et al., 2004). Recently, such positive effects of EE were found after lesions of the anterior thalamic nuclei (e.g., Harland et al., 2014; Loukavenko et al., 2015), a thalamic region associated with declarative-like memory processes and which, when damaged, induces effects that are akin to those produced by hippocampal damage (Aggleton and Brown, 2006). Furthermore, EE was shown to affect thalamocortical neurotransmission by acting on synaptic strength and plasticity (Mainardi et al., 2010). Therefore, in the current study, we investigated remote memory performance in rats that were subjected to ReRh lesions, then enriched for 40 days and subsequently trained in a water maze task (Loureiro et al., 2012). Following a probe trial given 25 days post-acquisition, c-Fos expression was evaluated to assess brain regional activities in the hippocampus, the mPFC, the intralaminar thalamic and amygdalar nuclei. Our results show that EE rescues the ability of rats with ReRh lesions to consolidate a memory at systems-level. Imaging data shows that the reinstatement of this capacity is associated with the recovery of mPFC neuronal activity and attenuation of the marked hyperactivity-induced by the ReRh lesion in the amygdala, both under baseline and memory conditions.

Materials and methods

Animals, surgery and housing Conditions

The study adhered to the regulations specified by the European Committee Council Directive adopted on 22 September 2010 (2010/63/UE) and the French Department of Agriculture (decree 2013-118, February 1st 2013). Fifty-five male Long-Evans rats (Janviers Labs, Le Genest Saint Isle Saint Berthevin, France) were used in this study, aged of 2.5 months at their arrival in the laboratory (250-275g) and 3 months at time of surgery (300-325g, see Figure 1). All animals were housed in quiet facilities under a 12 h light/dark cycle (lights on at 7:00_{A.M.}) with food and water ad libitum, and temperature and hygrometry were controlled ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $50\% \pm 10\%$, respectively). Before surgery, rats were handled for 2 min each day over 5 consecutive days. All rats were housed in transparent plastic cage (56 x 35 x 19 cm) until surgery in groups of five rats.

Surgery

Rats were anaesthetized with sodium pentobarbital (68.4 mg/kg/i.p.), and placed in a stereotaxic apparatus with incisor bar -3 mm below the interaural line. Neurotoxic fiber-sparing lesions targeting the Reuniens and Rhomboid nuclei (ReRh) were made using slow microinfusions of 0.1M N-methyl-D-Aspartate (n= 31 rats) over 5 min (0.1 μ l/site; Sigma-Aldrich, ST Quentin Fallavier, France), dissolved in phosphate-buffered saline (PBS, pH=7.0) via an infusion needle (\varnothing 0.28 mm) using a motorized infusion pump and a 2 μ l Hamilton syringe. The infusion needle was left in situ for 6 additional min to ensure diffusion of NMDA into each site before slow retraction. The sham-operated rats (n= 24 rats) were infused with PBS instead of NMDA. According to Loureiro et al. (2012), the

4. Contributions expérimentales

coordinates of the 3 sites were (in mm): AP: -1.5, -2.1 and -2.7 (from bregma), DV: -7.0, -7.1 and -7.2 (from skull), ML: ± 1.8 , ± 1.8 and ± 1.9 (from midline of the sagittal sinus) at an ML angle of $\pm 15^\circ$ was used to avoid the sinus (Paxinos and Watson, 2007). At the end of surgery, all rats were placed under a warm lamp for 20 to 30 min to recover and returned for a two-week recovery period to a standard cage (40 x 24.5 x 18.5 cm).

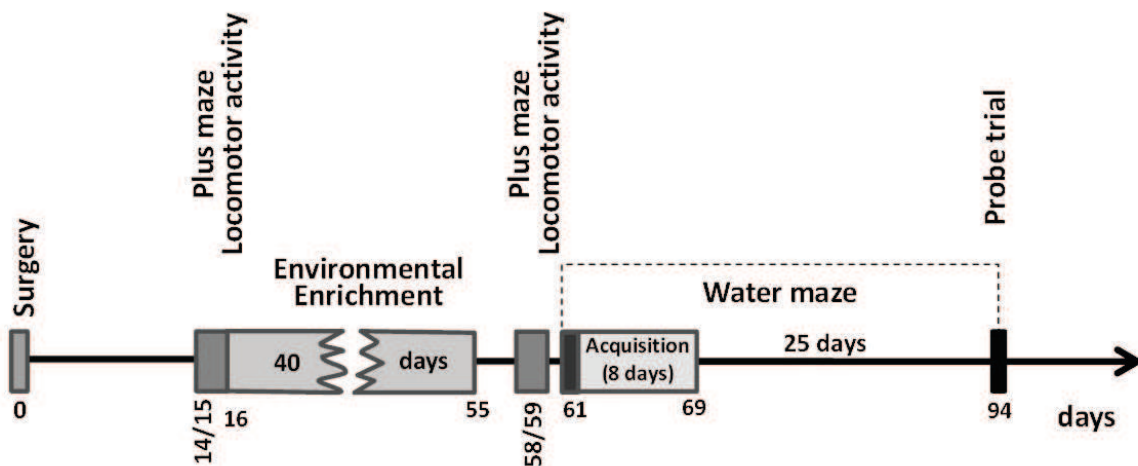


Figure 1. Time course of the experimental design of the ‘memory condition’ experiment.

Enriched vs standard housing conditions

After the rats recovered from surgery, a 40-day period of enrichment was started: half the rats were randomly assigned to an enriched environment condition (EE, 11 to 12 rats in a big cage (including both ReRh- and sham-operated rats), and the other half maintained in standard housing conditions (SE, 1 rat/cage with no objects). Enriched housing cages are made of metal wire mesh (112 cm long x 40 cm x wide x 40 cm high), in which numerous objects (Perspex tunnels, PVC tubing, plastic balls, metal chains, ladders, boxes, glass cup and plates, and plastic toys) were changed on a daily basis, as it was also the case for food and water location within the cage. Three enriched environment housing cages were placed in the colony room and the rats were daily moved from one cage to another one (see Loukavenko et al., 2007). During the enriched vs standard housing period, the rats in the standard cages were daily handled as their congeners in enriched cages. No behavioral testing occurred during this 40-day period. After this period, enriched housing rats were re-housed individually in transparent standard cages, as described above. Two experiments including two groups of rats, (ReRh lesion, sham-surgery), and two housing conditions (enriched, EE or standard, SE) were run to evidence the effect of the thalamic lesion and of a 40-day post-lesion enriched housing. Forty two rats were allocated to the ‘memory condition’ experiment and tested in the Morris water maze for remote spatial

4. Contributions expérimentales

memory after a 40-day period of enriched vs standard housing. Thirteen rats were allocated to the ‘baseline condition’ (without learning) experiment and kept in their home cage. The timeline of the different procedures are presented in Fig. 1

Spatial testing in the Morris water maze

Five days after the 40-day EE or SE housing, rats of the ‘memory condition’ experiment were trained in the Morris water maze (MWM). The Morris water maze (diameter 160 cm, height 60 cm) was filled 32 cm deep with water ($21\pm 1^\circ\text{C}$) made opaque by addition of powdered milk. The pool was located in an experimental room with numerous distal cues (e.g., tables; a desk; lights; a clock; pictures on the wall...) and was divided into four virtual quadrants with four points identified as north (N), east (E), south (S), and west (W). We used the same testing procedure as previously described (for a full description, see Lopez et al., 2012; Loureiro et al., 2012).

Training protocol. For the pre-training day (habituation), the rats received four trials using curtains all around the pool and a visible platform (diameter 11 cm, painted black, 1 cm above the water surface) located in the southeast (SE) quadrant. Each trial consisted of a maximum of 60 s and the rat was always placed facing the walls of the pool. The four starting points were randomized among the four cardinal points. Then, the rats were trained during 8 successive days with curtains removed, and given four successive acquisition trials per day of a maximum duration of 60 s, to learn the location of an escape platform (diameter 11 cm) hidden 2 cm below the water surface and located in the northwest (NW) quadrant. The intertrial interval was about 10-15 s, during which the rats were left upon the platform. If the rat did not reach the platform within 60 s, it was gently guided to the platform by the experimenter and left for 10-15 s before the next trial. The starting point for each trial was changed randomly among the four cardinal points. The distance traveled before reaching the platform as well as the thigmotactic behavior were recorded by a video-tracking system (Smart; Pan-Lab).

Probe test. Twenty-five days after the end of acquisition, the rats were tested for remote memory. For the probe trial, the platform was removed from the pool and rats were released from the northeast (NE) start point. They were given a single 60 s trial to explore the pool. The time spent in the target quadrant (i.e., the one containing the platform during acquisition) as well as in the other three virtual quadrants was recorded and compared to chance level (i.e., 15 s or 25% per quadrant). Additional parameters such as swim speed, time spent near the wall (thigmotaxy), the number of crossings on the former platform location, as well as the latency to the first entrance in the target area (i.e., the size of the platform surface enlarged by a 10 cm wide annulus) were also analyzed.

4. Contributions expérimentales

Additional behavioral tests

Forty-eight hours before and after EE or ES housing, all rats (memory and baseline experiments) were subjected to behavioral tests taxing anxiety in a plus maze, then locomotor activity over 24h, to assess effects of the lesion and/or the housing condition (EE vs ES) on these non-mnemonic aspects .

Home cage locomotor activity. As previously described (Lecourtier et al., 2010; Loureiro et al., 2012), the rats were placed into clean transparent cages identical to their home cage right before being introduced in an unfamiliar experimental room. Each cage (eight cages par shelves, 2 x 4 shelves in the room) was traversed by two outer infrared photocells, each 4.5 cm above floor level and 28 cm apart along the length of the cage. The number of longitudinal cage crossings (successive interruptions of each light beam) was recorded by a computer over 24 h and subsequently analyzed as the mean count per hour. The test was started at 10:00 _{AM} and the first 3 hours were considered as the habituation period, a period during which rats generally adapt to the novelty of the cage/test situation (Galani et al., 2001). The remaining time (21 h) was then divided into two distinct periods: the nocturnal period corresponding to the time when room lights were off (i.e. 7:00 _{PM} -7:00 _{AM} on the following day), and the diurnal period corresponding to the remaining time (i.e. 1:00 _{PM} -7:00 _{PM} and 7:00 _{AM} -10:00 _{AM} on the following day).

Anxiety testing in an elevated plus-maze. As previously described (Lecourtier et al., 2012; Loureiro et al., 2012), the rats were brought in a room adjacent to the testing room 30 min before the test, then transferred to the testing room 5 min before of the test. The elevated plus-maze was made of black Plexiglas and consisted of four arms (50 cm long x 10 cm wide) fixed to a central platform (10 x10 cm): two with 40 cm high sidewalls (closed arms) and two with 1.5 cm high borders (open arms). The light was adjusted by four halogen lamps positioned on each corner of the experimental room to have the same intensity on both similar arms (i.e., 10 Lux on open arms and 2 Lux in closed arms). Each rat was placed individually in the center of the maze, its head facing the north closed arm. It was given 5 min to freely explore the maze. The apparatus was cleaned with 100% ethanol between two rats. A video-tracking system with computer interface and video camera was used to follow the movements of the rats. An entry in a given arm was counted when the rat had all four paws in the arm. The total number of entries and the total time spent in open versus closed arms, as well as in the central area, were recorded and analyzed.

Histological verifications and tissue preparation for NeuN and c-Fos immunohistochemistry

Ninety min after the completion of the probe test in the Morris water maze, the rats were killed with an overdose of sodium pentobarbital (270 mg/kg, i.p.) and perfused transcardially with 4 % paraformaldehyde (PFA, in 0.1 M PBS; 4°C) for 20 min. The brains were post-fixed for 2 h in 4 % PFA (+4°C), transferred for 48 h in a cryoprotectant solution (30% sucrose; 4°C). From there, they

4. Contributions expérimentales

were snap-frozen in isopentane (-40°C) and kept at -80°C until sectioning. Free floating serial coronal sections (40 µm) were cut using a standard cryostat (HM 500 Microm) within blocks of tissue extending from 3.72 to -0.24 mm from bregma for medial prefrontal cortex- anterior cingular cortex (mPFC-CC), from -1.08 to -3.48 mm from Bregma for ReRh-dorsal hippocampus (DHip) and -3.48 to -4.20 mm from bregma for DHip alone according to Paxinos and Watson (2007). All sections within each block were collected and placed into series of 6 adjacent wells (5-6 sections/well) from 24-well plates containing a cryoprotectant solution, and stored at -20° until the NeuN or c-Fos immunohistochemistry.

NeuN immunohistochemistry and evaluation of the lesion extent. For verification of the lesion extent of ReRh nuclei, NeuN immunohistochemistry was performed on one of six series of sections randomly selected within the ReRh nuclei block of tissue extending from -1.08 mm to -3.48 mm from bregma (Paxinos and Watson, 2007) (Fig. 2).

The immunohistochemistry was run at the same time for all selected sections of all animals. Free-floating sections were washed three times in 0.1M PBS before being incubated for 1h in 5% normal donkey serum diluted in PBS containing 0.5% Triton X-100. The sections were incubated overnight at room temperature with the mouse monoclonal anti-NeuN antibody (Millipore, Chemicon, MAB377) diluted at 1:2000 in PBS plus 0.5% Triton X-100. The next day, the sections were rinsed three times in PBS then incubated for 1h with secondary biotinylated antibody horse anti-mouse (Vector Laboratories, BA-2001) diluted at 1:500 in PBS plus 0.5% Triton X-100. After several rinses, the sections were incubated for 45 min in 1:200 avidin-biotin-peroxidase complex (ABC elite standard, Vector Laboratories, PK 6100) diluted in high purity water at 1:500, the sections were washed with PBS then, with TRIS buffered saline (pH=7.6) and the staining was revealed using diaminobenzidine solution (Vector Laboratories, Kit DAB, SK 4100). The reaction was stopped by two rinses with PBS and one with PBS merthiolate (used to protect the sections against bacterial/microbial degradation). Finally, the sections were mounted and dried on gelatine-coated slides.

The lesion extent was observed under a microscope and digitally reported using relevant copies of a rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2007). Using the ‘*ImageJ*’ program and a graphic tablet, lesion surface was replicated electronically into automated pixel counts by factoring the distance in mm provided by the atlas, and the lesion volume was estimated by the percent of damaged area of interest in the all representatives sections.

Stereological quantification of c-Fos positive neurons

To highlight the cartography of the functional activities of brain regions following remote memory test, we used immunohistochemical revelation of the c-Fos protein expression as a marker of neuronal activity (Barry and Commings, 2011). The protocol was similar to the one used for NeuN

4. Contributions expérimentales

immunohistochemistry described above with the exception of the primary and secondary antibodies used (i.e., primary antibody anti-c-Fos polyclonal derived from rabbit, CS-52, Santa Cruz, USA, diluted at 1:4000, secondary antibody: biotinylated goat anti-rabbit, 111-065-144, Jackson Immuno-Research, West Grove PA, diluted at 1:500 in PBS Triton).

c-Fos positive neuron estimation. A stereological quantification of c-Fos expression was focused on the brains regions involved in the consolidation of a memory i.e., the mPFC and dHip (e.g., Lopez et al., 2012; rev, Frankland and Bontempi, 2005), and in two other regions, i.e., the amygdala that has been shown to be modulated by enriched environment, notably through decreases in anxiety-like behaviour (e.g., Urakawa et al., 2013), and the intralaminar nuclei of the thalamus (ILN) implicated in spatial memory consolidation (Lopez et al., 2009). According to the Paxinos and Watson's atlas (2007) and as described above, one out of six sections were randomly selected within each region of interest: i) the dorsal hippocampus (dHip) including CA1, CA3 and dentate gyrus (DG), from bregma -2.28 mm to - 4.20 mm, ii) the median prefrontal cortex (mPFC) including the prelimbic (PL), infralimbic (IL) and the rostral part of the anterior cingulate cortex (Cg1) (from bregma + 4.20 mm to + 2.52 mm) and the intermediate and caudal anterior cingulate cortex (Cg1+Cg2, from Bregma +2.52 mm to - 0.24 mm). For the amygdala, including the central (CE), basolateral (BLA), basomedial (BMA) and medial (ME) nuclei, sections were selected from the two ReRh-dHip and dHip blocks from bregma - 1.80 mm to - 3.24 mm. Finally, the intralaminar nuclei (ILN) including the central medial (CM), paracentral (PC) and central lateral (CL) nuclei were considered from bregma - 2.16 mm to - 3.96 mm within the ReRh-dHIP and dHIP blocks.

The total number of c-Fos-positive neurons was counted in both hemispheres in representative sections with a Leica DM5500B microscope equipped with a video camera (Optronics Microfire color) providing online images and using the Mercator software (Explora Nova, La Rochelle, France). Each zone of interest was drawn using a X2.5 objective and c-Fos counts were performed using a x100 (1.40 NA) oil-immersed objective. The same intensity of light and the same parameters of exposure time of the digital camera were used for all sections allowing to keep a threshold value for c-Fos positive neurons constant. Randomly positioned grid (145 x 145 μm) containing counting frames (45 x 45 μm) equidistant from each other were superimposed on the area to be counted. For each animal, estimation of the total number of c-Fos positive neurons was calculated from the total number of nuclei counted in all optical dissectors. Parameters of the optical fractionator program were as follow: area of the counting frame = 45 x 45 μm , section interval = 240 μm , dissector height = 10 μm and guard zone = 2 μm each (the latter corresponding to upper and lower border exclusion zones, the mean section thickness being 14 μm). The coefficient of error that represents the variation in sampling within each animal and the estimated precision of the population size calculated by the optical fractionator (Gundersen et al., 1988) ranged from 0,005 to 0,20.

4. Contributions expérimentales

Statistical analyses

All results were expressed as the means \pm SEM. Behavioural data were analysed using a two- or three-way ANOVA considering the factors Group (Lesion vs Sham) and Housing (Enriched, EE vs Standard, ES) as between-subject factors and when relevant a third factor (Day, Quadrant) as the repeated measure (acquisition and probe trial data in the MWM, respectively). Analysis of the probe trial performance in the MWM was completed with a one-sample Student's *t* test to compare the average time spent in the target- and other quadrants to chance level (25%). For c-Fos expression, data from home cages rats (baseline condition) and from rats after the MWM test (memory condition) were analysed in each selected brain region using a two-way ANOVA with Group and Housing as factors. For all behavioural and c-Fos experiments, post-hoc comparisons using the Newman–Keuls multiple range tests were realized. All analyses considered a value of $p < 0.05$ significant.

Results

Histological verifications

Serial sections throughout the thalamus were stained with NeuN to visualize the placement and extent of the ReRh lesions that were drawn using relevant plates of the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2007) and replicated on electronic copies of the atlas. Thereby, automated pixel counts of the thalamic nuclei in the target regions could be used to estimate lesion extent. Figure 2A shows the largest and the smallest lesions observed in the rats that were included in the behavioural analyses. Accepted lesions were defined as having more than 50% damage to the Re area and more than 25% damage to the peri-reuniens (pRe) and Rh, but no more than 10% damage to the adjacent thalamic regions (Loureiro et al., 2012). Rats with inadequate (size, location) lesions were eliminated. Using this method, 5 out of the 31 ReRh-operated rats presenting minimal lesion or a misplaced lesion were discarded. The mean percentage of damage in the remaining 26 rats was 79.5 % to Re, 34.5 % to Rh, 38.7 % to the right pRe and 26.6 % to the left pRe. Damage to other adjacent structures was less than 7.9 % (see Fig. 2A). These lesion characteristics were similar to the ones observed previously by Loureiro et al. (2012). Final group sizes were as follows: ReRh/SE ($n = 14$), ReRh/EE ($n = 12$), Sham/SE ($n = 12$) and for Sham/EE ($n = 12$). Four rats from the ReRh/SE group and 3 rats from each other groups (ReRh/EE, Sham/SE, Sham/EE) were dedicated to the 'baseline condition' experiment (i.e., home cage rats) for the c-Fos expression study.

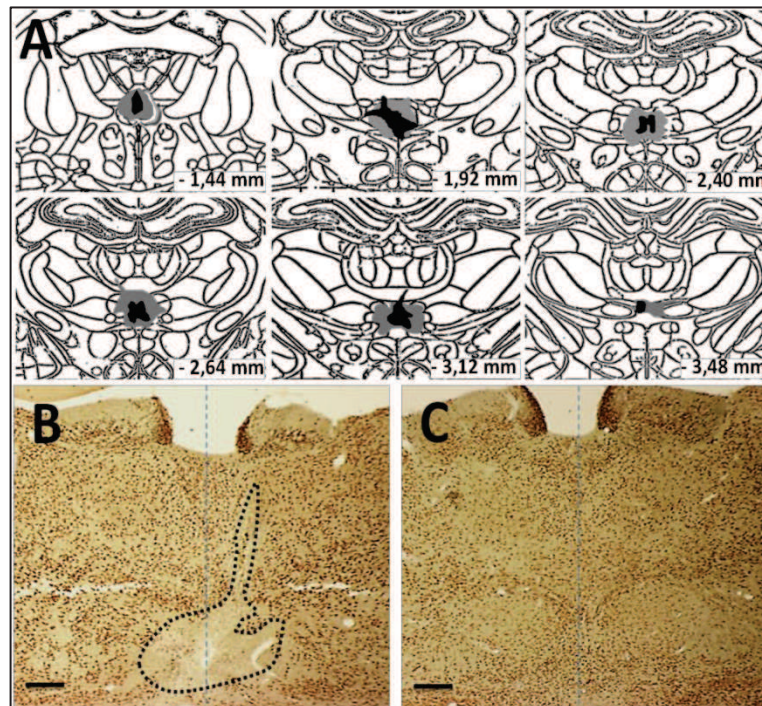


Figure 2. (A) Schematic representation of the smallest (black) and largest (gray) lesion extents of the ventral midline thalamic nuclei (**Re** and **Rh**) in coronal sections at 6 anteroposterior levels from Bregma (in mm, according to Paxinos and Watson, 2007). **B** and **C**, Photomicrographs showing a typical example of a NeuN-immunostained brain section from a rat having sustained a ReRh lesion (**B**) and a rat of the Sham group (**C**). Scale bar = 500 μ m.

Impact of the ReRh lesion on anxiety and locomotion (before the 40-day enriched vs standard housing period)

Anxiety

Statistical analysis (2-way ANOVA) showed no significant (ns) Group (lesion, sham) effect for the time spent in either open ($F_{(1,46)} = 0,09$; ns) or closed ($F_{(1,46)} = 0,16$; ns) arms (Fig. 3A), or in the central area ($F_{(1,46)} = 1,07$; ns, data not shown). The same was observed for the number of entries in open ($F_{(1,46)} = 0,01$; ns) or closed ($F_{(1,46)} = 0,05$; ns) arms (data not shown). Likewise, the 2-way ANOVA showed no effect of Housing (EE, ES) for the time spent in open or closed arms, or in the central area ($F_{(1,46)} < 0,38$, ns for all). There was also no Housing effect on the number of entries in the open or closed arms ($F_{(1,46)} < 2,7$, ns, data not shown). Finally, we observed no Group X Housing interaction for the number of entries and time spent in the open ($F_{(1,46)} < 0,005$, ns) and closed arms ($F_{(1,46)} < 0,12$, ns) and the time spent in the central area ($F_{(1,46)} = 0,46$, ns).

Locomotor activity

Locomotion scores during the three periods of the 24h-actography test were analyzed separately (Fig. 3C). The 2-way ANOVA showed no significant Group effect for the 3 first hours of the habituation

4. Contributions expérimentales

phase as well as for the diurnal period ($F_{(1,46)} < 1.0$, ns, for both). On the nocturnal activity, however, there was a significant Group Effect ($F_{(1,46)} = 6.19$, $p < 0.05$) due to higher activity in both ReRh lesion groups, as compared to their sham-operated counterparts. As for anxiety, there was no significant effect of the Housing factor nor of the interaction (Group X Housing) on the number of longitudinal cage crossings ($F_{(1,46)} < 1.0$, ns, for all).

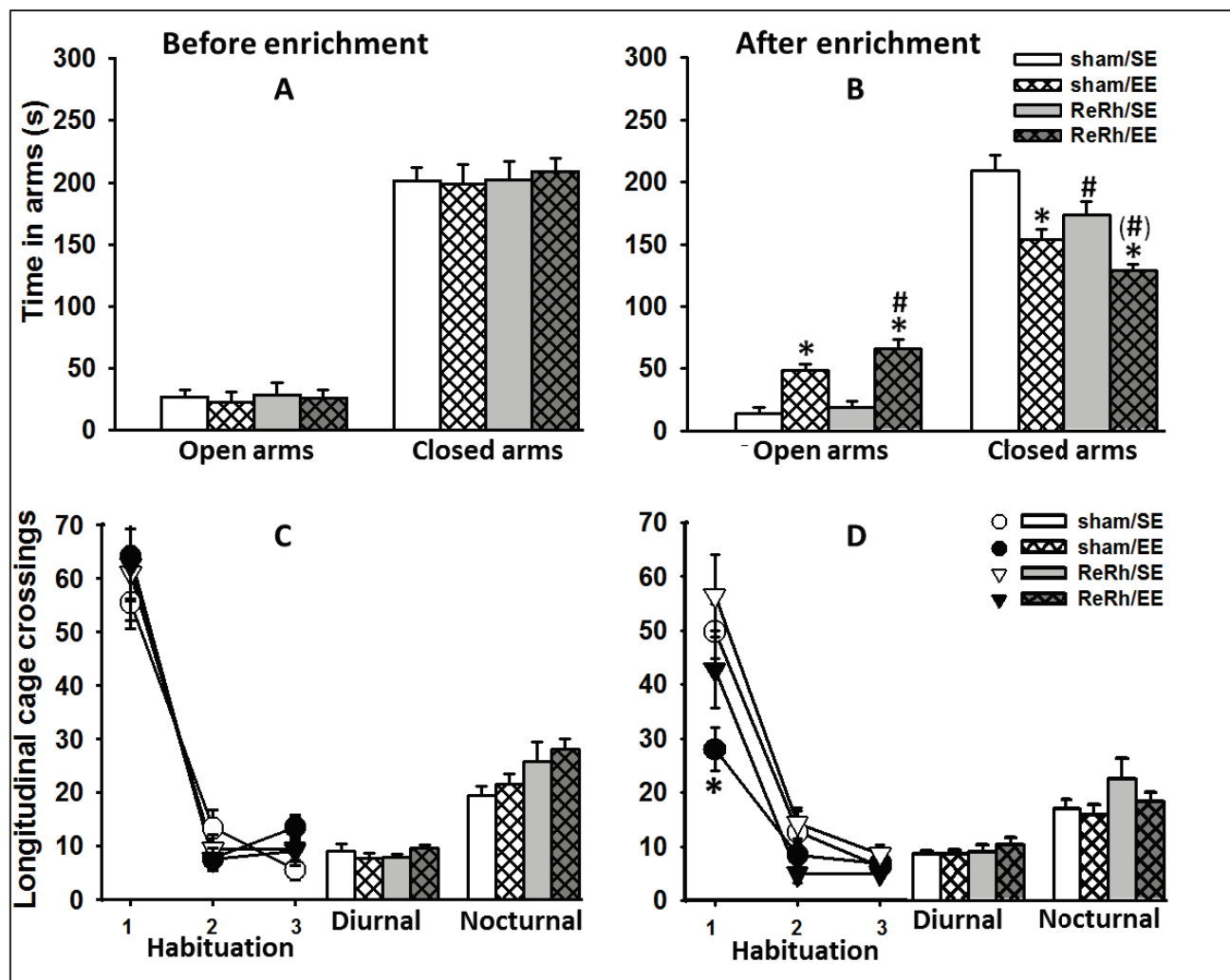


Figure 3. Plus maze (A, B) and 24h-locomotor activity test (C, D) before (left) and after (right) the 40-day enrichment housing period. Results are expressed as means (\pm SEM) of the time spent in open and closed arms of the elevated plus-maze (A, B), or means of the number of longitudinal cage crossings per hour (\pm SEM) during the habituation (3 first hours), the diurnal and nocturnal phases (C, D) of the activity test. Statistics: * $P < 0.05$, significantly different from the corresponding standard housing condition; # $p < 0.05$, (#) $p < 0.10$ (tendency), significantly different from the corresponding Sham group. Abbreviation: (SE) standard housing condition, (EE) enriched housing condition, (ReRh) rats with a Reuniens/Rhomboid nuclei lesion.

4. Contributions expérimentales

Impact of the ReRh lesion and enriched environment on anxiety and locomotion

Anxiety

After the enriched vs standard housing period (Fig. 3B), a highly significant Housing effect was found for the time spent in the open ($F_{(1,46)} = 60.78, p < 0.0001$) arms. This Housing effect was due to an increase of the time in the open arms in both ReRh/EE and sham/EE groups, as compared to their respective ReRh/SE and sham/SE congeners ($p < 0.001$, for each comparison). Likewise, there was a significant Housing effect ($F_{(1,46)} = 28.24, p < 0.0001$) for the time spent in the closed arms. This effect was due to a significant decrease of the time recorded in ReRh/EE and sham/EE groups, as compared to their respective ReRh/SE and sham/SE congeners ($p < 0.01$; $p < 0.001$, respectively). For the time spent in the central area, there was no significant Housing effect ($F_{(1,46)} = 1.12$, ns).

A significant Group effect was found for the time spent in the open ($F_{(1,46)} = 4.49, p < 0.05$) and closed ($F_{(1,46)} = 10.34, p < 0.01$) arms. It was due to the ReRh/EE spending more time in open arms ($p < 0.05$) as compared to Sham/EE, and the ReRh/SE group spending less time in the closed arms ($p < 0.01$), as compared to the sham/SE. For the ReRh/EE group there was only a tendency towards significance ($p = 0.06$) for the time spent in the closed arms, as compared to the sham/EE group. For the time spent in the central area, the significant Group effect ($F_{(1,46)} = 5.20, p < 0.05$) was due to an increase in both ReRh (ReRh/SE, ReRh/EE) and sham/EE groups, as compared to the sham/SE (p values close to significance, $p = 0.055$, $p = 0.057$, $p = 0.085$, respectively). Finally, no significant interaction between Group X Housing was found for the 3 variables (time in open arms, $F_{(1,46)} = 1.49$; time in closed arms, $F_{(1,46)} = 0.34$; time in central area, $F_{(1,46)} = 2.05$, ns for all).

Similarly, we found a highly significant Housing effect for the number of entries (data not shown) in open arms ($F_{(1,46)} = 56.6, p < 0.0001$). This effect was due to an increase of the number of entries in the open arms in both ReRh/EE and sham/EE groups ($p < 0.01$) as compared to their respective congeners ReRh/SE and sham/SE. For the number of entries in the closed arms, there was no significant Housing effect ($F_{(1,46)} = 0.763$, ns). A significant Group effect was found for the number of entries in open arms ($F_{(1,46)} = 7.56, p < 0.05$) with ReRh/EE rats showing significantly more entries ($p < 0.05$) than the Sham/EE ones (data not shown). There was a significant Group effect for the number of entries in the closed arms ($F_{(1,46)} = 4.13, p < 0.05$). Finally, no significant interaction (Group X Housing) for the number of entries in open arms ($F_{(1,46)} = 2.53$, ns) or closed arms ($F_{(1,46)} = 1.7$, ns) was observed. These results indicate an anxiolytic effect of the enriched housing condition in both sham and ReRh groups. In addition, both groups of rats with a lesion (ReRh/SE, ReRh/EE) showed reduced anxiety levels in the plus-maze test, as compared to their sham-operated counterparts after 40 days in EE or ES housing condition. This effect of the lesion cannot be attributed to the enriched housing only, but might be linked to the increase of the post-lesion delay (14 + 44 days, see Figure 1) vs 14 days at the time of the first plus-maze test: a time at which no differences between sham and lesion groups was evidenced.

4. Contributions expérimentales

Locomotor activity

During the habituation phase (Fig. 3D), statistical analysis showed a significant overall Housing effect during the 1st ($F_{(1,46)} = 7.43, p < 0.01$) and 2nd ($F_{(1,46)} = 5.52, p < 0.05$) hour of the activity test and no effect during the 3rd one ($F_{(1,46)} = 1.02, ns$). During the 1st hour, this effect was due to a significant decrease of locomotor activity in the Sham/EE group, as compared to the two standard housing groups (sham/SE, ReRh/SE, $p < 0.05$). During the 2nd hour, the post-hoc analysis showed no significant differences between the 4 groups. In addition, there was no significant effect of the Group and no Group X Housing interaction (1st hour: $F_{(1,46)} = 2.6, F_{(1,46)} = 0.39$, 2nd hour: $F_{(1,46)} = 0.11, F_{(1,46)} = 0.76$, 3rd hour: $F_{(1,46)} = 0.01, F_{(1,46)} = 2.01$, respectively, ns for all). Analysis of diurnal activity showed no significant effect of the Group ($F_{(1,46)} = 0.83, ns$), Housing ($F_{(1,46)} = 0.26, ns$) and no interaction between both factors ($F_{(1,46)} = 0.31, p = 0.57, ns$). Similar results were obtained on scores of the nocturnal phase (Group: $F_{(1,46)} = 1.10$, Housing: $F_{(1,46)} = 2.38$; Group X Housing interaction : $F_{(1,46)} = 0.37, ns$ for all). These results indicate that the moderate nocturnal hyperactivity observed in ReRh lesioned rats (ReRh/SE, ReRh/EE) before differential housing, had disappeared after EE in the ReRh/EE group (see Figs. 3C, D).

Impact of the ReRh lesion and enriched housing on spatial memory persistence: remote memory in the Morris water maze (MWM)

Training task. Analysis of the distance covered during the 8 training days (Fig. 4A) showed no significant Group ($F_{(1,33)} = 0.57, ns$) or Housing ($F_{(1,33)} = 0.11, ns$) effect, and no Group X Housing interaction ($F_{(1,33)} = 0.88, ns$). But the 3-way ANOVA showed a Day effect in all groups with a significant decrease of the distance to reach the platform from day 1 to 8 ($F_{(7,231)} = 28.57, p < 0.0001$) attesting of the progressive learning of the platform location. For thigmotaxy, there was no effect of the Group ($F_{(1,33)} = 0.0001, ns$) or Housing ($F_{(1,33)} = 0.31, ns$), and no Group X Housing interaction ($F_{(1,33)} = 0.33, ns$). The significant Day effect ($F_{(7,231)} = 22.76, p < 0.0001$) corresponded to the progressive decrease of the time spent along the border of the pool, demonstrating task habituation and learning of the platform location. Thus, neither the lesion nor the housing conditions impacted performance.

Remote memory probe test (25d post-acquisition). Data are shown in Figure 4B. The 3-way ANOVA with Group and Housing as between-subject factors and Quadrant as the within-subject one, showed significant overall Group ($F_{(1,33)} = 11.36, p < 0.005$) and Quadrant ($F_{(1,33)} = 110.55, p < 0.001$) effect, but no overall Housing effect ($F_{(1,33)} = 2.79, ns$). The interactions between Group X Housing ($F_{(1,33)} = 1.1, ns$) and Group X Housing X Quadrant ($F_{(1,33)} = 2.66, ns$) were not significant, while Group X Quadrant ($F_{(1,33)} = 11.37, p < 0.005$) and Housing X Quadrant ($F_{(1,33)} = 2.89, p = 0.098$) interactions were significant or close to significance. Multiple comparisons showed that performance (time in target quadrant) of sham rats, whether enriched or not, and of enriched ReRh rats did not differ

4. Contributions expérimentales

significantly from each other. Conversely, performance of ReRh rats reared in standard conditions (ReRh/SE) was significantly impaired, as compared to each of the three other groups ($p < 0.01$ vs ReRh/EE and $p < 0.001$ vs sham/SE and sham/EE). When compared to chance level (25% of the time spent in the target quadrant), all groups showed performance above chance with $p < 0.001$ for both Sham groups (sham/SE, sham/EE), $p < 0.01$ for the enriched lesion group (ReRh/EE) and $p < 0.05$ for the standard lesion group (ReRh/SE). Typical examples of swim paths are shown in Fig. 4C. Analysis of the number of target crossings (former platform location, Fig. 4D) also showed a significant Group effect ($F_{(1,33)} = 8.06$, $p < 0.01$) with the ReRh/SE group visiting significantly less the target than the sham/SE group ($p < 0.01$). No significant effect of the Housing factor ($F_{(1,33)} = 0.39$, ns) and no Group X Housing interaction ($F_{(1,33)} = 3.58$, ns) were evidenced. Concerning, the latency to the first visit of the *annulus* (data not shown), no significant Group or Housing effect, and no interaction between both factors were found ($F_{(1,33)} < 2.99$, ns for all). Finally, for the time spent along the edge of the pool (thigmotaxy, data not shown), no significant effect of the Group ($F_{(1,33)} = 3.06$, ns) and Housing ($F_{(1,33)} = 1.16$, ns) or Group X Housing interaction ($F_{(1,33)} = 0.22$, ns) was observed and all rats spent less than 10% near the walls of the pool (e.g., < 6 sec) of their probe trial duration (60 sec) into the pool arena. Together, these results indicate that EE reversed lesion-induced remote memory impairments. In addition, performances in the MWM were not influenced by non-mnemonic factors such as thigmotaxy or swim speed.

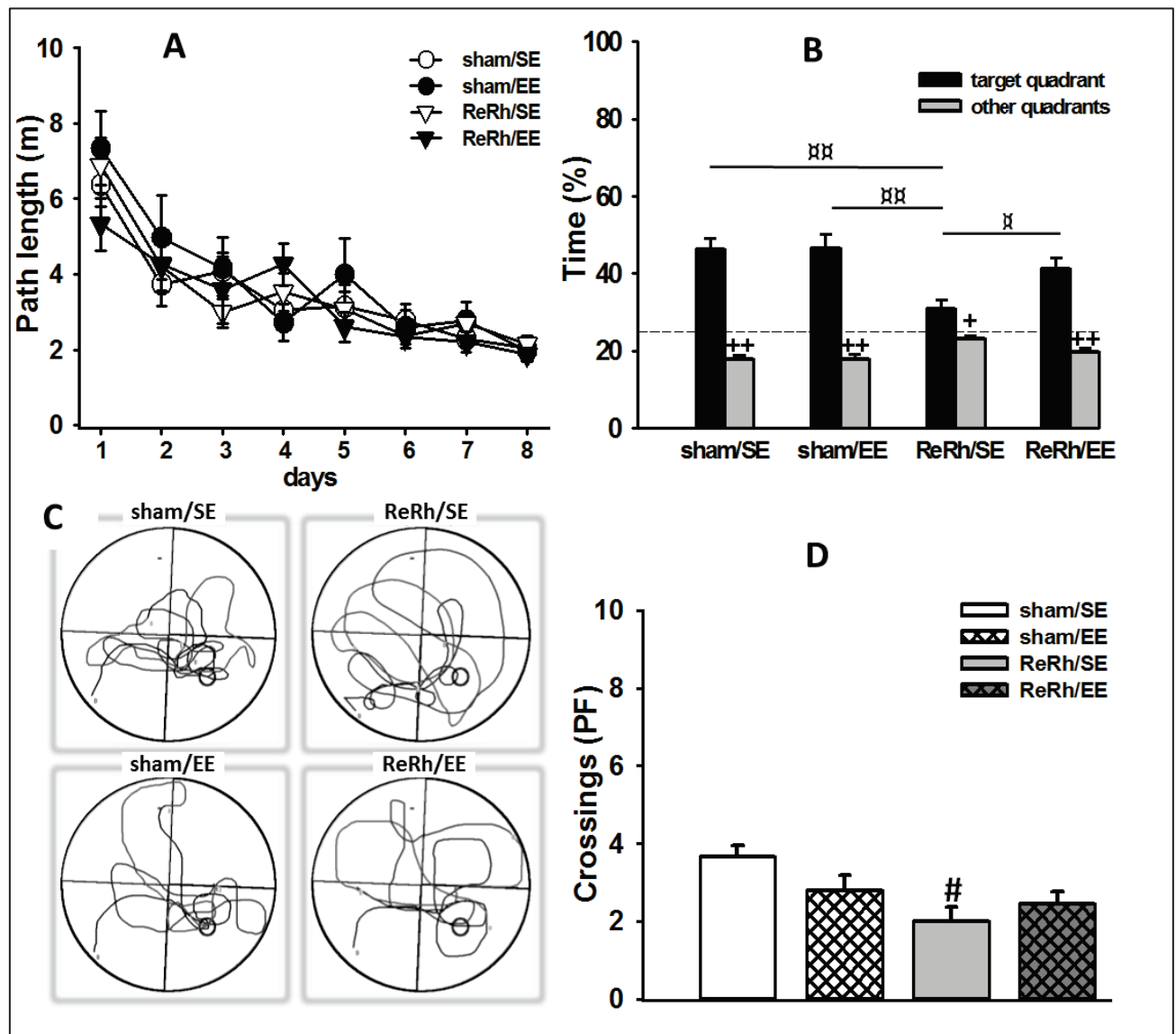


Figure 4. Spatial memory performance during acquisition and remote memory retrieval (25 post acquisition days) in the Morris water maze task. All data are expressed as means (\pm SEM). (A) Total distance travelled to reach the hidden platform during the 8 consecutive days of training (**acquisition task**). (B) Performance during the **probe trial** expressed in percent of time spent in the target quadrant as compared to the mean of the percent of mean time spent in the 3 other quadrants; dashed line represents chance level (i.e., 25 %). (C) Representative swim patterns of representative typical rat of each group (i.e. the closest from the mean time in the target quadrant of the group). (D) Number of crossings over the platform area during probe trial. Abbreviation: (SE) standard housing condition, (EE) enriched housing condition, (ReRh) rats with a Reuniens/Rhomboid nuclei lesion, (PF) platform. Statistics: α $p < 0.05$, $\alpha\alpha$ $p < 0.01$, significant difference between groups; + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$, significant difference from the target quadrant; # $p < 0.01$, significantly different from the corresponding sham group

4. Contributions expérimentales

Immunohistochemistry for c-Fos protein expression

This imaging experiment was designed to investigate which structures were engaged during remote memory retrieval and whether they were different according to EE. We quantified c-Fos expression as a marker of neuronal activity, 90 min after completion of the probe trial ('memory condition' experiment) as well as in home cage rats ('baseline condition' experiment, Fig. 5). C-Fos expression was examined in two brain regions known to be involved in remote spatial memory, i.e., the dHip and the mPFC, as well as in two areas that may also be important for memory formation and consolidation, e.g., the ILN and the amygdala.

Dorsal hippocampus (dHip). c-Fos expression was examined in the 3 sub-regions, i.e., CA1, CA3 and DG. In the baseline condition (Fig. 5A), the two-way ANOVA showed no significant Group effect ($F_{(1,9)} < 0.9$, ns for all sub-regions), and no Group X Housing interaction in all hippocampal sub-regions ($F_{(1,9)} < 0.35$, ns for all). There was no significant Housing effect in CA1 or DG ($F_{(1,9)} < 3.4$, ns for both), but in CA3 area this effect was significant ($F_{(1,9)} = 5.63$, $p < 0.05$). In the memory condition (Fig. 5B), there was no significant Group effect whatever the hippocampal subregion ($F_{(1,9)} < 0.72$, ns for all). The Housing effect was significant in CA1 ($F_{(1,33)} = 13.15$, $p < 0.001$) and CA3 ($F_{(1,33)} = 5.93$, $p < 0.05$), but not in the DG ($F_{(1,33)} = 2.38$, ns). In CA1, this effect was due to a significant increase in c-Fos expression in the sham/EE vs Sham/SE ($p < 0.05$), while in the ReRh/EE group, there was only a tendency towards significance, as compared to ReRh/SE ($p = 0.062$). In CA3, the post-hoc analysis showed no significant difference between groups for the Housing factor. The Group X Housing interaction was significant only in the DG region ($F_{(1,33)} = 6.26$, $p < 0.05$). It corresponded to a significant increase of c-Fos expression in the ReRh/EE group, as compared to ReRh/SE group ($p < 0.05$). These results indicate that the ReRh lesion has no impact on the hippocampal activity (baseline or memory conditions) but enriched housing enhanced neuronal activity during remote memory retrieval in CA1 of both Sham and ReRh rats, and in DG, of only ReRh/EE rats (vs ReRh/SE).

Medial prefrontal cortex (mPFC). c-Fos expression was examined in the 3 sub-regions, i.e., anterior cingulate (CC), prelimbic (PL) and infralimbic (IL) cortices. In the baseline condition (home cage group, see Fig. 5C), we found a significant Housing effect ($F_{(1,9)} = 13.52$, $p < 0.01$) in CC that reflected an increase in c-Fos expression in the Sham/EE, as compared to the Sham/SE group ($p < 0.05$). No significant Group effect or Group X Housing interaction ($F_{(1,9)} = 1.09$; $F_{(1,9)} = 1.04$, respectively, ns for both) was found in the CC. In the prelimbic cortex (PL), analysis of basal c-Fos expression showed a significant Group and Housing effect and an interaction between both factors ($F_{(1,9)} < 1.09$, $p < 0.05$, for all). The interaction was due to a significant increase of c-Fos expression in the ReRh/EE group, as compared to any of the three other groups ($p < 0.01$, for all comparisons). In the infralimbic cortex (IL), there was no significant effect of the two Group and Housing factors, and

4. Contributions expérimentales

no interaction between them ($F_{(1,9)} < 1.38$, ns for all). In the memory condition (Fig. 5D), there was no significant Group effect in the PL and IL: $F_{(1,33)} = 0.80$ and 2.64 ; respectively, ns; in the CC, it was close to significance ($F_{(1,33)} = 4.0$, $p = 0.053$). There was, however, a marked effect of Housing (CC: $F_{(1,33)} = 57.21$; PL: $F_{(1,33)} = 52.23$; IL: $F_{(1,33)} = 31.89$, $p < 0.0001$, for all). Moreover, there was a significant Housing X Group interaction for each sub-region (CC: $F_{(1,33)} = 6.30$; PL: $F_{(1,33)} = 6.36$; IL: $F_{(1,33)} = 5.34$, $p < 0.05$ for all), which was due to a marked decrease of c-Fos expression in the ReRh/SE vs sham/SE groups (CC, IL: $p < 0.01$; PL: $p < 0.05$). Post-hoc analysis showed a significant increase ($p < 0.05$ or 0.01) in neuronal activity in both enriched groups (ReRh/EE, sham/EE), as compared to their respective congeners raised in standard conditions (ReRh/SE, sham/SE) for all mPFC sub-regions. These results indicate that ReRh lesions prevent the increase of c-Fos expression in the mPFC region that accompanies remote memory retrieval, particularly in the CC. Enriched housing during a 40-day post-lesion period did not only reverse this effect on mPFC neuronal activity but also markedly increased c-Fos expression in both Sham and ReRh groups, and did so to a similar level (see Fig. 5C, D).

Intralaminar nuclei (ILN). c-Fos expression was examined in the centromedial (CM), paracentral (PC) and centrolateral nucleus (CL) of the ILN (Fig. 5E, F). In the baseline condition (Fig. 5E), the two-way ANOVA showed a significant Group effect in the CM ($F_{(1,9)} = 7.98$, $p < 0.05$), a marginal effect in the CL ($F_{(1,9)} = 4.39$, $p = 0.06$) and no significant effect in the PC ($F_{(1,9)} = 2.85$, ns). The *post hoc* analysis failed to show any significant difference among groups whatever the thalamic subregions. No significant Housing effect or Group X Housing interaction could be observed (Group: $F_{(1,9)} < 0.5$; Group x Housing: $F_{(1,9)} < 1.3$; ns for all sub-regions). In the memory condition (Fig. 5F), c-Fos expression showed no significant Group or Housing effect and no Group X Housing interaction whatever the nucleus (Group: $F_{(1,33)} < 3.3$; Housing: $F_{(1,33)} < 2.4$; Group X Housing: $F_{(1,33)} < 0.06$, ns for all nuclei and factors). Thus, c-Fos expression in this thalamic region was affected neither by the ReRh lesion nor by the enriched housing in both ‘baseline’ and ‘memory’ conditions.

Amygdala. c-Fos expression was examined in the basolateral (BLA), basomedial (BMA), medial (ME) and central (CE) nuclei of the amygdala. In the baseline condition (Fig. 5G), we found a significant Group effect in each amygdala nucleus (Group: $F_{(1,9)} > 6.96$, $p < 0.05$ for all nuclei), reflecting a significant increase in c-Fos expression in the ReRh/SE vs sham/SE groups ($p < 0.01$ in BLA, $p < 0.05$ in BMA, ME and CE) and in the ReRh/SE vs sham/EE group ($p < 0.05$ for all nuclei). There was no significant Housing effect in BLA and CE ($F_{(1,9)} < 1.9$; ns for both), and in the BMA and ME, p values indicated marginal effects (BMA, $F_{(1,9)} = 4.66$, $p = 0.07$; ME, $F_{(1,9)} = 3.86$, $p = 0.09$). In these two nuclei, *post hoc* analysis revealed a significant difference between the ReRh/EE and ReRh/SE groups ($p < 0.05$ for both nuclei). In BLA, c-Fos expression in the ReRh/EE group significantly differed from both sham/SE and sham/EE ($p < 0.05$). In the CE, the difference between

4. Contributions expérimentales

ReRh/EE and sham/SE was close to significance ($p = 0.07$) and there was no difference between ReRh/EE and sham/EE. There was no Housing X Group interaction, whatever the sub-region (BLA, $F_{(1,9)} = 1.9$; BMA, $F_{(1,9)} = 2.25$; ME, $F_{(1,9)} = 2.47$, CE, $F_{(1,9)} = 1.25$; ns for all). In the memory condition (Fig. 5H), there was a significant Group effect in ME ($F_{(1,33)} = 5.22$, $p < 0.05$) but not in the 3 other sub-regions ($F_{(1,33)} < 2.3$, ns, for all). The post-hoc analysis revealed a significant increase in neuronal activity in the ReRh/SE vs Sham/SE group ($p < 0.05$ in BMA, ME and CE) and in the ReRh/SE vs Sham/EE one ($p < 0.05$ for BMA, ME and CE, $p = 0.06$ in BLA). There was also a significant effect of the Housing factor in all amygdala nuclei (BLA, $F_{(1,33)} = 7.80$; BMA, $F_{(1,33)} = 13.06$; ME, $F_{(1,33)} = 14.89$; CE, $F_{(1,33)} = 6.66$, $p < 0.01$, except for CE, $p < 0.05$) due to a significant decrease in c-Fos expression in the ReRh/EE vs ReRh/SE group (BLA: $p < 0.05$; BMA, ME, CE, $p < 0.01$); such a difference was not found between the sham/EE and sham/SE groups. So, in the amygdala, ReRh/EE rats showed c-Fos expression levels that were similar to those observed in both sham/SE and sham/EE. Finally, there was a significant Group X Housing interaction in the ME and CE nuclei ($F_{(1,33)} = 4.41$, $F_{(1,33)} = 6.14$, $p < 0.05$, respectively), but not in the BLA and BMA ($F_{(1,33)} < 2.4$, ns for both). Taken together, these data indicate that the ReRh lesion strongly affected basal expression of c-Fos in all amygdala nuclei, particularly in the BLA. Post-lesion EE did not restore the basal level of c-Fos expression, although consequently reducing the neuronal hyperactivity in the amygdala complex. During remote memory retrieval, both sham groups showed a marked increase in c-Fos expression, strongly attenuating the sham vs lesion groups differences observed under the baseline condition. Notably, enriched ReRh rats showed levels of c-Fos expression that were comparable to those found in sham rats (sham/SE, sham/EE), whereas ReRh rats raised in standard condition (ReRh/SE) showed the highest level of Fos expression in all nuclei.

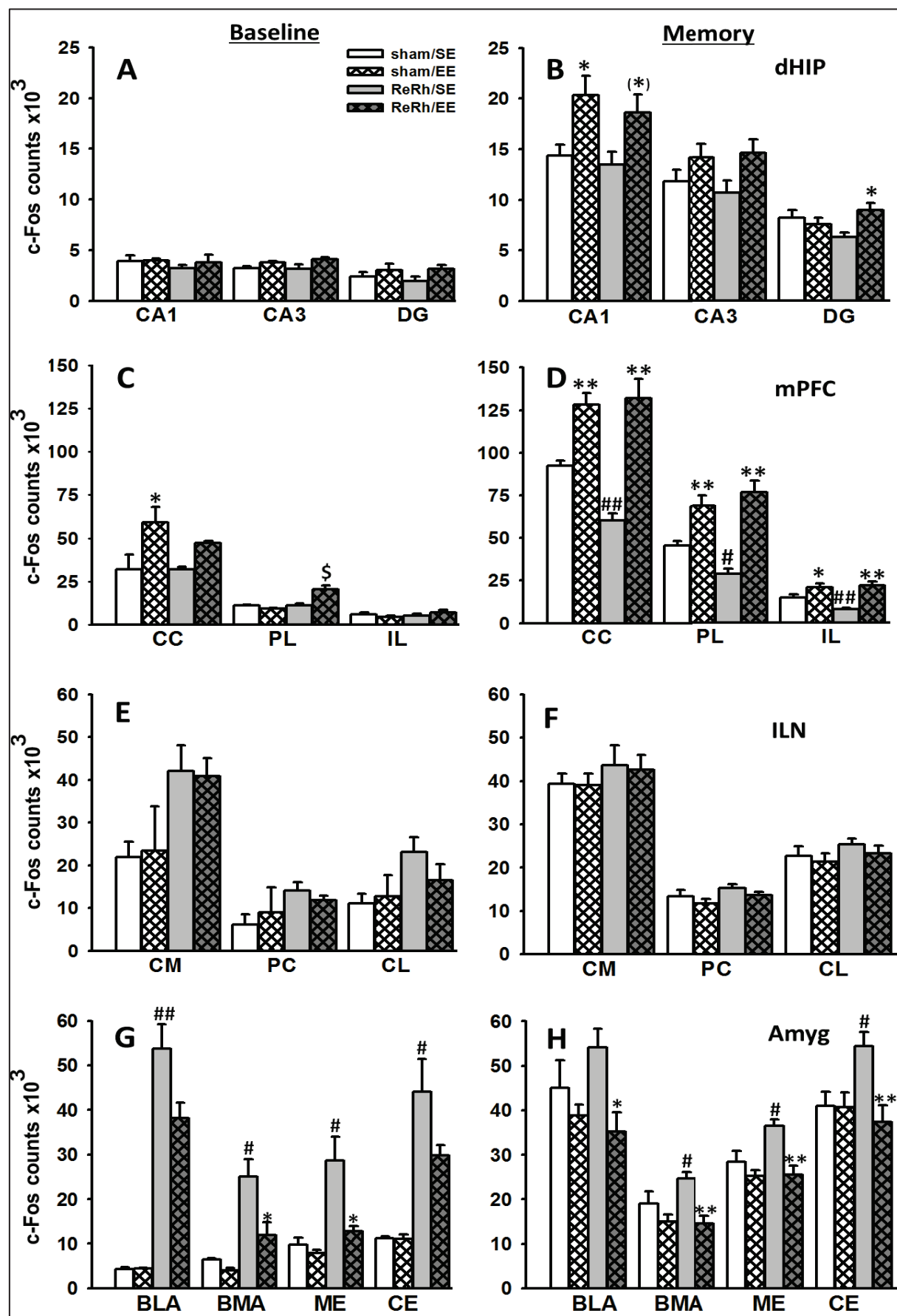


Figure 5

4. Contributions expérimentales

Figure 5. Stereological quantification of **c-Fos** expression in the brain areas in the ‘baseline condition’ experiment (**left**) and in the ‘memory condition’ experiment (**right**). Data are expressed as means of the total number of c-Fos positive cells \pm SEM. (**A, B**) C-Fos expression in the dorsal hippocampus (**dHip**) including the cornus ammonis, fields 1 and 3 (**CA1, CA3**) and the dentate gyrus (**DG**); (**C, D**) in the medial prefrontal cortex (**mPFC**) including the anterior cingulate (**CC**), prelimbic (**PL**) and infralimbic (**IL**) cortices; (**E, F**) in the intralaminar nuclei of the thalamus (**ILN**) which include the central medial (**CM**), paracentral (**PC**) and central lateral (**CL**) nuclei; (**G, H**) in the amygdala complex including the central (**CE**), basolateral (**BLA**), basomedial (**BMA**) and medial (**ME**) nuclei. Statistics: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, (*): $p < 0.10$ (tendency): significantly different from the corresponding standard housing condition. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$: significantly different from the corresponding Sham group. \$ $p < 0.05$: significantly different from all groups.

Discussion

In rodent models, functional alterations of ReRh nuclei disrupt working memory tasks requiring a coordinated activation of the prefrontal cortex and the hippocampus (e.g., Hembrook and Mair, 2011; Hembrook et al., 2012; Duan et al., 2015; Griffin, 2015). These thalamic nuclei are also involved in strategy shifting in response to negative feedback in the rat (Cholvin et al., 2013). The activity pattern of the ReRh during encoding of a context associated by mice with an unpleasant experience determines how many contextual details the resulting memory will hold (Xu and Südhof, 2013). Ito et al. (2015) recently reported in the rat, that the Re was implicated in relaying information important for goal direction computations from the mPFC to the hippocampal CA1 region. An additional elucidation of the functional implications of the ventral midline thalamus was our discovery of its contribution to systems-level consolidation of a spatial memory (Loureiro et al., 2012). Because such spatial memory does not consolidate at systems-level following ReRh lesions, we asked whether postsurgical rearing in a physically- and socially-enriched environment would rescue memory functions, as shown after other (anterior) thalamic lesions (Wolff et al., 2008; Loukavenko et al., 2007, 2015; Dupire et al., 2013; Harland et al., 2014). In standard rats, we confirmed that ReRh lesions alter remote memory formation capabilities and showed that a 40-day long postsurgical environmental enrichment restored these capabilities. Still in these rats, memory-triggered c-Fos expression in the dorsal hippocampus was not affected by the ReRh lesion, but it was substantially reduced (-30 to -47%) in the three subregions of the mPFC. Environmental enrichment boosted c-Fos expression in CA1 both in sham and lesioned rats (+42% and +38%, respectively), and also in the DG of rats with a ReRh lesion (+42%). Similar findings were observed in the mPFC subregions with a more marked increase of c-Fos expression in enriched sham (+36 to +51%) and lesioned (+120 to +180%) rats during remote memory retrieval, than in their respective standard counterparts. Both in the hippocampus and mPFC, enriched sham and ReRh rats showed similar memory-induced increase of c-Fos protein expression

4. Contributions expérimentales

(Figs 5B and 5D). Because the intralaminar nuclei were shown to participate in systems-level consolidation (Lopez et al., 2009), c-Fos expression was also assessed in these nuclei: there was neither a lesion nor an environmental enrichment effect (Fig 5F). Because the water maze is an avoidance test that also implies physical activity in fresh water, therefore stressful (e.g., Akirav et al., 2001; Zheng et al., 2006), and because environmental enrichment has been repeatedly shown to modulate anxiety and affective/emotional states (e.g., rev Hannan, 2014), c-Fos expression was also quantified in the amygdala. There, on the contrary to the other cerebral regions considered in this paper, we found a prominent baseline (home cage rats, no learning) effect of the ReRh lesion: c-Fos expression was increased by 200 to 1200% in the four amygdala nuclei in standard ReRh rats, with the highest increase in the BLA (Fig 5G). This hyperactivity was attenuated (30 to 55 %) in enriched ReRh rats, although remaining higher than in both standard and enriched sham groups. Moreover, in the amygdala of sham rats, memory-triggered c-Fos expression was highly increased in both standard and enriched conditions, while in ReRh standard and enriched rats, we could not detect a marked change during remote memory retrieval, as compared to baseline expression (Fig 5H).

Retrieval-triggered c-Fos expression in the mPFC is reduced by the ReRh lesion in standard housing conditions

In previous experiments, we found that rats with ReRh lesions learned a Morris water maze task normally and perfectly remember the platform location after 1 (Cholvin et al., 2013) or 5 (Loureiro et al., 2012) post-acquisition days. When tested 25 days post-acquisition, however, this memory had gone (Loureiro et al., 2012). Given that the reversible lidocaine-induced inactivation of the ReRh right before the probe trial did not prevent retrieval of the remote memory (Loureiro et al., 2012), the most plausible explanation for the deficit found 25 days after acquisition is that the ReRh lesion has interfered with systems-level consolidation processes. Such consolidation could have been disrupted by an initial failure of information encoding, due for instance to the alteration of the early tagging of cortical networks in which the memory will be stored after a certain delay (Lesburguères et al., 2011). The fact that rats with ReRh lesions learn the platform location, keep a memory of it for several days, and that we observed little effects of the lesion on baseline c-Fos expression in the hippocampus and mPFC regions might call for an alternative possibility: the ReRh lesions could have interfered with the consolidation at the systems level through a modification of the synchronization/desynchronization states of cortical EEG (rev Pereira de Vasconcelos and Cassel, 2015). Indeed, the lesion might have altered the information flow from the hippocampus to the cortex, and thus the hippocampus-driven rewiring of cortical networks underlying remote memory formation: a process that has been shown to mostly occur during sleep (e.g., rev Diekelman and Born, 2010). In the present study, the reduced c-Fos expression in the anterior cingulate (-30%), prelimbic (-37%) and infralimbic (-47%) cortices of standard ReRh rats, points to a weaker activation of these structures during the probe trial, which could be the reason for the impaired performance. Indeed, a pronounced immediate early gene

4. Contributions expérimentales

expression (c-fos, zif268) increase in mPFC neurons (particularly in the anterior cingulate cortex) during efficient retrieval of a remote memory has been well-documented in spatial (Teixeira et al., 2006; Lopez et al., 2012; Wartman and Holahan, 2013), fear conditioning (Frankland et al., 2004; Restivo et al., 2009; Goshen et al., 2011), object recognition (Weible et al., 2012) and taste aversion (Ding et al., 2008) tasks. From our experimental design it is not possible to know whether the low level of mPFC activation was due to a too weak memory trace or whether the impaired performances was the consequence of a too weak activation of cortical networks inspite of the presence of the required engram. Frankland et al. (2001; 2004), using mutant CaMKII mice, showed remote memory deficits (Morris water maze, fear conditioning) when learning and recent memory were intact. The pronounced cortical activation (c-fos, zif268) associated with remote memory in wild type mice was absent in these mutant mice, and an alteration of cortical synaptic remodeling was evidenced, suggesting that the mutation impedes the cortical reorganization necessary for memory consolidation. In the present study, considering the neuroanatomical and functional position of the ReRh nuclei between the hippocampus and the mPFC (rev Cassel et al., 2013; Vertes et al., 2015), the integrity of the ReRh nuclei might be necessary for the maturation and elaboration of cortical circuits underlying remote memory. The low level of cortical recruitment during the probe trial in lesioned rats could then reflect an alteration of systems-level consolidation. However, further experiments are needed to endorse this proposal, for example by targeting synaptic and structural markers of cortical plasticity (e.g., dendritic spines, GAP43 or synaptophysin, see Restivo et al., 2009; Lesburguères et al., 2011). In a model of anterior thalamic lesion, Harland et al. (2014) showed that spatial working memory deficits were associated with a significant decrease in baseline spine density in both the hippocampus (CA1) and the retrosplenial cortex. Thus, in our study, possible neuronal dysfunctions in relation to an impaired plasticity in the mPFC following ReRh lesion need to be elucidated.

Environmental enrichment normalizes cortical c-Fos expression patterns and remote memory retrieval in ReRh rats

Environmental enrichment (EE) has long been used to investigate the environmental influence on brain structure and function. Robust effects were observed at the neuronal level, accompanied by improvement in cognitive performance both in normal and diseased animals (e.g., rev Van Praag et al 2000; Nithianantharajah and Hannan, 2006; Patel, 2012; Hannan, 2014). Thus, EE has been shown to improve cognitive abilities of healthy adult mice in spatial- (e.g., Kempermann et al., 1997; Huang et al., 2006;) and non-spatial memory tasks (e.g., Rampon et al., 2000a; Tang et al., 2001; Leger et al., 2012), as well as in aged mice (e.g., Fischer et al., 2007). Likewise, such helpful effects were also demonstrated in models of brain injury, both in rats and mice (rev Will et al., 2004; Pang and Hannan, 2013; Hannan, 2014). Concerning the thalamus, clinical evidence showed that its integrity is crucial for memory with a prominent involvement of the anterior, midline, intralaminar and mediodorsal nuclei (Schmahmann, 2003; Van Der Werf et al., 2003; Carlessimo et al., 2011; De Witte et al., 2011).

4. Contributions expérimentales

Several experimental studies have investigated the potential beneficial effect of EE for rescuing cognitive/memory deficits after thalamic lesion targeting the anterior nuclei. Data showed that a 30-40 day post-lesion enrichment can (at least partly) reverse spatial working memory (Loukavenko et al., 2007, 2015; Harland et al., 2014), fear conditioning (Dupire et al., 2013) and allocentric reference memory (Wolff et al., 2008) deficits. In the present study, we showed for the first time that the recovery of remote spatial memory abilities by EE after ventral midline thalamic lesions is accompanied by a normalization of c-Fos expression level in the three mPFC subregions. Interestingly, Loukavenko et al. (2015) showed that the improvement of spatial working memory capacities after anterior thalamic lesions in enriched rats was associated with a significant Fos expression decrease in the mPFC, without any change in the dorsal or ventral hippocampus. These differential effects of EE housing might depend upon the thalamic region damaged (anterior vs ventral midline) and/or the spatial task used (working- vs remote memory). Finally, Harlan et al. (2014), using the same models and task as in Loukavenko et al.'s study, showed that the EE-triggered improvement of memory capacities was associated with a recovery of basal spine density in the hippocampal CA1 region. In our study, the mechanisms/processes that allowed recovery of remote memory capacities in ReRh enriched animals remain to be determined. The possibilities include changes of gene expression involved in neuronal structure, synaptic plasticity and transmission, dendritic sprouting, new synaptogenesis, stimulation of adult neurogenesis and chromatin remodeling (e.g., Rampon et al., 2000b; Fischer et al 2007; rev Van Praag et al., 2000; Nithianantharajah and Hannan, 2006; Alwis and Rajan, 2014).

Finally, in enriched Sham rats, the c-Fos expression increase in the mPFC and the hippocampus (CA1) was not accompanied by any performance improvement, conversely to what was observed in ReRh rats. This could be explained by a 'ceiling effect', our water maze protocol enabling optimal performance in the standard sham rats (e.g., Lopez et al., 2012; Loureiro et al., 2012).

Dramatic increase of baseline c-Fos expression in the amygdala after ReRh lesions

In our baseline condition, we detect no effect of the lesion and no or weak effects of the Housing condition on c-Fos expression in the hippocampus, mPFC and ILN regions. This was at strong variance with the amygdala. Indeed, a massive increase in c-Fos expression was evidenced in this structure in ReRh lesioned rats raised in standard conditions, especially in the BLA and CE nuclei. Furthermore, enriched housing significantly attenuated the lesion-induced hyperactivity in the amygdala complex. It is to note that this dramatic hyperactivity was not associated with major changes in anxiety level measured in a plus-maze test as previously shown (Loureiro et al., 2012). Moreover, thigmotactic behavior, which refers to an animal's propensity to move along the edge of its environment, and is often attributed to anxiety and fear in the water maze (e.g., Treit and Fundytus, 1989), was not affected by the lesion (the present study, Loureiro et al., 2012; Cholvin et al., 2013).

4. Contributions expérimentales

Towards a role of neuronal activity in the amygdala complex in memory consolidation at the systems level?

Although the BLA is not considered a necessary component of spatial learning and memory neural circuitry, its inactivation or damage can affect performance in spatial tasks. Furthermore, mechanisms of plasticity are activated in this brain region, which may influence the expression of long-term spatial memory retrieval (e.g., Roozendaal et al., 2003; Gaskin and White 2006). Such results suggest a contribution of the BLA to the emotional and/or motivational component of spatial learning and memory (Bischoff-Grethe et al., 2009).

In the present study, ReRh lesion might have altered the normal functioning of the mPFC by interrupting the dense excitatory reciprocal projections between both regions. The interruption might have affected some of the functions supported by the mPFC, particularly the top-down control exerted by this structure on activity of several sub-cortical areas including the amygdala (rev Vertes, 2006; Bishop, 2007). Indeed, the dense projections of the mPFC to other cortical and subcortical regions enables it to exert control over a wide range of functions including limbic and cognitive functions (e.g., rev Hoover and Vertes, 2007; Riga et al., 2014). Thus, the major hyperactivity observed in the amygdala after ReRh lesion could be the consequence of mPFC dysfunction. In addition, the rhomboid nucleus (Rh) has prominent connections with the amygdala (basal medial, basal lateral, Vertes et al., 2006), another way by which the lesion could lead to the abnormal amygdala activity. As a consequence of this amygdala hyperactivity, hippocampal activity might have been impaired, altering then the processes of systems-level consolidation. Indeed, the amygdala, particularly the BLA, via its projection to the hippocampus (Pikkarainen et al., 1999) has been shown to modulate hippocampal-dependent memory processes and synaptic plasticity in relation to stress, emotional or electrical stimulation. All these processes are impaired by excessive activity in the amygdala (e.g., rev Bergado et al., 2011; Fa et al., 2014). Finally, Miyashita (2004) proposed that frontal regions by sending top-down signals to the temporal cortex manipulate and organize the to-be-remembered information of an event to be memorized. Thus, any alteration in the cortical control over sub-cortical areas might affect the consolidation of a memory at the systems-level, be it by direct- or indirect (via the amygdala) modulation of hippocampal activity.

Impact of the enriched environment

In the present study, rescued memory capabilities in enriched ReRh rats are associated with the recovery of mPFC neuronal activity levels at retrieval, as well as with partial and complete reversal of the lesion-induced hyperactivity in the amygdala in baseline and memory conditions, respectively. In the literature, several hypotheses have been proposed to explain functional recovery by enriched housing in intact or injured animals. Fischer et al. (2007) proposed that enrichment induced the refinement/re-establishment of the synaptic networks which may be the cause of improved learning in

4. Contributions expérimentales

a neurodegenerative model of transgenic mice. For these authors, the potential mechanism to reinstate learning and memory in a degenerated brain would be the upregulation of the plasticity and function of the remaining neurons. In a model of tactile stimulation following cortical injury in infant rat, Kolb and Gibb (2010) brought evidence of synaptic changes in the adjacent cortex pointing to modification of the intrinsic cortical circuitry after enrichment. An increased hippocampal neurogenesis has also been shown after enriched housing in intact mice showing improved spatial memory performance (e.g., Kempermann et al. 1997). Finally, as previously mentioned, all synaptic plasticity changes induced by enriched conditions might be associated with some neurobiological changes, including neurotransmission and neurotrophic factors in target brain areas (hippocampus, striatum, cortex..., rev Will et al., 2004; Mora et al., 2007).

Therefore, one could propose that enriched housing condition, by their partial restoration of activity in the amygdala complex in the baseline conditions might have participated to the recovery of consolidation processes allowing the persistence of a memory. These data, including ours, showing evidence of recovery of function after thalamic lesions by enriched housing need to be continued by asking which changes in which systems mediate the recovery of function.

Conclusions

The present study shows that recovery of spatial memory persistence in the rat after ventral midline thalamic lesion can be obtained by a 40-day post-lesion period of enriched housing. This functional recovery comes with the reinstatement of mPFC neuronal recruitment at retrieval. It is also associated with an attenuation of the lesion-induced hyperactivity in the amygdala in baseline condition. As suggested in other models of thalamic lesions, the current results point to the fact that diencephalic pathologies may provide different behavioural effects as a function of the environmental conditions. At the level of its cognitive correlates, such pathology appears highly responsive to the beneficial effects of environmental enrichment. This opens new options for rehabilitation strategies in clinical cases of diencephalic amnesia.

Acknowledgements

The authors wholeheartedly acknowledge the precious contribution of O. Bildstein, G. Edomwonyi and O. Egesi to animal care. They also thank the University of Strasbourg, the CNRS and the INSERM for their financial support, and the French and Syrian governments for PhD fellowship to TC and MA, respectively. Pr John Dalrymple-Alford is warmly thanked for the enriched environment protocol and the kindly provided objects.

4. Contributions expérimentales

Bibliography

- Aggleton JP, Brown MW. 2006. Interleaving brain systems for episodic and recognition memory. *Trends Cogn Sci* 10(10):455-463.
- Akirav I, Sandi C, Richter-Levin G. 2001. Differential activation of hippocampus and amygdala following spatial learning under stress. *Eur J Neurosci* 14(4):719-25.
- Alwis DS, Rajan R. 2014. Environmental enrichment and the sensory brain: the role of enrichment in remediating brain injury. *Front Syst Neurosci* 8: 156.
- Barry DN, Commins S. 2011. Imaging spatial learning in the brain using immediate early genes: insights, opportunities and limitations. *Rev Neurosci* 22(2):131-142.
- Bergado JA, Lucas M, Richter-Levin G. 2011. Emotional tagging--a simple hypothesis in a complex reality. *Prog Neurobiol* 94(1):64-76.
- Bischoff-Grethe A, Hazeltine E, Bergren L, Ivry RB, Grafton ST. 2009. The influence of feedback valence in associative learning. *Neuroimage* 44(1):243-51
- Bishop SJ. 2007. Neurocognitive mechanisms of anxiety: an integrative account. *Trends Cogn Sci* 11(7):307-316.
- Carlesimo GA, Lombardi MG, Caltagirone C (2011) Vascular thalamic amnesia: a reappraisal. *Neuropsychologia* 49: 777-789.
- 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. *Prog Neurobiol* 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. *J Neurosci* 33(20):8772-8783.
- De Witte L, Brouns R, Kavadias D, Engelborghs S, De Deyn PP, Mariën P. 2011. Cognitive, affective and behavioural disturbances following vascular thalamic lesions: a review. *Cortex* 47(3): 273-319.
- Diamond MC, Ingham CA, Johnson RE, Bennett EL, Rosenzweig MR. 1976. Effects of environment on morphology of rat cerebral cortex and hippocampus. *J Neurobiol* 7(1):75-85.
- Diekelmann S, Born J. 2010. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci* 11(2):114-126.
- Ding HK, Teixeira CM, Frankland PW. 2008. Inactivation of the anterior cingulate cortex blocks expression of remote, but not recent, conditioned taste aversion memory. *Learn Mem* 15(5):290-293.
- Duan AR, Varela C, Zhang Y, Shen Y, Xiong L, Wilson MA, Lisman J. 2015. Delta frequency optogenetic stimulation of the thalamic nucleus reuniens is sufficient to produce working memory deficits: relevance to schizophrenia. *Biol Psychiatry* 77(12):1098-1107.
- Dupire A, Kant P, Mons N, Marchand AR, Coutureau E, Dalrymple-Alford J, Wolff M. 2013. A role for anterior thalamic nuclei in affective cognition: interaction with environmental conditions. *Hippocampus* 23(5): 392-404.
- Fa M, Xia L, Anunu R, Kehat O, Kriebel M, Volkmer H, Richter-Levin G. 2014. Stress modulation of hippocampal activity--spotlight on the dentate gyrus. *Neurobiol Learn Mem* 112:53-60.
- Fischer A¹, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai LH. 2007. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature* 447(7141):178-182.
- Fitzgerald TH, Valentin A, Selway R, Richardson MP. 2013. Cross-frequency coupling within and between the human thalamus and neocortex. *Front Hum Neurosci* 7: 84.
- Frankland PW, Bontempi B. 2005. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6(2):119-130.
- Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ. 2004. The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* 304(5672):881-883.
- Frankland PW, O'Brien C, Ohno M, Kirkwood A, Silva AJ. 2001. Alpha-CaMKII-dependent plasticity in the cortex is required for permanent memory. *Nature* 411(6835): 309-313.
- Galani R, Duconseille E, Bildstein O, Cassel JC. 2001. Effects of room and cage familiarity on locomotor activity measures in rats. *Physiol Behav* 74(1-2):1-4
- Gaskin S, White NM. 2006. Cooperation and competition between the dorsal hippocampus and lateral amygdala in spatial discrimination learning. *Hippocampus* 16(7): 577-85

4. Contributions expérimentales

- Goshen I, Brodsky M, Prakash R, Wallace J, Gradinaru V, Ramakrishnan C, Deisseroth K. 2011. Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell* 147(3): 678-689.
- Greenough WT, Hwang HM, Gorman C. 1985. Evidence for active synapse formation or altered postsynaptic metabolism in visual cortex of rats reared in complex environments *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82(13): 4549-4552.
- Griffin AL. 2015. Role of the thalamic nucleus reuniens in mediating interactions between the hippocampus and medial prefrontal cortex during spatial working memory *Front Syst Neurosci* 9:29.
- Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A, et al. 1988. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 96(5):379-94.
- Hannan AJ. 2014. Environmental enrichment and brain repair: harnessing the therapeutic effects of cognitive stimulation and physical activity to enhance experience-dependent plasticity. *Neuropathol Appl Neurobiol* 40(1):13-25.
- 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(10):1232-1247.
- Hembrook JR, Mair RG. 2011. Lesions of reuniens and rhomboid thalamic nuclei impair radial maze win-shift performance. *Hippocampus* 21(8):815-826.
- Hembrook JR, Onos KD, Mair RG. 2012. Inactivation of ventral midline thalamus produces selective spatial delayed conditional discrimination impairment in the rat. *Hippocampus* 22(4):853-860.
- Hoover WB, Vertes RP. 2007. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct* 212(2):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 Struct Funct* 217(2):191-209.
- Huang FL, Huang KP, Wu J, Boucheron C. 2006. Environmental enrichment enhances neurogranin expression and hippocampal learning and memory but fails to rescue the impairments of neurogranin null mutant mice. *J Neurosci* 26(23): 6230-6237.
- Ito HT, Zhang SJ, Witter MP, Moser EI, Moser MB. 2015. A prefrontal-thalamo-hippocampal circuit for goal-directed spatial navigation. *Nature* 522(7554):50-55.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386(6624):493-495.
- Kolb B, Gibb R. 2010. Tactile stimulation after frontal or parietal cortical injury in infant rats facilitates functional recovery and produces synaptic changes in adjacent cortex. *Behav Brain Res* 214(1):115-120.
- Lecourtier L, de Vasconcelos AP, Cosquer B, Cassel JC. 2010. Combined lesions of GABAergic and cholinergic septal neurons increase locomotor activity and potentiate the locomotor response to amphetamine. *Behav Brain Res* 213(2):175-182.
- Lecourtier L, Antal MC, Cosquer B, Schumacher A, Samama B, Angst MJ, Ferrandon A, Koning E, Cassel JC, Nehlig A. 2012. Intact neurobehavioral development and dramatic impairments of procedural-like memory following neonatal ventral hippocampal lesion in rats. *Neuroscience* 207:110-123
- Leger M, Quiedeville A, Paizanis E, Natkunarajah S, Freret T, Boulouard M, Schumann-Bard P. 2012. Environmental enrichment enhances episodic-like memory in association with a modified neuronal activation profile in adult mice. *PLoS One* 7(10): e48043.
- Lesburguères E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi. 2011. Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331(6019):924-928
- 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. *J Neurosci* 29(10):3302-3306.
- 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(4): 827-841.

4. Contributions expérimentales

- Loukavenko EA, Ottley MC, Moran JP, Wolff M, Dalrymple-Alford JC. 2007. Towards therapy to relieve memory impairment after anterior thalamic lesions: improved spatial working memory after immediate and delayed postoperative enrichment. *Eur J Neurosci*. 26(11): 3267-3276.
- Loukavenko EA, Wolff M, Poirier GL, Dalrymple-Alford JC. 2015. Impaired spatial working memory after anterior thalamic lesions: recovery with cerebrolysin and enrichment. *Brain Struct Funct*. 2015 Mar 1. [Epub ahead of print].
- Loureiro M, Cholvin T, Lopez J, Merienne N, Latreche A, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel JC, Pereira de Vasconcelos A. 2012. The ventral midline thalamus (reuniens and rhomboid nuclei) contributes to the persistence of spatial memory in rats. *J Neurosci* 32(29): 9947-9959.
- Mainardi M, Landi S, Gianfranceschi L, Baldini S, De Pasquale R, Berardi N, Maffei L, Caleo M. 2010. Environmental enrichment potentiates thalamocortical transmission and plasticity in the adult rat visual cortex. *J Neurosci Res* 88(14): 3048-3059.
- Mair RG, Miller RL, Wormwood BA, Francoeur MJ, Onos KD, Gibson BM. 2015. The neurobiology of thalamic amnesia: Contributions of medial thalamus and prefrontal cortex to delayed conditional discrimination. *Neurosci Biobehav Rev* 54:161-174
- Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, Bontempi B. 2004. Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science* 305: 96-99.
- Miyashita Y. 2004. Cognitive memory: cellular and network machineries and their top-down control. *Science* 306(5695): 435-440.
- Mora F, Segovia G, del Arco A. 2007. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res Rev*. 55(1): 78-88.
- Nithianantharajah J, Hannan AJ. 2006. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 7(9):697-709.
- Pang TY, Hannan AJ. 2013. Enhancement of cognitive function in models of brain disease through environmental enrichment and physical activity. *Neuropharmacology* 64:515-528.
- Patel TR. 2012. Environmental enrichment: aging and memory *Yale J Biol Med* 85(4):491-500.
- Paxinos G, Watson C. 2007. The rat Brain in stereotaxic coordinates. 6th Ed. Elsevier/ Academic Press. Amsterdam/Boston.
- Pereira de Vasconcelos A, Cassel JC, 2015. The nonspecific thalamus: a place in a wedding bed for making memories last? *Neurosci Biobehav Rev*. 54:175-196.
- Pikkarainen M, Rönkkö S, Savander V, Insausti R, Pitkänen A. 1999. Projections from the lateral, basal, and accessory basal nuclei of the amygdala to the hippocampal formation in rat. *J Comp Neurol* 403(2): 229-260.
- Rampon C, Jiang CH, Dong H, Tang YP, Lockhart DJ, Schultz PG, Tsien JZ, Hu Y. 2000b. Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(23): 2880-12884.
- Rampon C, Tang YP, Goodhouse J, Shimizu E, Kyn M, Tsien JZ. 2000a. Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat Neurosci* 3(3): 238-244.
- Restivo L, Vetere G, Bontempi B, Ammassari-Teule M. 2009. The formation of recent and remote memory is associated with time-dependent formation of dendritic spines in the hippocampus and anterior cingulate cortex. *J Neurosci* 29(25):8206-8214.
- Riga D, Matos MR, Glas A, Smit AB, Spijker S, Van den Oever MC. 2014. Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. *Front Syst Neurosci*, 9, art 230.
- Roozendaal B, Griffith QK, Buranday J, De Quervain DJ, McGaugh JL. 2003. The hippocampus mediates glucocorticoid-induced impairment of spatial memory retrieval: dependence on the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(3): 1328-1333
- Rosenzweig MR, Bennett EL, Diamond MC. 1967. Effects of differential environments on brain anatomy and brain chemistry. *Proc Annu Meet Am Psychopathol Assoc* 56:45-56
- Schmahmann JD (2003) Vascular syndromes of the thalamus. *Stroke* 34: 2264-2278.
- Scholz J, Allemang-Grand R, Dazai J, Lerch JP. 2015. Environmental enrichment is associated with rapid volumetric brain changes in adult mice. *Neuroimage*. 109:190-198.

4. Contributions expérimentales

- Tang YP, Wang H, Feng R, Kyin M, Tsien JZ. 2001. Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. *Neuropharmacology* 41(6):779-790.
- Teixeira CM, Pomedli SR, Maei HR, Kee N, Frankland PW. 2006. Involvement of the anterior cingulate cortex in the expression of remote spatial memory. *J Neurosci.* 26(29):7555-64.
- Thierry AM, Gioanni Y, Dégénétais E, Glowinski J (2000) Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* 10:411–419.
- Treit D, Fundytus M. 1988. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 31(4): 959-962.
- Tu S, Miller L, Piguet O, Hornberger M. 2014. Accelerated forgetting of contextual details due to focal medio-dorsal thalamic lesion. *Front Behav Neurosci* 8: art320.
- Urakawa S, Takamoto K, Hori E, Sakai N, Ono T, Nishijo H. 2013. Rearing in enriched environment increases parvalbumin-positive small neurons in the amygdala and decreases anxiety-like behavior of male rats. *BMC Neurosci* 14:13.
- Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. 2000. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* 1(3):191-198.
- Van Der Werf YD, Jolles J, Witter MP, Uylings HBM. 2003. Contributions of thalamic nuclei to declarative memory functioning. *Cortex* 39: 1047-1062.
- 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. *J Comp Neurol* 499(5):768-796.
- Vertes RP, Linley SB, Hoover WB. 2015. Limbic circuitry of the midline thalamus. *Neurosci Biobehav Rev* 54:89-107.
- Vertes RP. 2006. Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience* 142(1):1-20.
- Vertes RP, Linley SB, Hoover WB. 2015. Limbic circuitry of the midline thalamus. *Neurosci Biobehav Rev.* 54: 89-107.
- Wartman BC, Holahan MR. 2013. The use of sequential hippocampal-dependent and -non-dependent tasks to study the activation profile of the anterior cingulate cortex during recent and remote memory tests. *Neurobiol Learn Mem* 106:334-342.
- Weible AP, Rowland DC, Monaghan CK, Wolfgang NT, Kentros CG. 2012. Neural correlates of long-term object memory in the mouse anterior cingulate cortex. *J Neurosci.* 32(16):5598-608.
- Wheeler AL, Teixeira CM, Wang AH, Xiong X, Kovacevic N, Lerch JP, McIntosh AR, Parkinson J, Frankland PW. 2013. Identification of a functional connectome for long-term fear memory in mice. *PLoS Comput Biol* 9(1): e1002853.
- Will B, Galani R, Kelche C, Rosenzweig MR. 2004. Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990-2002). *Prog Neurobiol* 72(3):167-182.
- Wolff M, Loukavenko EA, Will BE, Dalrymple-Alford JC. 2008. The extended hippocampal-diencephalic memory system: enriched housing promotes recovery of the flexible use of spatial representations after anterior thalamic lesions. *Hippocampus* 18(10): 996-1007.
- Xu W, Südhof TC. 2013. A neural circuit for memory specificity and generalization. *Science* 339(6125):1290-1295.
- Zheng H, Liu Y, Li W, Yang B, Chen D, Wang X, Jiang Z, Wang H, Wang Z, Cornelissen G, Halberg F. 2006. Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. *Behav Brain Res* 168(1):47-55.

Résultats complémentaires

4.1. Poids des animaux

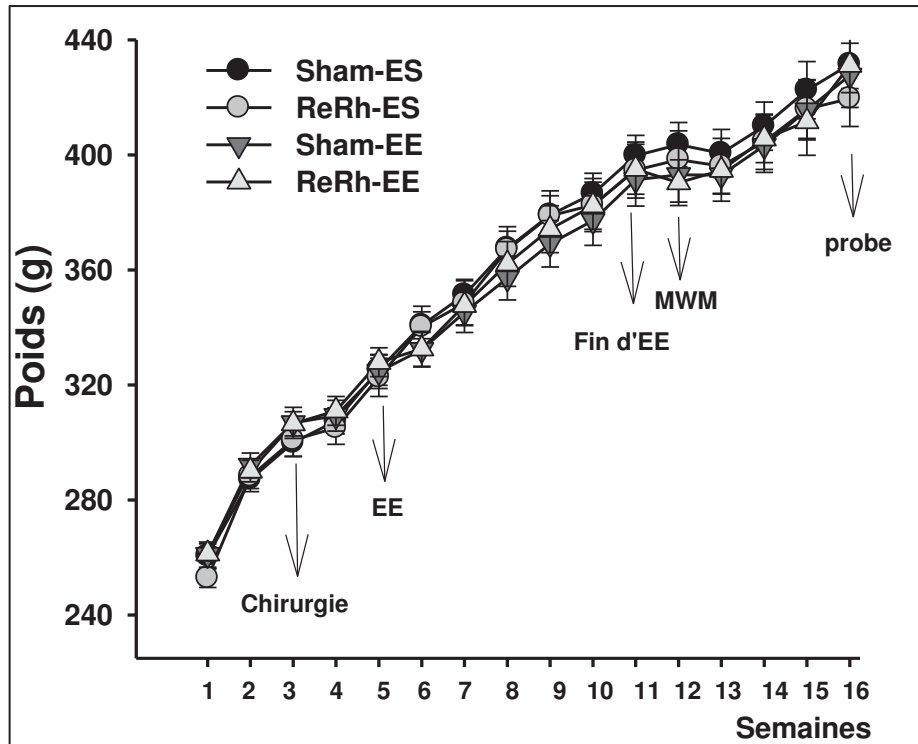


Figure 28 : Evolution pondérale dans l'ensemble des groupes de rats tout au long de l'étude. Les résultats sont exprimés en moyenne de poids (g) par semaine \pm (SEM). Abréviations : (EE) environnement enrichi, (ES) environnement standard, (MWM) test de la piscine de Morris, (ReRh) lésion des noyaux reuniens et rhomboïde, (Sham) groupe contrôle.

Analyses statistiques : L'ANOVA à 3 facteurs (Traitement «Sham, ReRh»; Milieu «EE, ES») avec le facteur (Semaine «1, 2, 3...») en mesures répétées, ne montre aucun effet significatif ni du facteur 'Traitement' ($F_{1,46} = 0.02$; $p = 0.88$, ns), ni du facteur 'Milieu' ($F_{1,46} = 0.09$; $p = 0.76$, ns) sur l'évolution pondérale. De même, aucune interaction significative entre les deux facteurs ($F_{1,46} = 0.14$; $p = 0.71$, ns) n'a été observée. Par contre, un effet significatif du facteur 'Semaine' a été noté ($F_{15,690} = 986.78$; $p < 0.001$), reflétant l'augmentation progressive du poids corporel au cours des semaines et pas d'interaction entre les facteurs Semaine X Traitement, ni Semaine X Traitement X Milieu ($F_{15,690} < 1.0$, ns pour les deux interactions) mais l'interaction Semaine X Milieu était significative ($F_{15,690} = 2.07$; $p < 0.001$).

Ainsi, le poids des rats n'était affecté ni par la lésion ni par les différentes conditions d'élevage enrichi ou standard.

4.2. Test du labyrinthe en croix surélevé : activité globale

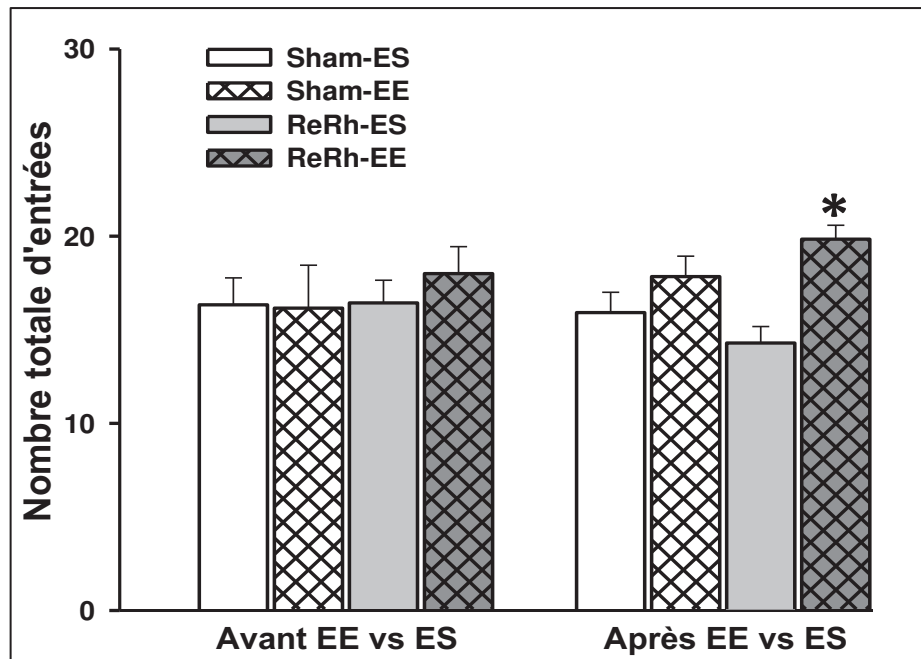


Figure 29 : Test du labyrinthe en croix surélevé (plus maze) montrant le nombre totale d'entrées dans les 4 bras (ouverts et fermés) \pm (SEM). Le test était réalisé avant et après l'élevage dans le milieu enrichi ou standard. Abréviations : (EE) environnement enrichi, (ES) environnement standard, (ReRh) lésion des noyaux reuniens et rhomboïde. (Sham) groupe contrôle. Statistique : * $p < 0.05$: différence significative vs groupe ReRh-ES.

Analyses statistiques : L'ANOVA à deux facteurs (Traitement «Sham, ReRh»; Milieu «EE, ES») était utilisé pour montrer la présence d'éventuelles différences significatives de l'activité locomotrice avant et après l'élevage en milieu enrichi ou standard. Lors de la première évaluation de l'anxiété effectuée avant le milieu enrichi, il n'y a aucun effet significatif, ni du Traitement ($F_{1,46} = 0.04$; $p = 0.84$, ns) ni du Milieu ($F_{1,46} = 0.82$; $p = 0.36$, ns), ni une interaction significative entre les deux facteurs ($F_{1,46} = 0.01$; $p = 0.90$, ns) pour le nombre total d'entrées dans l'ensemble des bras du labyrinthe en croix surélevé. Après l'élevage en condition enrichie ou standard, l'analyse statistique du nombre total d'entrées dans tous les bras montre un effet du facteur Milieu ($F_{1,46} = 15.01$; $p < 0.001$), mais pas d'effet significatif du facteur Traitement ($F_{1,46} = 0.03$; $p = 0.84$, ns) ni d'interaction significative ($F_{1,46} = 3.55$; $p = 0.06$, ns). L'analyse *post-hoc* (Newman-Keuls) révèle que l'effet significatif du facteur Milieu est dû à un nombre d'entrées plus important chez le groupe ReRh-EE par comparaison à celui du groupe ReRh-ES ($p < 0.01$).

4. Contributions expérimentales

En résumé, aucune différence significative n'a été observée pour l'activité totale dans le labyrinthe en croix surélevé réalisé avant l'élevage enrichi ou standard. Alors que l'enrichissement des conditions d'élevage a augmenté significativement cette activité chez les rats lésés (ReRh-EE) par rapport leurs congénères élevés en condition standard (ReRh-ES).

4.3. Actographie sur 24h

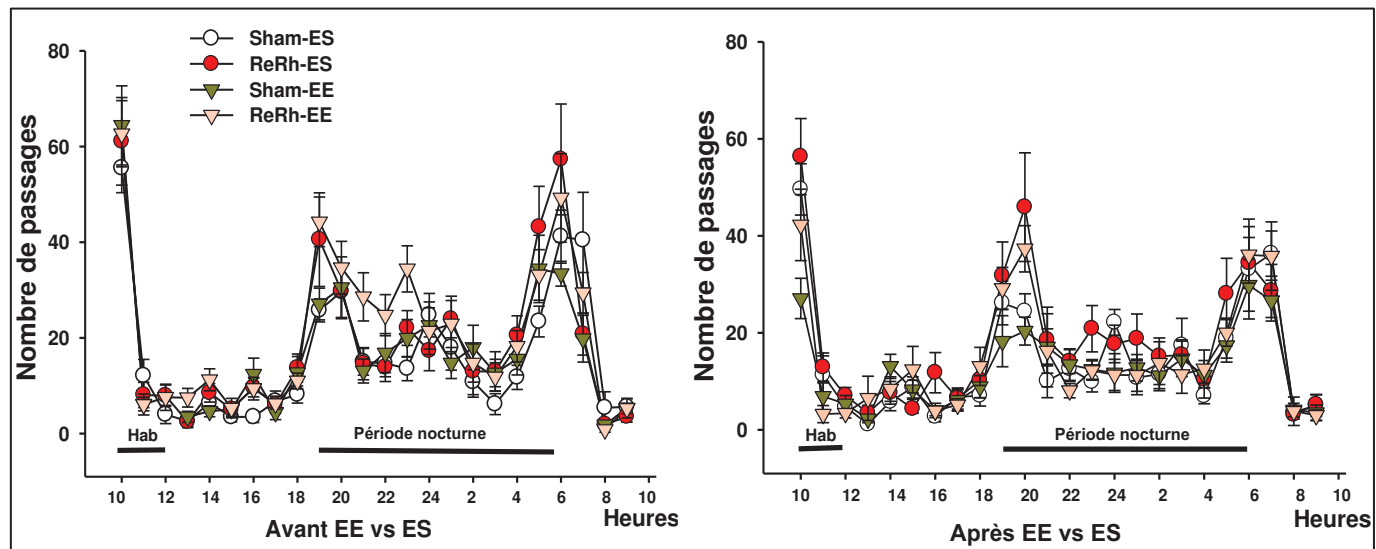


Figure 30 : Effets de la lésion ReRh et des conditions d'élevage sur l'activité locomotrice horizontale évaluée avec le test d'actographie pendant 24h, avant et après l'élevage au milieu enrichi ou standard. Résultats exprimés en moyenne \pm (SEM) du nombre du passage par heure. Abréviations : (EE) environnement enrichi, (ES) environnement standard, (ReRh) lésion des noyaux reuniens et rhomboïde. (Sham) groupe contrôle, (Hab) habituation.

Analyses statistiques : Le nombre de passage entre les deux extrémités de la cage pendant 24 h a été analysé en utilisant une ANOVA à 3 facteurs avec mesures répétées (Traitement, Milieu, Heure). Avant l'élevage en condition enrichie vs standard, l'analyse montre uniquement un effet global du Traitement ($F_{1,44} = 4.73$; $p < 0.05$), et une interaction significative entre les facteurs 'Traitement x Heures' ($p < 0.05$), qui révèle un effet significatif du traitement à 19h et à 6h de la période nocturne, correspondant au début et à la fin de celle-ci (Newman-Keuls; $p < 0.01$ pour les deux horaires). Cette interaction est due au fait que les rats lésés ReRh présentent significativement plus d'activité que les rats Sham ($p < 0.001$ pour les deux horaires). Après 40j d'élevage en condition enrichie ou standard, l'ANOVA ne révèle ni un effet significatif du Traitement, ni du Milieu, ni une interaction entre ces facteurs

4. Contributions expérimentales

($F_{1,45} < 3.0$, ns pour tous). Mais, une interaction significative, d'une part entre les facteurs 'Milieu x Heure', et d'autre part, entre les facteurs 'Traitement x Heure' ($p < 0.05$ pour les deux interactions) a été mise en évidence. L'analyse post hoc montre que cette interaction significative 'Milieu x Heure' est due à une diminution significative d'activité locomotrice chez les groupes enrichis lors la première heure du test ($p < 0.001$). Par ailleurs, l'analyse de l'interaction 'Traitement x Heure' révèle principalement un effet significatif de la lésion à 10h (première heure d'habituation) et à 20h du test ($p < 0.05$ pour chacune) pendant lesquelles les rats lésés présentaient globalement une activité locomotrice plus élevée comparée à celle des rats Sham.

En résumé, la lésion des noyaux ReRh a provoqué une augmentation modérée dans l'activité locomotrice nocturne (certaines heures) pendant le test réalisé avant l'application du milieu enrichi. Après 40j en milieu enrichi, une diminution significative d'activité locomotrice pendant la première heure de la période d'habituation a été mise en évidence : celle-ci était plus diminuée chez les rats Sham que les rats lésés ReRh (effet Traitement). De plus, la lésion induit une augmentation significative de l'activité locomotrice, à 20h, dans les deux groupes lésés ReRh-(EE, ES) de manière plus marquée.

4.4. Piscine de Morris : distance et vitesse pendant l'acquisition

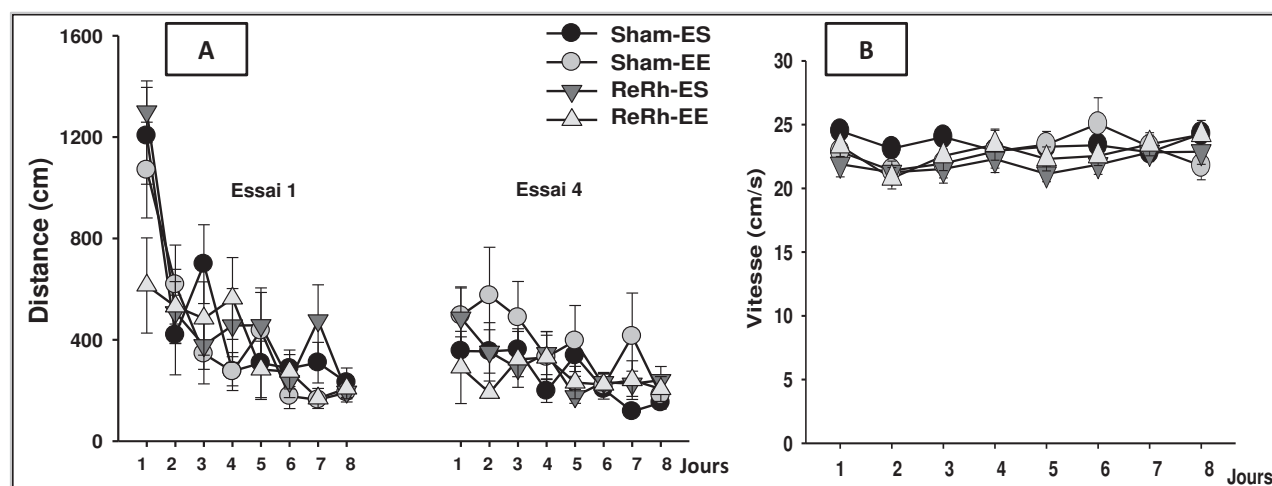


Figure 31 : (A) Distance parcourue (cm) pour arriver à une plateforme cachée pendant l'acquisition (8 jours; 1^{ère} et 4^{ème} essai) dans la piscine de Morris. (B) Vitesse (cm/s) pendant les 8 jours d'acquisition (4 essais par jour). Tous les résultats sont présentés en moyenne \pm (SEM). Abréviations : voir figure 30.

4. Contributions expérimentales

Analyses statistiques : L'analyse ANOVA à 3 facteurs avec mesures répétées (Traitement, Milieu, Jour) de la distance parcourue (Figure 31A) pendant le 1^{ère} essai d'acquisition (8j) en piscine de Morris ne révèle ni un effet significatif du Traitement ($F_{1,33} = 0.02$; $p = 0.9$, ns), ni du Milieu ($F_{1,33} = 3.04$; $p = 0.09$, ns), ni d'interaction significative ($F_{1,33} = 0.3$; $p = 0.7$, ns). Mais, il y a un effet significatif du Jour ($F_{7,231} = 20.08$; $p < 0.001$). L'analyse *post hoc* révèle pendant le 1^{ère} jour, la distance parcourue est plus courte dans le groupe ReRh-EE comparée à celle d'autres groupes ($p < 0.05$ pour tous). L'analyse de la performance d'acquisition pendant le 4^{ème} essai montre un effet significatif du Jour ($F_{7,231} = 3.02$; $p < 0.001$) et une interaction significative entre les facteurs 'Traitement x Milieu' ($F_{1,33} = 5.14$; $p < 0.05$), mais pas d'effet pour le facteur du Traitement seul ($F_{1,33} = 1.8$; $p = 0.18$, ns) et du Milieu seul ($F_{1,33} = 1.4$; $p = 0.24$, ns). Cette interaction est probablement due à une distance parcourue plus longue chez les rats Sham-EE en comparaison à celle chez d'autres groupes d'animaux (rats Sham-ES, $p = 0.051$; rats ReRh-EE, $p = 0.07$; ReRh-ES, $p = 0.08$). Cependant, l'analyse *post hoc* en interaction avec les jours d'acquisition ne révèle aucune différence significative entre les groupes étudiés. Pour la vitesse de nage en piscine de Morris (Figure 31B), l'ANOVA ne montre aucun effet significatif des différents facteurs ni de leurs interactions ($p > 0.1$; ns pour tous).

En résumé, la lésion et/ou le milieu enrichi n'ont pas un impact majeur sur la distance parcourue pour rejoindre la plateforme cachée au cours de l'acquisition. Ainsi, tous les groupes d'animaux présentent un apprentissage de la localisation de la plateforme caractérisé par la diminution progressive de la distance parcourue au cours des jours. De même, pour la vitesse de nage, tous les groupes d'animaux ont une vitesse identique pour chercher la plateforme au cours de l'apprentissage.

4.5. Piscine de Morris : test du rappel

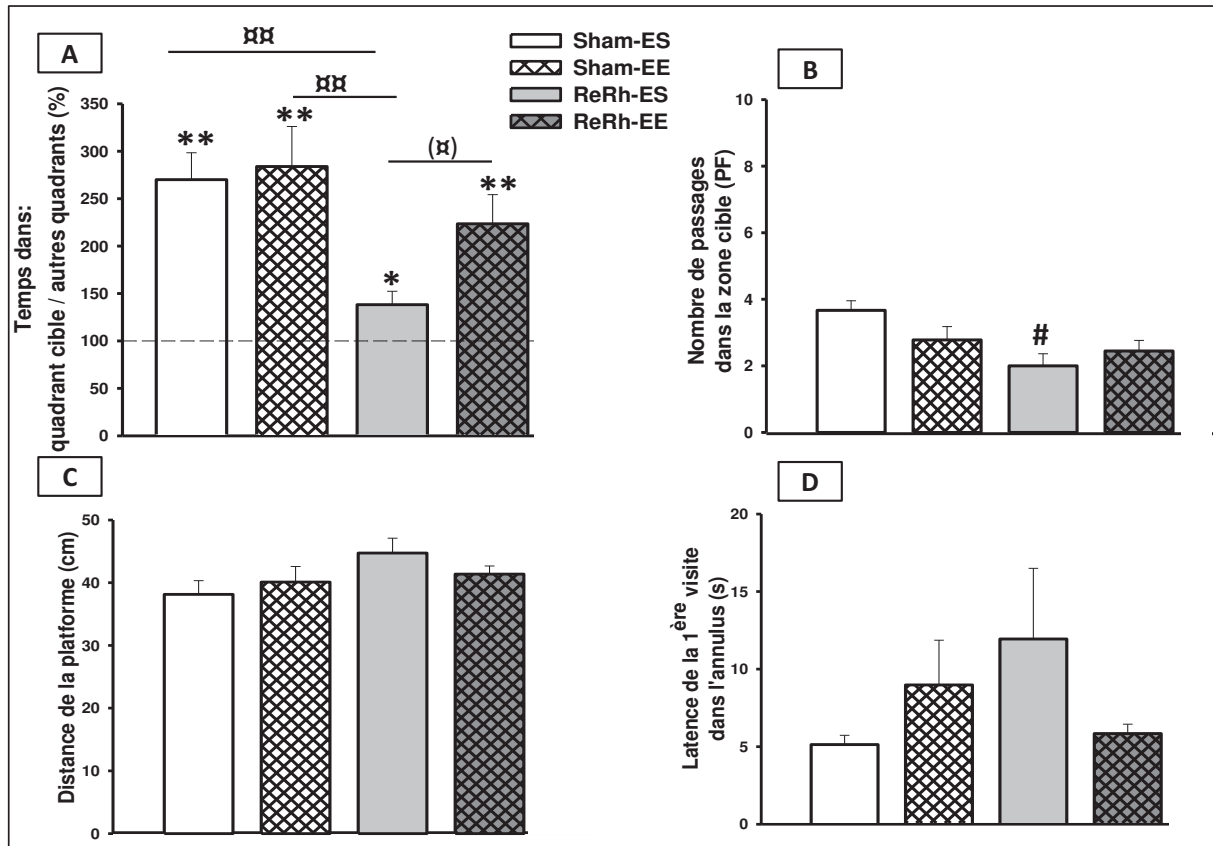


Figure 32 : Autres performances lors de test du rappel d'une mémoire ancienne dans la piscine de Morris. Données présentées en moyenne \pm (SEM). **(A)** Proportion du temps passé dans le quadrant cible par rapport celui dans les autres quadrants (%), la ligne horizontale montre le niveau de hasard, soit 100%. **(B)** Nombre du passage dans la zone cible (zone virtuelle correspondant à la plateforme cachée). **(C)** Distance par rapport la zone cible en cm. **(D)** Latence du premier passage dans l'annulus (zone de la plateforme plus un anneau virtuel de 10 cm autour). Abréviations : voir figure 30. Statistiques : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: Différence significative vs hasard. # $p < 0.05$: Différences significatives vs groupe Sham-ES. α $p < 0.05$, $\alpha\alpha$ $p < 0.01$: Différences significatives entre les deux groupes. (α) : Tendance pour significativité ($p = 0.055$)

Analyses statistiques : Pour le temps passé dans le quadrant cible par rapport aux autres différents quadrants (Figure 32A), l'ANOVA à deux facteurs (Traitement et Milieu) montre un effet du facteur Traitement ($F_{1,33} = 10.05$; $p < 0.01$) mais pas d'effet du facteur Milieu ($F_{1,33} = 2.6$; $p = 0.11$, ns) ni d'interaction significative 'Traitement x Milieu' ($F_{1,33} = 1.3$; $p = 0.24$, ns). L'analyse *post hoc* révèle une diminution significative chez le groupe ReRh-ES en comparaison aux groupes Sham-ES et Sham-EE ($p < 0.01$ pour chacun), et une tendance à la significativité en comparaison avec le groupe ReRh-EE ($p = 0.055$). L'analyse statistique (test *t* de student) de la performance par rapport au hasard (100 %), montre une différence

4. Contributions expérimentales

significative dans tous les groupes : ($p < 0.01$) groupes Sham-ES, ReRh-EE et Sham-EE et ($p < 0.05$) groupe ReRh-ES ($p < 0.05$). L'analyse du **nombre des passages dans la zone cible** (Figure 32B) montre également un effet significatif du Traitement ($F_{(1,33)} = 8.06$, $p < 0.01$), mais il n'existe pas d'effet du Milieu ($F_{(1,33)} = 0.39$, $p = 0.53$, ns) ni une interaction avec le facteur 'lésion' ($F_{(1,33)} = 3.58$, $p = 0.06$, ns). Cet effet Traitement est dû à un nombre des visites diminué significativement chez le groupe ReRh-ES par comparaison à celui du groupe Sham-ES ($p < 0.01$). La **distance** de la zone cible (Figure 32C) montre une tendance pour le facteur Traitement ($F_{(1,33)} = 0.26$, $p = 0.07$) et pas d'effet du facteur Milieu ($F_{(1,33)} = 0.26$, $p < 0.07$, ns) ni d'interaction significative 'Traitement x Milieu' ($F_{(1,33)} = 0.26$, $p < 0.07$, ns). Enfin, la **latence** de la première visite dans l'annulus (Figure 32D) n'a montré d'effet significatif ni du Traitement ($F_{(1,33)} = 0.40$, $p = 0.52$ ns), ni du Milieu ($F_{(1,33)} = 0.10$, $p = 0.74$, ns), et pas d'interaction entre ces facteurs ($F_{(1,33)} = 1.49$, $p = 0.23$, ns).

En résumé, en condition d'élevage standard, la lésion des noyaux ReRh perturbe significativement certains paramètres du rappel d'une mémoire spatiale ancienne en piscine de Morris (ex, le temps passé dans le quadrant cible par rapport les autres quadrants et le nombre de passage dans la zone cible) en comparaison au groupe Sham-ES. Après 40j d'élevage en condition enrichie, le rats porteurs d'une lésion (ReRh-EE) ne présentent plus de tels déficits et leurs performances sont similaires à celles des groupes Sham, notamment Sham-EE.

4.6. Expression du gène précoce *c-fos* au rappel d'une mémoire spatiale ancienne

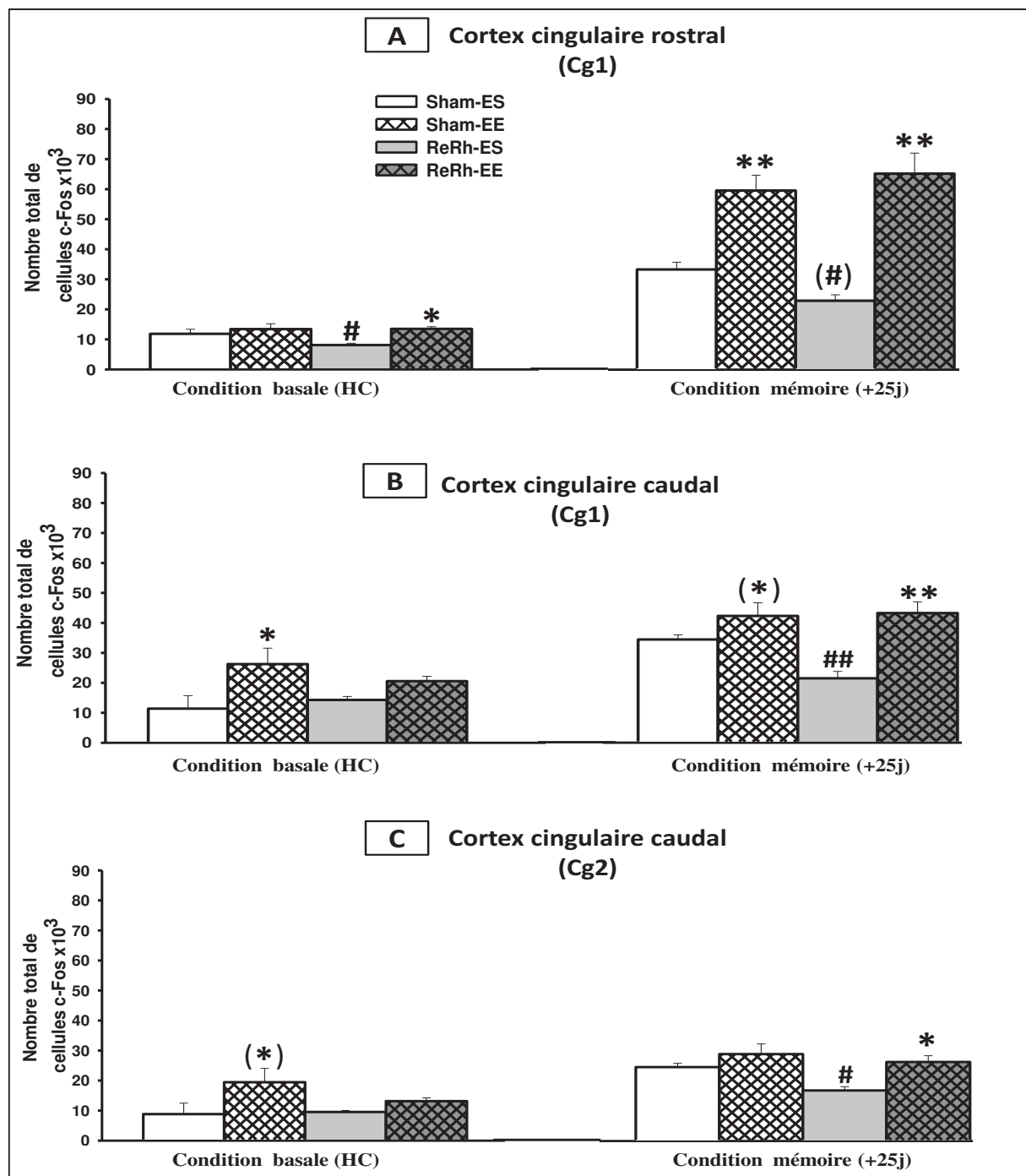


Figure 33 : Comptage en stéréologie du nombre de neurones exprimant la protéine Fos chez des rats en condition basale (à gauche) et en condition d'une mémoire ancienne (à droite). **(A)** Nombre de cellules c-Fos positives dans le cortex cingulaire antérieur rostral (Cg1). **(B)** et **(C)** Nombre de cellules c-Fos exprimées dans la partie caudale du cortex cingulaire comprenant Cg1 et Cg2, respectivement. Voir figure 24 pour l'étendue antéropostérieure (AP) de ces structures selon l'atlas Paxinos et Watson (2007). Abréviations : comme figure 30. Statistiques : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: différences significatives vs environnement standard correspondant. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$: différences significatives vs groupe Sham-ES. (#) et (*) $p < 0.1$: tendance pour la significativité.

4. Contributions expérimentales

Analyse statistique : Pour l'expression du gène précoce immédiat *c-fos* dans la partie rostrale du cortex cingulaire antérieur (**Cg1 rostral**, Figure 33A) : En **condition basale (HC)**, l'ANOVA à deux facteurs (Traitement et Milieu) montre uniquement un effet significatif du Milieu ($F_{(1,9)} = 8.78, p < 0.05$) et pas d'effet du Traitement ($F_{(1,9)} = 2.41, p = 0.15, ns$), ni d'interaction entre les deux facteurs ($F_{(1,9)} = 2.61, p = 0.16, ns$). L'analyse *post hoc* révèle une diminution significative du nombre des cellules c-Fos positives dans le groupe ReRh-ES par comparaison aux autres groupes ($p < 0.05$ pour tous). Au contraire, le groupe ReRh-EE ne présente pas de différences significatives par comparaison aux deux groupes Sham-(EE et ES). En **condition mémoire**, l'analyse présente un effet significatif similaire du Milieu ($F_{(1,33)} = 59.32, p < 0.01$) avec une tendance à la significativité pour l'interaction entre les deux facteurs 'Traitement x Milieu' ($F_{(1,33)} = 3.2, p = 0.08$). L'analyse de Newman-Keuls révèle une diminution avec une tendance de la significativité dans le groupe ReRh-ES en comparaison au groupe Sham-ES ($p = 0.10$). Le groupe ReRh-EE montre une augmentation significative par comparaison à son congénère élevé en condition standard (ReRh-ES) ($p < 0.01$). De même, le groupe Sham-EE montre également une augmentation significative en comparaison au groupe Sham-ES ($p < 0.01$).

Dans la partie dorsale du cortex cingulaire antérieur caudale (**Cg1**; Figure 33B), en **condition basale**, l'ANOVA à deux facteurs montre un effet significatif du Milieu ($F_{(1,9)} = 10.23, p < 0.05$) mais pas d'effet du Traitement ($F_{(1,9)} = 0.17, p = 0.68, ns$), ni une interaction significative entre les deux facteurs ($F_{(1,9)} = 1.69, p = 0.22, ns$). Cet effet du Traitement est dû à une augmentation significative du nombre des cellules c-Fos chez les rats Sham-EE par rapport à celui chez les rats Sham-ES ($p < 0.05$). En **condition mémoire**, l'ANOVA à deux facteurs présente un effet significatif du Milieu ($F_{(1,33)} = 20.7, p < 0.01$) et une interaction significative entre les facteurs 'Milieu x Traitement' ($F_{(1,33)} = 4.55, p < 0.05$) mais il n'y a pas d'effet significatif (tendance) pour le facteur Traitement seul ($F_{(1,33)} = 3.40, p = 0.07, ns$). L'analyse *post hoc* de Newman-Keuls, montre une diminution significative dans le groupe ReRh-ES vs aux autres groupes ($p < 0.01$ pour tous). Par contre, le groupe ReRh-EE ne présente aucune différence significative en comparaison aux groupes Sham-(EE et ES; $p > 0.10$ pour les deux). Par ailleurs, l'analyse *post hoc* montre une augmentation avec une tendance à la significativité chez les rats Sham-EE vs les rats Sham-ES ($p = 0.09$).

Enfin, dans la partie ventrale du cortex cingulaire antérieur caudale (**Cg2**; Figure 33C), en **condition basale**, l'ANOVA à deux facteurs montre un effet significatif du Milieu ($F_{(1,9)} = 6.70, p < 0.05$), mais pas d'effet du Traitement ($F_{(1,9)} = 1.02, p = 0.33, ns$), ni une interaction

4. Contributions expérimentales

significative entre les deux facteurs ($F_{(1,9)} = 1.63, p = 0.23, ns$). L'analyse *post hoc* révèle une tendance à l'augmentation du nombre de neurones Fos dans le groupe Sham-EE en comparaison au groupe Sham-ES. En **condition mémoire**, l'ANOVA à deux facteurs démontre un effet significatif du Traitement ($F_{(1,33)} = 5.60, p < 0.05$) et du Milieu ($F_{(1,33)} = 9.91, p < 0.01$), mais pas d'interaction entre les deux facteurs ($F_{(1,33)} = 1.37, p = 0.25, ns$). L'analyse *post hoc* révèle une diminution significative du nombre de cellules c-Fos dans le groupe ReRh-ES vs tous les autres groupes ($p < 0.05$ pour tous). De plus, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre le groupe ReRh en condition enrichie et les deux autres groupes Sham-(EE et ES; $p > 0.10$ pour les deux).

En résumé, en **condition basale**, l'expression de c-Fos dans le cortex cingulaire antérieur rostral, montre une hypoactivité significative induite par la lésion (groupe ReRh-ES) en comparaison au groupe Sham-ES. Celle-ci est contrebalancé significativement chez les rats lésés ReRh en condition enrichie. Dans le cortex cingulaire antérieur caudal (Cg1 et Cg2), cette diminution de l'activité neuronale induite par la lésion n'a pas été révélée. De plus, l'environnement enrichi augmente l'expression de c-Fos chez les rats contrôles (Sham-EE vs Sham-ES). En **condition mémoire**, dans le cortex cingulaire antérieur rostral, une diminution de l'activité neuronale est observée chez les rats lésés (groupe ReRh-ES) par comparaison au groupe contrôle (Sham-ES). L'exposition à un milieu enrichi augmente de manière importante l'activité neuronale dans les deux groupes enrichis (ReRh-EE et Sham-EE). En ce qui concerne le cortex cingulaire antérieur caudal (Cg1 et Cg2), la diminution de l'expression de c-Fos liée à la lésion ReRh montre un profil similaire à celui du cortex cingulaire rostral, par contre, l'effet du milieu enrichi est moins marqué, notamment chez les rats contrôles (Sham-EE vs Sham-ES). Ainsi, chez les rats porteurs d'une lésion ReRh élevés au milieu enrichi, une augmentation significative de l'expression de c-Fos, en particulier dans le Cg1 rostral et caudal, a été mise en évidence par comparaison à leurs congénères élevés en condition standard (ReRh-ES). Cette augmentation est associée à la récupération des capacités de rappel d'une mémoire spatiales ancienne (Figure 33A, B).

4.7. Dosage plasmatique de la corticostérone

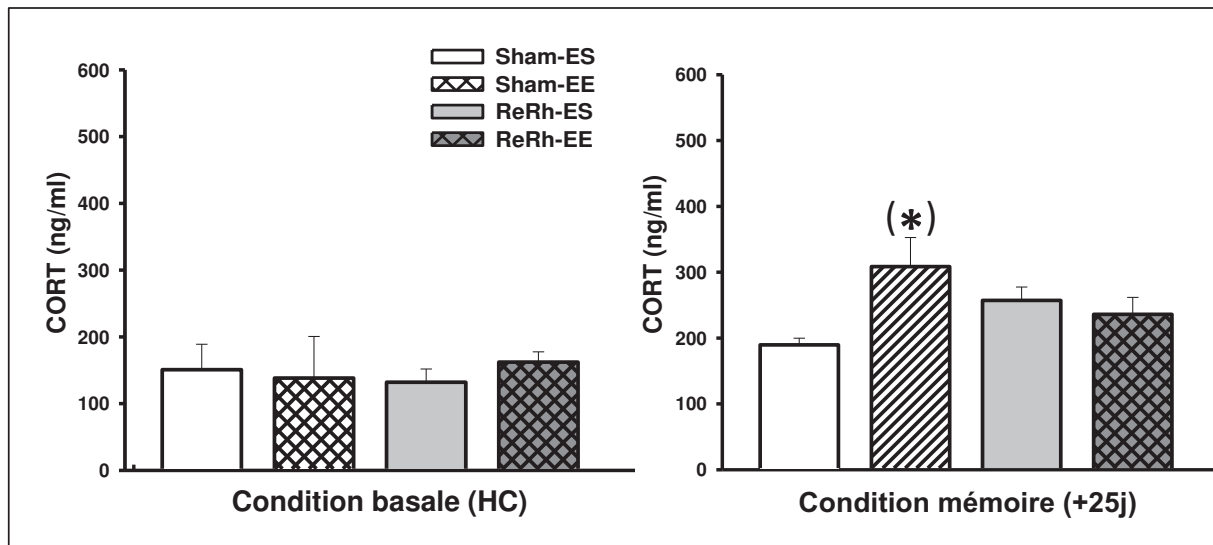


Figure 34 : Niveau de corticostérone plasmatique (CORT) chez des rats en condition basale (à gauche) et en condition de rappel d'une mémoire spatiale ancienne (à droite). Les résultats sont exprimés en moyenne (ng / ml) par groupe \pm (SEM). Abréviations : voir figure 30. Statistiques : (*) $p = 0.07$; tendance pour significativité entre les groupes Sham-(EE et ES).

Analyse statistique : En ce qui concerne le niveau hormonal de corticostérone plasmatique, en **condition basale**, l'ANOVA à deux facteurs (Traitement et Milieu) ne montre pas d'effet significatif du Traitement ($F_{(1,9)} = 0.004$, $p = 0.94$, ns), ni du Milieu ($F_{(1,9)} = 0.05$, $p = 0.81$, ns) ni une interaction entre ces facteurs ($F_{(1,9)} = 0.34$, $p = 0.57$, ns). En **condition mémoire**, l'analyse des taux circulants de corticostérone ne montre pas un effet du Traitement ($F_{(1,13)} = 0.005$, $p = 0.94$, ns) ni du Milieu ($F_{(1,13)} = 2.45$, $p = 0.14$ ns), mais une interaction significative est retrouvée entre les deux facteurs ($F_{(1,13)} = 5.02$, $p < 0.05$). L'analyse *post hoc*, révèle une augmentation avec une tendance à la significativité de la corticostérone chez le groupe Sham-EE vs le groupe Sham-ES ($p = 0.07$).

En résumé, en condition basale, le niveau de la corticostérone plasmatique n'est pas affecté significativement par la lésion ReRh et/ou l'élevage enrichi. En condition de mémoire, l'élevage en milieu enrichi augmente la corticostérone chez le groupe d'animaux témoins (Sham). Par contre, aucun effet ni de la lésion ReRh, ni du milieu enrichi n'a été retrouvé chez les rats lésés. Cependant, ces résultats ont des limites au vu du nombre d'échantillons testés (3-4 par groupe) et de la durée de conservation (> 3mois).

5. Discussion générale et Conclusion

5. Discussion générale

Cette thèse avait pour objectif d'étudier l'influence de l'enrichissement environnemental, physique et social, sur le déficit du rappel d'une mémoire spatiale ancienne induit par la lésion excitotoxique des noyaux ventaux de la ligne médiane thalamique ou noyaux reuniens et rhomboïde (ReRh) chez le Rat (Loureiro et coll., 2012). Ainsi, nous avons évalué la possibilité de la récupération fonctionnelle d'une mémoire spatiale à l'aide d'une approche comportementale et anatomo-fonctionnelle. Au travers de ces mesures combinées comportementales et immunohistochimiques de l'expression du gène précoce *c-fos*, nous avons pu mettre en évidence en premier lieu l'impact de la lésion ReRh et/ou l'élevage enrichi sur la capacité de rappel à long terme d'un souvenir spatial en piscine de Morris, mais également sur l'anxiété et l'activité locomotrice. Ainsi, un élevage pendant 40 jours au milieu enrichi après lésion ReRh induit des effets bénéfiques sur la récupération fonctionnelle de la persistance d'une mémoire ancienne, et a augmenté les capacités adaptatives avec un effet anxiolytique face à un nouvel environnement ou à une situation anxiogène. En deuxième lieu, à l'aide du marqueur d'activité neuronale, le gène précoce *c-fos*, nous avons également pu déterminer l'implication fonctionnelle différentielle de plusieurs structures cérébrales, en particulier, le cortex préfrontal médian, l'hippocampe et l'amygdale, au moment du rappel d'une mémoire spatiale ancienne, et ceci au sein de différentes conditions expérimentales comprenant les conditions d'élevage standard ou enrichie chez des rats porteurs d'une lésion des noyaux ReRh ou des rats Sham. Les parties suivantes seront consacrées à la discussion des résultats obtenues dans ce travail de ma thèse en les confrontant aux données de la littérature.

5.1. Effet de la lésion ReRh sur la mémoire, l'anxiété et la locomotion

Apprentissage et mémoire récente Nos résultats montrent que la lésion excitotoxique des ReRh effectuée avant l'acquisition chez des animaux en condition standard n'a pas une influence sur la tâche de la navigation spatiale en piscine de Morris, qui nécessite un apprentissage, au cours de plusieurs jours (8j) d'acquisition, de la localisation d'une plateforme cachée sous la surface de l'eau en utilisant des indices visuels distaux. En effet, cet apprentissage permet aux rats d'acquérir une 'carte cognitive', c'est-à-dire une représentation mentale de l'environnement spatiale (ex. O'Keefe and Nadel, 1978; Morris, 1984). Ainsi, conformément aux précédents résultats obtenus dans notre laboratoire (Loureiro et coll., 2012)

5. Discussion générale

et dans une autre étude (Dolleman-van der Weel et coll., 2009), tous les animaux ReRh sont capables de réaliser cette tâche qui est représentée par une courbe d'acquisition normale avec une diminution progressive de la distance parcourue pour arriver à la plateforme cachée avec les jours d'entraînement. De plus, comme montré dans les études précédentes au laboratoire (Loureiro et coll., 2012; Cholvin et coll., 2013), l'analyse des paramètres non-mnésiques comme la vitesse globale de nage et la thigmotaxie indique que tous les animaux ReRh et sham ont une performance identique, excluant donc des effets majeurs de la lésion sur des aspects sensorimoteurs et sur l'anxiété dans la piscine de Morris.

Ainsi, nos données de la lésion des noyaux ReRh montrent que ceux-ci ne seraient pas impliqués dans l'encodage des informations spatiales, ce qui indique que les projections des noyaux ReRh à la formation hippocampique ne sont vraisemblablement pas essentielles pour l'apprentissage spatial, tâche qui dépend pour l'essentiel de l'hippocampe (ex. O'Keefe and Nadel, 1978; Morris et coll., 1982; Moser et coll., 2008). Ces données sont en accord Dolleman-van der Weel et coll. (2009) qui montrent dans la piscine de Morris que la lésion du noyau reuniens (Re) n'altère pas l'apprentissage spatial, au contraire de la lésion du noyau thalamique médiodorsal (MD) ou de l'hippocampe qui provoquent une altération des performances d'acquisition dans cette tâche, surtout lors des premiers blocs d'essais par jour. Il en est de même pour la lésion des noyaux antérieurs du thalamus qui altère les performances d'acquisition à la fois, dans une tâche de mémoire spatiale égocentrique et allocentrique (Mitchell et Dalrymple-Alford, 2006; Wolff et coll., 2008a,b; voir également Moreau et coll., 2012). Comme pour la lésion du thalamus médiodorsal, Wolff et ses collaborateurs (2008b) ont souligné que celle du thalamus antérieur produit également un déficit d'acquisition notamment dans les premières sessions d'une tâche de navigation spatiale allocentrique en piscine de Morris. Ainsi, si la lésion de ces noyaux thalamiques affecte particulièrement les premières phases de l'acquisition; dans notre étude, l'analyse des performances pendant le premier et dernier essai de chaque jour (4 essais/j, 32A) ne montre pas de différences entre les rats lésés et Sham. Etant donné que le premier essai de chaque jour peut être considéré comme un test de rétention à 24h pour l'apprentissage de la veille dans la piscine de Morris (Vorhees et Williams, 2014), nos résultats montrent que la lésion ReRh ne provoque pas un déficit dans la mémoire récente dont les performances s'améliorent de jour en jour, attestant de l'apprentissage et de la mémorisation à long terme de la localisation de la plateforme, comme précédemment montré par Loureiro et coll. (2012) et Cholvin et coll. (2013) avec un rappel à 5 et 1 jour, respectivement. Cependant, Dolleman van

der Weel et coll. (2009) montrent une altération des performances de rappel à 24h après la lésion du noyau Re qui reflèterait un déficit de flexibilité plutôt que de mémoire spatiale en elle-même. En effet, dans cette étude, les rats lésés au cours du test de rappel, orientent initialement leur recherche vers l'emplacement de la plateforme, mais rapidement s'en détournent pour continuer leur recherche dans l'ensemble de la piscine. Des résultats similaires ont été observés par Cholvin et coll. (2013) après inactivation par le muscimol des noyaux ReRh dans la piscine de Morris. Le rôle du noyau Re dans l'apprentissage et la mémoire récente a été étudié dans 2 autres tâches, le conditionnement de peur au contexte ainsi que l'évitement passif. Ainsi, Xu et Sudhof (2013) dans une série d'expériences, utilisant notamment une approche optogénétique, ont étudié l'implication du noyau Re dans la généralisation d'une mémoire de peur au contexte chez la souris. Ils ont montré que le noyau Re joue un rôle crucial pendant l'acquisition pour déterminer le niveau de la précision d'une mémoire contextuelle consolidée ultérieurement au niveau des systèmes (Xu et Sudhof, 2013; voir revue: Cassel et coll., 2013). Enfin, Davoodi et coll. (2011) dans une tâche d'évitement passif ont montré que l'inactivation réversible (tétracaine) du noyau Re avant ou après l'acquisition ou juste avant le rappel à 24h, affecte les performances, suggérant un rôle de ce noyau thalamique dans les différentes étapes (encodage, consolidation et rappel) de mise en place d'une mémoire associative.

Ainsi, l'ensemble de précédentes données n'exclut pas l'implication des noyaux ReRh dans l'acquisition et le rappel à long terme d'une mémoire récente, qui pourrait dépendre du type de la tâche mnésique et donc de structures ainsi que de leur lien avec les noyaux ReRh (ex : Hip en mémoire spatiale, Hip et amygdale en conditionnement de peur au contexte)

Mémoire spatiale ancienne Nos résultats chez les animaux en condition d'élevage standard ont confirmé que la lésion permanente des noyaux ReRh effectuée avant l'apprentissage altère le rappel d'une mémoire ancienne (25j) dans la piscine de Morris en comparaison au groupe sham (Loureiro et coll., 2012). Néanmoins, dans notre étude, nos rats n'étaient pas complètement déficitaires au moment de test du rappel ancien : leur temps passé dans le quadrant cible en piscine Morris était significativement au-dessus du niveau du hasard, au contraire des données de Loureiro et coll. (2012). Cette différence ne peut pas être expliquée par l'étendue de lésion qui était comparable dans les deux études. Par contre, elle pourrait être due à un délai plus long entre la fin de l'opération chirurgicale et le test de rappel ancien, 3 mois dans notre étude, en comparaison à celui de Loureiro et coll. (2012) qui était d'environ 1.5 mois. Ceci pourrait s'expliquer par des mécanismes de récupération fonctionnelle

5. Discussion générale

spontanée en lien avec une réorganisation du tissu cérébral suite à la lésion et avoir eu un impact sur la capacité de rappel d'une mémoire ancienne. Une autre explication réside dans le fait que nos rats standard étaient manipulés régulièrement pendant toute la période postopératoire, entraînant ainsi une sorte d'enrichissement qui pourrait être à l'origine d'une récupération partielle des capacités mnésiques. Cependant, il reste clair qu'en comparaison aux rats Sham, la performance des rats lésés en piscine de Morris était altérée avec moins du temps passé dans le quadrant cible, mais aussi moins de visites dans la zone virtuelle désignant l'emplacement de la plateforme cachée au cours de l'acquisition, qui pourrait indiquer que les rats lésés rappelaient la localisation de la plateforme, mais moins précisément que leurs congénères Sham. Ainsi, nos résultats confirment les données antérieures de Loureiro et coll. (2012) montrant le rôle de ces noyaux thalamiques dans la persistance d'une mémoire spatiale à long terme. Ces auteurs ont rapporté que la lésion excitotoxique des noyaux ReRh effectuée avant la phase d'acquisition n'affecte ni l'acquisition (8j), ni le rappel d'une mémoire spatiale récente (5j), mais empêche le rappel d'une mémoire ancienne (25j) en piscine de Morris. Ensuite, l'inactivation fonctionnelle réversible de ces noyaux avec la lidocaïne juste avant le test du rappel récent ou ancien ne modifie pas la performance des animaux tests dans la piscine de Morris. Ces auteurs ont conclu que les noyaux ReRh sont impliqués plutôt dans la persistance d'une mémoire spatiale à long terme mais pas dans les processus de la rétention d'une mémoire, quel que soit son âge (récent ou ancien). Cette étude était la première à montrer l'implication des noyaux ReRh dans la consolidation d'une mémoire spatiale au niveau des systèmes. Ce processus mnésique nécessite une interaction et un échange bidirectionnel d'informations entre le mPFC et l'hippocampe pour la stabilisation des traces mnésiques formées initialement dans l'hippocampe puis intégrées progressivement dans des réseaux corticaux (rev. Frankland et Bontempi, 2005; Winocur et coll., 2010). Mais, s'il est bien établi l'existence d'une connexion monosynaptique directe de l'hippocampe vers le cortex préfrontal médian (ex. Thierry et coll., 2000), les connexions directes en retour ne sont pas décrites dans la littérature à notre connaissance (Vertes et coll., 2004). Il est ainsi nécessaire qu'une structure relai soit présente pour que cet échange ait lieu entre le mPFC et l'hip. Au vu de la connectivité réciproque et dense des noyaux ReRh à la fois avec le cortex préfrontal médian et l'hippocampe (Hoover et Vertes, 2012; Varela et coll., 2013; Vertes et coll., 2007, 2010b), ces noyaux sont donc idéalement localisés pour coordonner ce dialogue entre le mPFC et l'hippocampe pendant la consolidation d'une mémoire. En accord avec cette hypothèse, plusieurs études ont également montré que les noyaux ReRh seraient impliqués dans toute tâche cognitive (processus '*on-line*', soit quand l'animal est dans le test)

nécessitant l'engagement conjoint des deux structures cérébrales (mPFC, hip), comme la mémoire du travail spatiale dans un labyrinthe radial (Hembrook et Mair., 2011), la discrimination spatiale dans une chambre de conditionnement opérant (Hembrook et coll., 2012), la généralisation d'une mémoire contextuelle (Xu et Sudhof, 2013) ou encore la flexibilité comportementale impliquant un changement de stratégies dans le labyrinthe du double H (Cholvin et coll., 2013). Les travaux de Loureiro et coll. (2012) et notre présent travail sur la persistance d'une mémoire spatiale proposent un rôle de ces noyaux thalamiques '*off-line*' c'est-à-dire lors de la consolidation systémique se produisant principalement au cours du sommeil (rev. Diekelmann and Born, 2010).

Ainsi, nos résultats ont confirmé le rôle clé des ReRh au sein d'un circuit hippocampo-cortico-thalamique engageant divers processus mnésiques notamment leur rôle dans la consolidation d'un souvenir au niveau des systèmes.

Anxiété Nos résultats ont montré que la lésion excitotoxique des noyaux ReRh chez des animaux en condition standard n'altère pas l'anxiété évaluée dans un labyrinthe en croix surélevé, deux semaines après la chirurgie. Ces résultats sont en accord avec les données de Loureiro et coll. (2012) obtenus dans le même test effectué après le rappel d'une mémoire ancienne, soit environ à 7 semaines post-chirurgie. Cependant, dans notre étude, lors de la deuxième évaluation de l'anxiété dans le même test et réalisée après les 40j d'exposition au milieu enrichi ou standard, soit environ 8 semaines post-chirurgie, les résultats indiquent que la lésion a induit une réduction significative du temps passé dans les bras fermés par comparaison à celui du groupe Sham standard. En revanche, le temps passé dans les bras ouverts n'a pas été augmenté chez les rats lésés, mais ils ont passé plus du temps dans la zone centrale du dispositif que les rats Sham standard. Dans la littérature, la zone centrale du labyrinthe en croix surélevé est souvent distinguée, mais pas toujours, des bras ouverts ou des bras fermés : elle est parfois incluse dans les bras fermés, et exceptionnellement dans les bras ouverts (revue: Hogg, 1996). De plus, le fait d'avoir répété ce test deux fois pourrait expliquer en partie l'absence d'augmentation du temps passé dans les bras ouverts des rats lésés : en effet, une diminution typique de l'activité dans les bras ouverts a été notée quand les animaux sont testés dans le même dispositif à une deuxième occasion (cité dans revue: Hogg, 1996; Walf et Frye, 2007): celle-ci est visible chez les rats Sham (Figure 3A et 3B du manuscrit de la thèse). Cependant, ces effets de la répétition du test sur les performances des animaux pourraient être peu importants lorsqu'on change la salle de test (Walf et Frye, 2007) ou quand un délai minimal de trois semaines entre les deux mesures est respecté (Hogg, 1996;

5. Discussion générale

Ravenelle et coll., 2014), : ce qui est notre cas avec un délai d'environ d'un mois et demi entre les deux tests.

Ainsi, on ne peut exclure que ces modifications du temps d'exploration dans les bras fermés et la zone centrale du labyrinthe chez le rats ReRh pourraient être le résultat d'une interaction de plusieurs facteurs comme la lésion et/ou la répétition du test.

Enfin, il faut noter que dans la littérature, très peu de données existent sur l'implication de ces noyaux thalamiques dans l'anxiété. De plus, au vu de la connectivité des noyaux de la ligne médiane thalamique avec les régions du système limbique impliquées dans les processus émotionnels et l'anxiété, principalement les structures limbiques corticales, telles que le mPFC et l'hip, mais aussi l'amygdale pour le noyau rhomboïde (Rh), donc, l'implication des noyaux ReRh dans ce type de processus n'est pas exclue (Vertes, 2006; rev. Vertes et coll., 2015).

Pour l'instant, nos données obtenues concernant l'anxiété n'ont pas indiqué une influence majeur de la lésion des noyaux ReRh sur celle-ci évaluée au labyrinthe en croix qui ne pourrait altérer la performance de nos animaux lors de test da la piscine de Morris.

Activité locomotrice En ce qui concerne l'activité locomotrice spontanée évaluée en cage d'élevage standard, les résultats obtenus pendant la première évaluation montrent que la lésion ReRh chez des rats placés en élevage standard n'a pas une influence sur l'activité locomotrice pendant les trois premières heures du test (phase d'habituation) ni pendant la phase diurne, alors que pendant la phase nocturne, cette lésion a provoqué une hyperactivité locomotrice globale modérée, en particulier au début et à la fin de la nuit, en comparaison aux rats sham. A la sortie des 40j de milieu enrichi ou standard, des résultats similaires ont été obtenus pour la phase d'habituation et la phase diurne, à savoir, l'absence d'un effet de la lésion ReRh, mais l'hyperactivité nocturne généralisée n'a plus été observée chez les rats lésés enrichis sauf à 20h. Ainsi, nos résultats sont en accord avec Loureiro et coll. (2012) dans des conditions similaires, ainsi qu'avec ceux de Prasad et coll. (2013) qui ont évalué l'activité locomotrice sur une période de 2h chez des rats lésés ReRh : ces données soulignent une absence de modification de l'activité locomotrice chez des rats porteurs d'une lésion des noyaux ReRh. Dans notre étude, l'apparition d'un effet modéré de la lésion sur l'activité nocturne, uniquement lors du premier test peut s'expliquer par un effet du délai post-opératoire (2 semaines vs 8 semaines), de même Loureiro et coll. (2012) ont évalué l'activité locomotrice à un délai plutôt de 7 semaines et n'ont pas noté de modification de celle-ci par la

5. Discussion générale

lésion. Par ailleurs, l'activité locomotrice globale mesurée dans une autre tâche (le labyrinthe en croix surélevé) n'a montré aucun effet de la lésion ReRh aux deux délais post-opératoires.

Ainsi, évaluée par plusieurs tests et à différentes périodes du cycle jour/nuit, la lésion des noyaux ReRh n'impacte pas ou peu l'activité locomotrice. Celle-ci ne peut donc pas biaiser notre interprétation des performances des rats lors du test de rappel d'une mémoire ancienne et contribuer aux performances dégradées de rats lésés standard.

5.2. Effets du milieu enrichi sur la mémoire, l'anxiété et la locomotion chez un sujet intact

Loin de l'impact de la lésion des noyaux ReRh sur les différentes mesures comportementales; dans ce paragraphe, nous discutons l'effet du milieu enrichi sur la performance de nos animaux Sham pendant l'acquisition et le rappel d'une mémoire spatiale ancienne en piscine de Morris, puis, sur l'anxiété et la locomotion. L'interaction de la lésion avec le milieu enrichi sera abordée dans la prochaine section.

Apprentissage et mémoire spatiale Nos résultats dans la piscine de Morris ont montré que l'élevage dans un milieu enrichi pendant 40 jours n'a aucune influence sur la performance des rats pendant l'apprentissage et le rappel d'une mémoire spatiale ancienne (25j) par rapport à celle des rats Sham placés en condition standard. Il en est de même pour les autres paramètres non mnésiques, tels que la vitesse et la thigmotaxie. Ainsi, nos résultats diffèrent de ceux obtenus dans une partie de la littérature qui ont montré que l'élevage en milieu enrichi améliorait les performances de mémoire dans divers tests (rev. Van Praag et coll. 2000) et notamment dans la piscine de Morris pour évaluer l'apprentissage et la mémoire spatiale de référence chez des animaux intacts enrichis (Schrijver et coll., 2002; Bonaccorsi et coll., 2013; Leggio et coll., 2005; Kempermann et coll., 1997). Par exemple, Leggio et coll. (2005) ont montré que des rats élevés pendant 2 mois en milieu enrichi débutant après le sevrage, avaient une stratégie de navigation plus directe pendant l'acquisition en comparaison à celle des rats témoins. De même, Schrijver et coll. (2002) montrent une amélioration des performances d'acquisition aux jours 3, 4 et 5 d'un apprentissage de 6 jours en piscine de Morris chez des rats de 3 mois élevés en condition enrichie depuis l'âge de 21 jours. Bonaccorsi et coll. (2013) et Kempermann et coll. (1997) montrent également une amélioration transitoire des performances d'acquisition en mémoire spatiale chez des souris jeune adultes après 40-42 jours en milieu enrichi. Il est à noter que dans ces études, les effets

5. Discussion générale

observés restent modestes et concernent l'acquisition plutôt que le rappel des informations spatiales. Cependant, pour d'autres auteurs, un tel effet bénéfique n'a pas été souligné. Ainsi, Saucier et collaborateurs (2008) n'ont pas retrouvé, chez des rats mâles et femelles, un effet bénéfique du milieu enrichi (50j) sur l'acquisition en piscine de Morris. Harati et coll. (2013) ont également montré que chez des rates femelles, 2 mois d'enrichissement débutant à l'âge de 1 mois ne modifie pas les performances d'acquisition, ni de rappel à 24h en piscine de Morris. Dans cette dernière étude qui s'intéressait à l'effet du milieu enrichi sur le vieillissement, un effet bénéfique sur l'acquisition en piscine de Morris a cependant été observé chez des rates âgées de 13 et 25 mois après une longue période d'enrichissement (12 mois et 24 mois, respectivement) avec une distance parcourue pour atteindre la plateforme cachée plus courte que celle chez des rates en condition standards et une amélioration des performances de rappel à 24h des rates âgées de 25 mois.

En ce qui concerne la mémoire spatiale évaluée à des délais long (mémoire ancienne), peu de données sont disponibles qui sembleraient être en contradiction (Harati et coll., 2013; Bonaccorsi et coll., 2013) Ainsi, dans une étude récente effectuée chez les souris, Bonaccorsi et ses collaborateurs (2013) ont étudié l'effet du milieu enrichi sur le recrutement des neurones exprimant la protéine Fos pendant le rappel d'une mémoire spatiale en piscine de Morris à différents délais (1j, 10j, 20j, 30j ou 50j post-acquisition) : aucune différence dans la performance de rappel n'a été montrée entre les groupes enrichis et standards, même lorsque la capacité mnésique s'est dégradée à partir du 30^e jour. Harati et collaborateurs (2013) ont abordé l'influence de l'enrichissement sur le vieillissement cognitif et ont montré que chez les rates de 3 mois (2 mois d'élevage en condition enrichie) ainsi que chez celles de 13 mois (12 mois d'élevage en milieu enrichi), les performances de mémoire spatiale ancienne jusqu'à 25j après l'acquisition sont préservées, ce qui n'est pas le cas chez les rates élevées en condition standard. Par contre, cet effet n'a pas été observé chez des rates âgées de 25 mois malgré un élevage en condition enrichie pendant presque toute leur vie, probablement en raison de la dégradation trop importante des performances avec l'âge ne permettant pas une récupération fonctionnelle. Finalement, Leger et coll. (2012) dans une tâche d'évitement passif chez la souris adulte montre un effet bénéfique de 3 semaines d'enrichissement du milieu sur les performances d'acquisition et de rappel à 24h, par contre cet effet a disparu lorsque le rappel a eu lieu avec un délai de 8 semaines post-acquisition.

L'étude de Harati et coll. (2013) est particulièrement intéressante pour tenter de comprendre les effets contradictoires observés dans la littérature, en mémoire récente ou ancienne. En

5. Discussion générale

effet, cette dernière étude montre un effet bénéfique du milieu enrichi sur la mémoire spatiale ancienne notamment chez les animaux âgés de 3 et 13 mois où leurs congénères en élevage standard présentent des performances dégradées indépendamment de l'âge. Dans le cas où les performances sont très bonnes comme dans notre étude : le groupe des rats Sham standard a présenté une très bonne performance d'acquisition et lors du rappel d'une mémoire ancienne à 25j, ce qui probablement ne permettait pas de distinguer une possible différence, s'il elle existe, avec le groupe enrichi, en raison d'un effet « plafond » qui semble d'autant plus plausible que dans la littérature concernant les effets du milieu enrichi sur des animaux intact, les améliorations restent très modestes, au contraire de l'impact d'un tel milieu sur des animaux déficitaires (voir paragraphe plus loin sur l'impact du milieu enrichi sur les animaux avec lésion). Une approche intéressante serait donc de tester nos animaux avec un protocole de mémoire spatiale plus léger (diminution du nombre de jours d'acquisition par exemple), conduisant à des performances de rappel dégradées dans les groupes standards.

Ainsi, ces études semblent montrer que l'effet bénéfique dû à l'élevage en milieu enrichi sur la formation et le rappel d'une mémoire est plutôt modeste. Cet effet pourrait dépendre au moins en partie du type de protocole et donc de la force de la trace mnésique, permettant ou non de montrer des effets bénéfiques d'un élevage en milieu enrichi chez l'animal intact. A ma connaissance, il n'y a aucune évidence dans la littérature d'un effet du milieu enrichi conduisant à une amélioration d'une mémoire spatiale à long terme lorsque les animaux élevés en condition standard présentent des performances de rappel excellentes, en particulier dans la tâche de la piscine de Morris.

Anxiété En accord avec des données obtenues dans la littérature (Hellemans et coll., 2004; Baldini et coll., 2013; Galani et coll., 2007; Peña et coll., 2006; Harati et coll., 2013), notre protocole du milieu enrichi a induit chez des rats Sham, un effet anxiolytique évalué dans le labyrinthe en croix surélevé qui s'est traduit par une augmentation significative du temps passé et du nombre d'entrées dans les bras ouverts, et une diminution du temps passé et du nombre d'entrées dans les bras fermés, en comparaison avec les rats Sham placés en condition d'élevage standard (Figure 3 du manuscrit). Cette différence observée entre le groupe enrichi et le groupe standard n'était pas liée à une modification dans l'activité générale; car, il n'avait aucune différence dans le nombre total d'entrées dans tous les bras du labyrinthe entre ces deux groupes. Cet effet peut être expliqué par le fait que les rats enrichis sont plus habitués à l'exploration que les rats élevés en condition standard, et présenteraient de

meilleures capacités d'adaptation/habitude face à des situations stressantes et/ou nouvelles (revues, Crofton et coll., 2014; Fox et coll., 2006).

Activité locomotrice Nos résultats pour l'activité locomotrice chez les rats sham ont également montré un effet bénéfique du milieu enrichi sur la capacité d'adaptation à un nouvel environnement qui a été révélée par une diminution rapide de l'activité locomotrice lors de la première et la deuxième heure de la phase d'habituation au test. Cet effet est en accord avec de nombreuses études utilisant différentes mesures comportementales (Brenes et coll., 2008, 2009; Hoffmann et coll., 2009; Varty et coll., 2000; Hall et coll., 2000; Hellemans et coll., 2004). Cet effet est expliqué par le fait que les rats enrichi sont plus habitués (adaptables) à explorer de nouveaux environnements.

5.3. Récupération fonctionnelle de processus mnésiques et non mnésiques par le milieu enrichi

Mémoire spatiale ancienne Nous avons montré que la lésion ReRh a altéré la performance de nos rats au moment du rappel d'une mémoire spatiale ancienne (25j), évaluée en piscine de Morris, par rapport la performance des rats Sham en même condition d'élevage standard, confortant les données du laboratoire (Loureiro et coll., 2012). Dans nos expériences, 40j d'élevage en milieu enrichi post-lésion ont permis une récupération de cette capacité mnésique altérée chez les animaux ReRh en condition standard. Ainsi, le pourcentage du temps passé dans le quadrant cible chez le groupe lésé en condition enrichie n'a montré aucune différence avec celui des groupes Sham (standard et enrichi), et ces trois groupes expérimentaux ont tous présenté un pourcentage du temps passé dans le quadrant cible significativement supérieur à celui du groupe ReRh standard. Ce qui indique alors un effet bénéfique du milieu enrichi sur la capacité de rappeler, à long terme, la localisation de la plateforme cachée, malgré la présence de lésion des noyaux ReRh. Dans des modèles lésionnels chez les rongeurs, un tel effet bénéfique du milieu enrichi a été très peu montré dans la littérature, en particulier pour le rappel d'une mémoire spatiale ancienne. Cependant, les effets de l'enrichissement du milieu sur la récupération des capacités mnésiques ont été démontrées pour divers types de mémoire (mémoire de travail vs mémoire à long terme; mémoire spatiale, conditionnement de peur, mémoire de reconnaissance d'objet...) dans de nombreux modèles lésionnel ou neurodégénératifs, en lien avec une amélioration de la

5. Discussion générale

plasticité cérébrale (rev. Hannan, 2014; van Praag et coll., 2000; Nithianantharajah et Hannan, 2006; Pang et Hannan, 2013). Ainsi, une récupération fonctionnelle à l'aide d'un milieu enrichi effectué après une lésion de l'hippocampe dorsal, subiculum ou de la fimbria-fornix a été largement montrée (ex. Fréchette et coll., 2009; Rijzingen, 1997; Bindu et coll., 2005; rev. Will et coll., 2004). Cependant, les effets bénéfiques du milieu enrichi après de telles lésions étaient moins constatés en utilisant la piscine de Morris comme une mesure pour évaluer la mémoire par rapport à d'autres tests comme le labyrinthe radial ou l'alternance spontanée (rev. Dalrymple-Alford et coll., 2015). De même, dans des modèles diencéphaliques après lésion des noyaux antérieurs du thalamus, des effets sur la récupération fonctionnelle après élevage en milieu enrichi ont également été constatés pour la mémoire de travail (ex. Loukavenko, et coll., 2007; 2015 ; Harland et coll., 2014), la flexibilité de l'utilisation des représentations spatiales (ex. Wolff et coll., 2008a) et le conditionnement de la peur contextuelle (Dupire et coll., 2013; rev. Dalrymple-Alford et coll., 2015). Enfin, très peu d'études se sont intéressées à la mémoire ancienne, consolidée au niveau des systèmes. Fischer et coll. (2007) montrent dans un modèle neurodégénératif de souris transgénique CK-p25, une récupération des capacités de mémoire de peur au contexte testée 14 semaines après l'acquisition avec 4 semaines d'enrichissement du milieu se produisant après la phase d'acquisition entre la 10^e et la 14^e semaine. Ces auteurs montrent que la récupération fonctionnelle chez ces souris est corrélée à des modifications de la chromatines (augmentation de l'acétylation des histones).

D'un point de vue comportemental, la récupération du déficit du rappel d'une mémoire spatiale ancienne observée chez nos animaux ReRh placés en condition enrichie ne s'explique pas par une modification de paramètres non-mnésiques responsables de la mauvaise performance des rats pendant le test de rappel, comme par exemple, des aspects sensori-moteurs et/ou motivationnels, évalués avec notamment avec la thigmotaxie et la vitesse de nage au cours du test de rappel : ceux-ci étaient identiques chez tous les groupes. D'autres études ont cependant proposé que l'effet bénéfique du milieu enrichi pourrait être attribué à une compensation comportementale adaptative dans certains modèles des lésions cérébrales induisant des troubles sensori-motrices très importantes (revues: Nudo, 2013; Alwis et Rajan, 2014), ce qui n'est pas notre cas avec la lésion ReRh qui n'impacte aucun de ces facteurs chez les rats ReRh standard (notre étude, Loureiro et coll., 2012, Cholvin et coll., 2013). Enfin, l'idée d'une compensation comportementale reflétant une flexibilité cognitive due à l'enrichissement ne peut pas être écartée; en effet, **l'activité locomotrice** évaluée avec le test

5. Discussion générale

d'actographie indique une habitude plus rapide des rats lésés enrichis par rapport aux rats lésés standard; un comportement qui pourrait révéler un traitement rapide et plus efficace de l'information contextuelle (Barbelivien et coll., 2006) chez nos rats ReRh enrichis. Cette capacité adaptative pour un traitement rapide des informations spatiales pourrait résulter en une consolidation rapide ou plus précoce au niveau des systèmes engageant d'autres structures cérébrales. Soutenant cette hypothèse, Schrijver et collaborateurs (2002) ont rapporté un effet bénéfique du milieu enrichi sur l'accélération de transfert des informations spatiales acquises en piscine de Morris d'une mémoire à court terme vers une mémoire à long terme, corrélé à une accélération de l'habitude mise en évidence par la diminution de l'exploration et de l'activité locomotrice dans un test de champ ouvert.

Par ailleurs, dans notre étude, l'amélioration des performances de rappel des rats lésés en condition enrichie n'est pas en lien avec une amélioration des capacités au cours de l'acquisition qui n'a pas été constatée. De plus, le déficit de mémoire chez les rat ReRh standard n'était pas associé à un déficit d'apprentissage comme l'avait montré également Loureiro et coll. (2012). De même, cette lésion n'a pas d'impact sur le rappel d'une mémoire récente (Loureiro et coll., 2012). Or, plusieurs études ont montré qu'une telle amélioration des performances d'acquisition par le milieu enrichi n'induit pas forcément une amélioration des performances de rappel ancien dans la piscine de Morris chez des rats âgés ayant un déficit du rappel ancien (Harati et coll., 2013) ou chez des souris intactes lorsque le rappel spatial se dégrade à partir de 30^{ème} jour post-acquisition (Bonaccorsi et coll., 2013). Ainsi, dans notre étude, cette amélioration de performance de rappel après lésion pourrait être le reflet d'une récupération fonctionnelle impliquant la réémergence de fonctions neuronales, plutôt qu'une compensation comportementale.

Par ailleurs, les résultats du test du **labyrinthe en croix surélevé** ont également indiqué un effet anxiolytique dans les deux groupes enrichis sham et ReRh. La corrélation entre le niveau d'anxiété et la mémoire spatiale évaluée en piscine de Morris a été soulignée dans certaines études (revue: Conrad, 2010). Par exemple, Herrero et coll. (2006) ont montré que les rats ayant des niveaux soit élevés ou faibles de l'anxiété montrent des performances différentes dans l'acquisition et la récupération de l'information spatiale en piscine de Morris : les rats faiblement anxieux étaient plus performants. De plus, la mémoire spatiale de référence semble plus affectée que la mémoire spatiale de travail à des niveaux élevés d'anxiété et pourrait être amélioré avec des niveaux diminués par le milieu enrichi (Hutchinson et coll., 2012; Sampedro-Piquero et coll., 2013). Cependant, dans notre étude, les données chez les rats sham

enrichis, présentant également une anxiété diminuée, ne montrent pas de modification de leur performance de rappel par rapport à leurs congénères élevés en milieu standard. Ainsi, il est peu probable que le niveau d'anxiété ait joué un rôle majeur dans les performances des rats ReRh enrichis : il en est de même chez les rats ReRh standard avec une lésion qui impacte peu ou pas l'anxiété mais empêche le rappel à 25 jours (Loureiro et coll., 2012, notre étude).

Mémoire, stress et milieu enrichi En considérant que le test de la piscine de Morris représente un test de nature aversive pouvant induire du stress chez l'animal, et que le stress peut avoir une influence sur les capacités mnésiques (Conrad, 2010), nous avons donc vérifié si le déficit du rappel d'un souvenir ancien chez les animaux standards ainsi que la récupération fonctionnelle chez les rats en condition enrichie pouvaient être en lien avec le niveau de stress. En effet, les effets anxiolytiques du milieu enrichi rendent l'axe HPA plus adaptable face à toute situation pouvant engendrer du stress après l'exposition au milieu enrichi (Hutchinson et coll., 2012; Crofton et coll., 2014; Fox et coll., 2006). À ce propos, l'évaluation du niveau du stress s'effectue en faisant des corrélations avec des mesures biologiques telles que la corticostérone plasmatique (rev. Fox et coll., 2006). En effet, cette hormone est connue pour son rôle rétroactif négatif sur l'axe HPA en lien avec le système limbique (revues: Herman et coll., 2005; Jankord et Herman, 2008). L'implication de cette hormone dans la mémoire a été rapportée, soit en tant facteur facilitateur (Yang et coll., 2013; McReynolds et coll., 2014), soit inhibiteur (De Quervain et coll., 1998) et ceci dans les différents processus mnésiques (acquisition, consolidation, rappel, rev. Sandi et Pinelo-Nava, 2007).

Dans ce travail de thèse, nous avons évalué le niveau de la corticostérone soit à l'issue du test de rappel d'une mémoire ancienne (90 min), soit chez des rats restés dans leur cage d'élevage (niveau basal) pour évaluer leur état d'anxiété et/ou de stress. Les résultats n'ont pas mis en évidence de différences entre les groupes étudiés, et ceci en condition basale et en réponse au test du rappel spatial ancien en piscine de Morris (qui pourrait refléter la réactivité à une situation stressante). Par contre, les taux de corticostérone sont augmentés dans tous les groupes en réponse au test de rappel, par rapport aux valeurs obtenues en conditions basales. Ces résultats suggèrent que la performance des rats standards et enrichis, sham ou lésés pendant le test de mémoire n'était pas corrélée à une modification du niveau du stress mesuré par la corticostérone, et n'impliquant pas non plus une modification des taux basaux. Cependant, nos résultats concernant l'évaluation de la corticostérone plasmatique sont à prendre avec précaution du fait du faible nombre de rats par groupe (n=3 ou 4).

D'un point de vue anatomo-fonctionnel, en considérant l'implication probable des noyaux ReRh dans le processus de la consolidation de la mémoire ancienne et pas dans le rappel ancien lui-même (Loureiro et coll., 2012; rev. Frankland et Bontempi, 2005 ; Cassel et coll., 2013), il est donc possible de proposer que l'effet bénéfique du milieu enrichi serait plutôt le résultat d'un 'réengagement fonctionnel' des structures impliquées principalement dans le processus de consolidation (mPFC, dHIP) impliquant un mécanisme de récupération et ou compensation qui mettrait en jeu une ou plusieurs structures alternatives. Un tel processus pourrait être favorisé par les nombreuses stimulations physiques et/ou sociales du milieu enrichi. Cette hypothèse est soutenue par les effets très bien décrits du milieu enrichi sur les modifications morphologiques, structurales et moléculaires associées dans certains cas avec des améliorations comportementales après lésions cérébrales (revues: Alwis et Rajan, 2014; Hannan, 2014). A titre exemple, dans des modèles lésionnels provoqués par les accidents vasculaires cérébrales (AVC), une augmentation de la synaptogenèse et de la croissance dendritique ont été notés après l'exposition à un EE, en lien avec l'amélioration dans l'apprentissage spatial chez le Rat (Briones et coll., 2006). Ainsi, il est possible aussi qu'une telle compensation qui se met en place après un élevage en milieu enrichi s'effectue par le renforcement de connexions restantes et adjacentes de la lésion et/ou le développement des nouvelles connexions pour compenser les pertes des connexions avec la lésion (ex: Kolb et Gibb, 2010; Taub et coll., 2002; Fischer et coll., 2007).

5.4. Imagerie fonctionnelle du gène précoce *c-fos*

Notre hypothèse la plus probable serait l'existence d'une compensation/récupération structurale ou fonctionnelle, chez les rats avec une lésion des noyaux ReRh et ayant bénéficié d'un élevage au milieu enrichi post-chirurgie, et qui sous-tendrait la récupération du rappel d'une mémoire spatiale à long terme. Nous avons ainsi évalué l'activité neuronale en utilisant l'imagerie du gène précoce c-Fos dans plusieurs régions cérébrales impliquées dans la formation d'une mémoire à long terme, en particulier, le mPFC et l'hippocampe dorsal. Nous avons également inclus les noyaux intralaminaires (ILN) du thalamus car leur lésion induit une altération du rappel et/ou de la consolidation d'un souvenir spatial ancien à 25j en piscine de Morris (Lopez et coll., 2009) tout en préservant les capacités d'apprentissage et de rappel d'une mémoire spatiale récente, comme après la lésion ReRh (notre étude, Loureiro et coll., 2012). Au vu des données comportementales en piscine de Morris, la lésion d'un de ces groupes de noyaux (ILN ou ReRh) n'est pas compensée par la présence de l'autre, ce qui suggère qu'ils sous-tendent des aspects différents des processus impliqués dans la persistance d'une mémoire ou son rappel. Si les noyaux ReRh ne semblent pas ou peu impliqués dans le rappel d'une mémoire spatiale, quel que soit son âge (Loureiro et coll., 2012), cette hypothèse n'a pas été testée avec les noyaux ILN. Cependant, si on considère i) que le rappel d'une mémoire ancienne implique fortement le mPFC, et en particulier le cortex cingulaire antérieur, ii) que les ILN sont très fortement connectés au mPFC (Van der Werf et coll., 2002 ; Vertes et coll., 2012), et iii) qu'en tant que noyaux non spécifique du thalamus, ils modulent fortement l'activité corticale, en particulier préfrontale (rev. Van der Werf et coll., 2002 ; Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2015), les ILN pourraient être particulièrement engagés lors du rappel d'une mémoire ancienne et non récente. Cependant cette hypothèse nécessite d'être vérifiée. L'estimation de l'expression de c-Fos a également été réalisée dans l'amygdale; une structure faisant partie du système limbique et impliquée dans la régulation des fonctions affectives comme l'anxiété, mais aussi dans la consolidation mnésique (revue: Roozendaal et coll., 2009). Son activité est modulée d'une part, par le milieu enrichi (ex: Sotnikov et coll., 2014), et d'autre part, par l'activité du mPFC (ex: Berretta et coll., 2005). Dans les prochains paragraphes, nous discutons l'implication de ces structures dans le rappel d'une mémoire spatiale ancienne et l'impact de la lésion et/ou du milieu enrichi sur l'activité neuronale en condition basale (ou *home cage*) et en condition mémoire.

5. Discussion générale

➤ **Modulation de l'activité neuronale en condition basale et après rappel d'une mémoire ancienne chez les rats en élevage standard (groupes Sham et ReRh)**

Concernant le profil d'activation neuronale évalué avec l'expression de c-Fos chez des rats en condition standard, nous avons montré que le déficit du rappel d'un souvenir ancien observé chez les rats lésés ReRh était accompagné par une diminution importante (30-50%) de l'activité neuronale dans l'ensemble du mPFC, plus particulièrement dans le cortex cingulaire antérieur et infralimbique, par rapport au groupe Sham standard. Par contre, le niveau d'expression basale de c-Fos dans ces régions n'est pas affecté par la lésion, sauf dans la partie rostrale du cortex cingulaire antérieur (Cg1) où l'expression de c-Fos est significativement diminuée. Dans l'hippocampe dorsal, l'activité neuronale basale comme l'activité après le rappel ancien n'était pas affectée par la lésion ReRh. Par ailleurs, dans les noyaux ILN, aucune influence de la lésion ReRh sur l'activité basale ou sur celle mesurée après le rappel d'un souvenir spatial à long terme n'a été révélée. Dans l'amygdale, l'expression de c-Fos en condition basale (HC) a montré une activation très élevée chez les rats lésés ReRh dans l'ensemble des noyaux amygdaliens, plus particulièrement, dans les noyaux BLA, par rapport aux rats Sham. Après le test de rappel, il apparaît que l'hyperactivité neuronale a persisté dans les noyaux amygdaliens chez les rats lésés par rapport aux rats Sham. Cependant, dans ce dernier groupe, le rappel d'une mémoire a induit très fortement l'expression de c-Fos par rapport au niveau basal, réduisant ainsi fortement les différences entre rats lésés et rats Sham.

À la lumière de ces résultats d'imagerie c-Fos et de nos données comportementales concernant le déficit du rappel d'un souvenir spatial chez les rats porteurs d'une lésion des noyaux ReRh, plusieurs points peuvent être soulignés. Tout d'abord, le profil d'activité neuronale de l'hippocampe et du mPFC chez les rats Sham, montrant une activité élevée dans ces 2 régions au moment du rappel d'une mémoire spatiale ancienne est en accord avec d'autres études pour montrer le recrutement fonctionnel du mPFC ainsi que de l'hippocampe au cours de rappel d'une mémoire spatiale à long terme, en particulier dans le cortex cingulaire antérieur (ex. Bonaccorsi et coll., 2013; Lopez et coll., 2012; Wartman et Holahan, 2013; Schlesiger et coll., 2013). Les impacts négatifs de la lésion ReRh, sur la performance comportementale associés à la diminution de l'activité c-Fos uniquement dans le mPFC, par rapport au groupe Sham, indiquent que l'activation du mPFC est essentielle pour le rappel d'une mémoire spatiale ancienne et que la lésion ReRh l'a empêché, comme montré précédemment par Frankland et coll. (2004) chez les souris CaMKII \pm ayant perdu la

5. Discussion générale

capacité de former une mémoire ancienne. Ainsi, il est possible que l'absence d'activation neuronale du mPFC au rappel soit le résultat d'un échec à consolider la trace mnésique spatiale au niveau des systèmes empêchant sa réorganisation et stabilisation au niveau cortical. Ceci est en accord avec le fait que les noyaux ReRh, grâce à leur position anatomique, jouent un rôle intermédiaire nécessaire au dialogue entre l'hippocampe et le cortex préfrontal médian permettant le transfert des informations initialement localisées au sein de l'hippocampe vers des sites néocorticaux (Frankland et Bontempi, 2005; Cassel et coll., 2013; Loureiro et coll., 2012). Pour l'instant, les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant un tel échec sous l'effet de la lésion ReRh au sein d'un circuit hippocampo-cortico-thalamique (ReRh), restent inconnus. Des données préliminaires obtenues récemment au laboratoire ont montré que la densité des épines dendritiques de type mature est diminuée dans le cortex cingulaire antérieur des rats ReRh (Master 2 de MM Klein, 2015), ce qui démontrerait un défaut de la mise en place de la plasticité corticale qui accompagne la consolidation d'une mémoire au niveau des systèmes (Restivo et coll., 2009; Lesburguères et al., 2011) ainsi que l'ont montré Frankland et coll. (2004) chez les souris CAMKII+/- chez lesquelles l'absence de rappel en mémoire ancienne s'accompagne d'une absence d'augmentation de l'expression de zif268 ainsi que de celle du marqueur de synaptogenèse, la protéine GAP-43. Pour ces auteurs, ceci est une indication que la mutation empêche la réorganisation corticale nécessaire à la consolidation du souvenir.

Dans notre étude, nous nous sommes aussi intéressés à l'expression de c-Fos dans les noyaux ILN du thalamus du fait de leurs similitudes avec les noyaux de la ligne médiane ventrale du thalamus. Nos résultats montrent que l'expression de c-Fos dans les ILN n'est pas affectée par la lésion ReRh à la fois en condition basale et en condition du rappel ancien.

Un rôle possible de l'amygdale ?

Enfin, l'activité neuronale dans l'amygdale a montré un profil unique avec une hyperactivité basale majeure dans l'ensemble de noyaux amygdaliens chez les rats porteurs d'une lésion ReRh, notamment dans les noyaux (BLA) et (CE). Cette activité élevée n'est pas associée à une modification de l'état émotionnel/anxieux (résultats du labyrinthe en croix surélevé) ou à une altération du niveau du stress en condition basale (taux de corticostérone plasmatique en basal) chez les rats lésés. De même, au cours des sessions d'apprentissage et de rappel, il n'y avait aucune évidence d'une altération des performances issue d'un trouble d'ordre anxieux (résultats de thigmotaxie) ou d'un niveau de stress perturbé (taux de corticostérone

5. Discussion générale

plasmatique après le rappel) chez les rats lésés. Ainsi, on peut émettre l'hypothèse que cette activité élevée de l'amygdale en condition basale chez les rats ReRh par rapport aux rats Sham, serait le résultat d'un dysfonctionnement lié directement ou indirectement à la lésion et qui a eu pour conséquence d'altérer le bon fonctionnement de l'hippocampe et/ou du mPFC nécessaires à la consolidation d'une mémoire spatiale. La Figure 35 illustre schématiquement les principales connexions entre nos structures d'intérêt soit l'hippocampe, le mPFC, les noyaux ReRh et l'amygdale.

A la lumière des données issues de la neuroanatomie, les noyaux ReRh ont des efférences excitatrices denses vers le mPFC (Vertes et coll., 2006 ; Hoover et Vertes 2007 ; Zhang et Bertram, 2002): la lésion de ces noyaux thalamiques a pu provoquer un hypofonctionnement du mPFC comme dans le cortex cingulaire antérieur rostral (résultat de c-Fos basal). Or, le mPFC contrôle et module l'activité de nombreuses régions corticales et sous-corticales (rev. Miyashita, 2004), y compris l'amygdale (BLA) grâce à ses projections denses excitatrices mais également inhibitrices vers les noyaux amygdaliens (Rosenkranz et Grace, 1999; Sah et coll., 2003; Hoover et Vertes, 2007; Berretta et coll., 2005; Jones et coll., 2011; voir Figure 35). Ainsi, une altération de l'activité de mPFC pourrait altérer l'activité de l'amygdale. Une autre possibilité d'altération de l'activité fonctionnelle des noyaux amygdaliens provient de la connectivité directe des noyaux ReRh avec l'amygdale (Vertes, 2006); en fait, le noyau rhomboïde (Rh) projette directement vers le noyau BLA de l'amygdale, et le noyau reuniens (Re) reçoit des afférences du noyau basomédian amygdalien (BMA). Ainsi, suite à la lésion ReRh, un dysfonctionnement de l'amygdale a pu être initié soit directement, soit indirectement via le mPFC. L'hyperactivité de l'amygdale pourrait être, au moins en partie, responsable du défaut de consolidation au niveau des systèmes d'une mémoire suite à la lésion ReRh. En effet, en altérant l'activité de l'Hip et/ou du mPFC, elle a pu empêcher la consolidation systémique au niveau cortical. De plus, l'amygdale et notamment le BLA, module l'activité hippocampique et les processus mnésiques dépendant de l'hippocampe ; ceux-ci sont notamment altérés par une activité excessive de l'amygdale (rev. Bergado et coll., 2011; Fa et coll., 2014). De plus, nous ne pouvons exclure un rôle de l'amygdale dans la consolidation synaptique au niveau cortical, mais probablement pas dans l'hippocampe car la mémoire récente est intacte chez les rats ReRh (Loureiro et coll., 2012). Concernant la consolidation synaptique, un certain nombre de données dans la littérature ont clairement montré le rôle de l'amygdale, en particulier des noyaux (BLA), dans 'la modulation' de la consolidation d'une mémoire à long terme. Ceci a été démontré dans la piscine de Morris (Packard et coll., 1994) ainsi que dans d'autres tâches de type aversif comme l'évitement

5. Discussion générale

passif (McGaugh, 2002, 2004, 2013; McReynolds et coll., 2014; revue: Paré, 2003), mais aussi dans des tâches spatiales non basées sur une motivation émotionnelle comme la reconnaissance d'objet (Leger et coll., 2012; Roozendaal et coll., 2008). Notamment, l'administration des facteurs inhibiteurs ou excitateurs dans les noyaux BLA après l'apprentissage, diminue ou facilite, respectivement la consolidation de la mémoire à long terme en modifiant la plasticité synaptique dans les régions cérébrales impliquées dans la formation et le stockage de la mémoire (rev. Paré, 2003). Par exemple, McIntyre et collaborateurs (2005) ont rapporté que l'activation des noyaux (BLA) avec l'instillation post-acquisition d'un agoniste des récepteurs beta-adrénergiques a facilité la consolidation de la mémoire à long terme dans la tâche d'évitement passif, et augmenté l'expression de la protéine régulant le cytosquelette cellulaire (Arc) dans l'hippocampe, un marqueur de la plasticité neuronale impliqué dans la consolidation (ex. Guzowski et coll., 2001; Braham et coll., 2010). De plus, l'inactivation post-acquisition du noyau BLA avec la lidocaïne a altéré la consolidation de la mémoire et diminué l'expression de la protéine Arc dans l'hippocampe (McIntyre et coll., 2005). Des résultats similaires ont été obtenus par McReynolds et coll. (2014) confirmant le rôle inhibiteur ou facilitateur des noyaux (BLA) dans la consolidation d'une mémoire à long terme et leur rôle sur l'expression de la protéine Arc dans le mPFC. Enfin, Holloway-Erickson et coll. (2012) ont également montré que l'activation des noyaux BLA a amélioré la consolidation mnésique impliquant les deux marqueurs de plasticité synaptique, Arc et CaMKII α , plus spécifiquement dans le cortex cingulaire antérieur rostral. Ainsi, l'influence modulatrice de l'amygdale sur la consolidation d'une mémoire à long terme n'est pas restreinte à une modification de la plasticité neuronale dans l'hippocampe, mais elle comprend également le mPFC.

Ainsi, l'hyperactivité des noyaux amygdaliens induite par la lésion ReRh pourrait être à l'origine d'une altération dans la plasticité neuronale indispensable pour la consolidation de toute nouvelle expérience et nécessitant l'intégrité du mPFC, en particulier du cortex cingulaire antérieur rostral, dont il a été montré sa sensibilité à l'état fonctionnel de l'amygdale (ex: Holloway-Erickson et coll., 2012). On discutera dans le prochain paragraphe des hypothèses sur les effets du milieu enrichi qui permettent chez les rats lésés, une restauration de la persistance d'une mémoire, et ceci en lien avec l'activité neuronale dans nos régions d'intérêt.

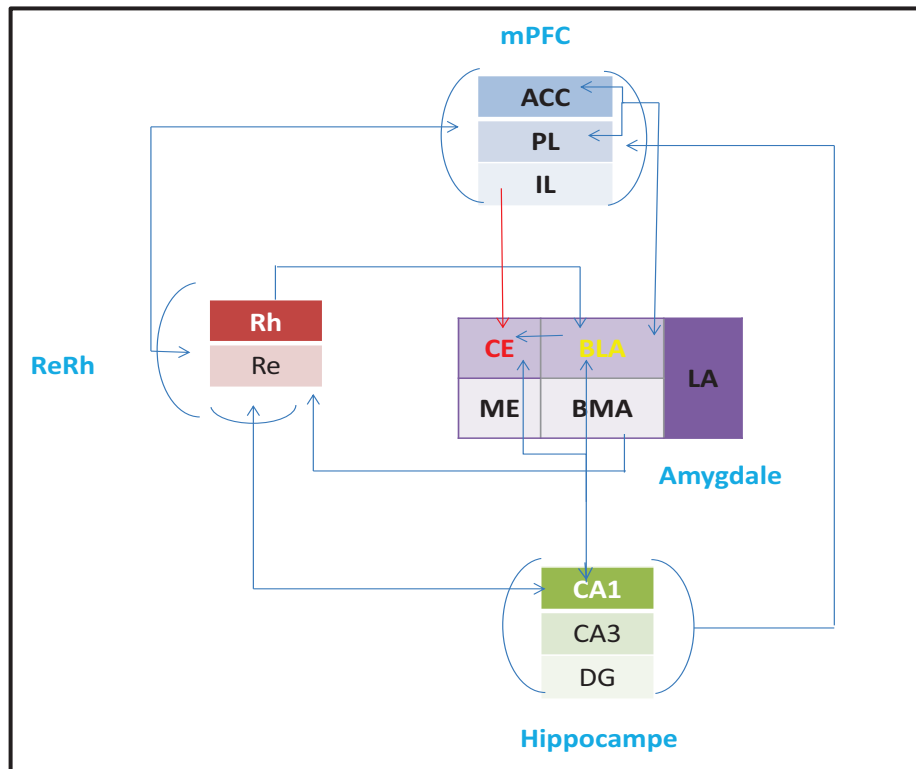


Figure 35 Illustration schématique des connexions principales entre l'hippocampe, le cortex préfrontal médian, les noyaux ReRh du thalamus et l'amygdale. Cette illustration est basée sur plusieurs données anatomo-fonctionnelles : Vertes, 2006; Pitkänen et coll., 2000 ; Rosenkranz et Grace, 1999; Sah et coll., 2003; Hoover et Vertes, 2007 ; Zhang et Bertram, 2002; Cassel et coll., 2013. Abréviations : mPFC : cortex préfrontal médian, ReRh : noyaux reuniens et rhomboïde du thalamus, ACC : cortex cingulaire antérieur, PL : cortex prélimbique, IL : cortex infralimbique, CA/ corne d'Ammon hippocampique, DG : gyrus denté. Dans l'amygdale; BLA : noyau baso-latérale, BMA : noyau baso-médian, ME noyau médian, CE : noyau central, LA : noyau latéral. Flèche bleue : projection efférente excitatrice, Flèche rouge : projection efférente inhibitrice, Flèche à deux pointes : connexion réciproque.

➤ Modulation de l'activité neuronale après rappel d'une mémoire ancienne en condition d'élevage enrichie (Sham et ReRh)

Condition basale

Nos résultats d'imagerie de la protéine c-Fos dans l'hippocampe dorsal n'ont pas montré un impact du milieu enrichi sur l'activité basale, que ce soit chez les rats Sham ou lésés. Cette absence d'effet du milieu enrichi chez des animaux est en accord avec certaines études (Bonaccorsi et coll., 2013; Puurunen, 2001) et confortent l'idée que le milieu enrichi ne produit pas d'effet sur l'activité neuronale hippocampique basale, notamment dans le gyrus

5. Discussion générale

denté, sans être associé à une nouvelle expérience d'apprentissage qui peut alors éventuellement révéler un effet bénéfique, (ex: Puurunen, 2001; Tashiro et coll., 2007).

Dans le mPFC, le milieu enrichi augmente l'activité basale dans le cortex cingulaire antérieur (CC) dans les 2 groupes Sham et lésés : cette augmentation chez les rats lésés étant significative uniquement dans la sous-région Cg1 rostrale, seule région dans laquelle la lésion a induit une baisse significative de l'activité chez les rats lésés standard. Dans le cortex prélimbique, l'EE a un effet uniquement chez les rats lésés, alors que l'activité du cortex infralimbique n'est pas modifiée par l'EE, quel que soit le groupe.

Dans l'amygdale, alors que l'activité neuronale basale n'est pas affectée par l'EE chez les rats Sham, celle-ci est diminuée de manière évidente chez les rats lésés. Cette baisse compense partiellement l'hyperactivité majeure observée en réponse à la lésion observée chez les rats standards ReRh-ES. Enfin, dans les noyaux ILN du thalamus, l'expression de c-Fos n'est pas modifiée par l'EE, et ceci dans les 2 groupes de rats.

Ainsi, l'EE n'a pas ou peu d'influence sur l'activité basale de l'hippocampe, de mPFC ou des ILN. Par contre, il permet de récupérer en partie l'activité de l'amygdale très fortement affectée par la lésion. Le rôle possible de cette baisse de l'hyperactivité de l'amygdale après milieu enrichi dans la récupération des capacités de mémoire chez nos rats ReRh-EE nécessite des études complémentaires. Cependant, cette atténuation de l'hyperactivité de l'amygdale en condition basale par le milieu enrichi chez les rats lésés pourrait avoir permis la récupération, au moins partiellement des processus nécessaires à la consolidation d'une mémoire spatiale.

Condition mémoire

Dans l'hippocampe dorsal, le rappel d'une mémoire ancienne est associée à une augmentation évidente de c-Fos dans (CA1) dans les deux groupes enrichis Sham et ReRh, et dans le DG seulement dans le groupe lésé enrichi. Chez les rats Sham, ce gain en activité n'est pas associé à une modification des performances de rappel et pourrait être le reflet de modifications anatomo-fonctionnelles liée à l'EE lors de la navigation et du traitement des informations au moment du rappel. Chez les rats lésés, l'augmentation de l'activité dans CA1 et peut-être principalement dans le DG, associée à une amélioration des performances dans la piscine, pourrait être en lien avec des modifications de la plasticité neuronale, et notamment l'augmentation de la neurogenèse hippocampique mise en évidence après un EE (ex. Kempermann et coll., 1997; rev. Nithianantharajah and Hannan, 2006).

Dans le mPFC, l'expression de c-Fos dans les trois sous-régions (CC, PL, IL) est augmentée de manière importante au rappel d'une mémoire, à la fois chez les rats Sham et enrichis.

5. Discussion générale

Ainsi, l'hypoactivité observée chez les rats ReRh standard a été non seulement complètement contrebalancée par l'influence du milieu enrichi mais l'activité dans cette région atteint un niveau similaire à celui observé dans le groupe Sham enrichi. Ces résultats sont à mettre en lien avec la récupération fonctionnelle du rappel d'une mémoire spatiale ancienne, et la nécessité du recrutement de neurones mis en évidence par l'expression de gènes précoces (c-Fos, zif268) dans le mPFC au moment du rappel d'une mémoire ancienne (ex. Bonaccorsi et coll., 2013; Lopez et coll., 2012; Wartman et Holahan, 2013). Bonaccorsi et ses collaborateurs ont montré chez la souris intacte que le nombre de cellules Fos positives dans le cortex cingulaire antérieur augmente progressivement avec l'âge de la mémoire spatiale mesurée en piscine de Morris (c.a.d. Rappel à 1, 10, 20, 30 et 50 jours post-acquisition). De plus, ces mêmes auteurs montrent que le délai à partir duquel le mPFC est engagé est avancé (10 j au lieu de 20 jours) chez les animaux ayant subi à un élevage au milieu enrichi et d'autres structures comme le cortex entorhinal médian et le cortex associatif pariétal postérieur présentent également une hyperactivité, ce qui n'est pas le cas chez les souris élevées en condition standard. Enfin, de manière similaire à notre résultat chez les rats Sham enrichis, ces modifications d'activité neuronale chez des souris intactes ne sont pas associées à une amélioration des performances de rappel et, l'EE n'empêche pas la dégradation de celui-ci lorsque le délai post-acquisition augmente (30 et 50 jours, Bonaccorsi et coll., 2013). Ainsi dans notre étude, la récupération des capacités de mémoire chez les rats lésés enrichis pourraient être en relation avec un effet direct du milieu enrichi sur la plasticité neuronale mettant en jeu notamment une plasticité hippocampique et/ou corticale (mPFC) qui a été très largement démontrée (rev. Mohammed et coll., 2002). De plus, l'implication possible d'autres structures (ex. amygdale ou cortex entorhinal) permettant la récupération des capacités mnésiques chez nos rats ReRh enrichis devra être vérifiée.

Dans les noyaux ILN du thalamus, aucune modification significative de l'activité neuronale n'a été observée à la fois chez les rats Sham et lésés en réponse au milieu enrichi. Ces noyaux ne semblent donc pas participer aux effets bénéfiques du milieu enrichi chez les rats lésés.

En ce qui concerne l'amygdale chez les rats enrichis, l'expression de la protéine Fos chez les rats ReRh enrichis après le test de rappel a montré une diminution significative avec un niveau d'expression comparable à celui du groupe Sham. Comme pour les modifications de l'activité de l'amygdale en présence de la lésion ReRh en condition basale et mémoire chez les rats standard, les modifications d'activité de cette structure en réponse au milieu enrichi chez les rats lésés ne sont pas associées à un effet de type anxiolytique. Cependant, l'existence d'un lien possible entre la normalisation d'activité cellulaire dans l'amygdale avec la

5. Discussion générale

récupération des capacités de mémoire chez les rats lésés enrichis devra être démontré; de même que le lien possible avec la récupération de l'activité du mPFC au rappel de cette mémoire. Comme discuté dans le précédent paragraphe, l'amygdale joue un rôle modulateur dans la consolidation de la mémoire (ex: McIntyre et coll., 2005; McReynolds et coll., 2014) qui met en jeu des phénomènes de plasticité neuronale. Enfin, on peut se demander si la normalisation de l'activité de l'amygdale chez les rats ReRh enrichis est la cause ou la conséquence de la récupération de la mémoire ancienne et du retour à la normale de l'activité neuronale du mPFC.

6. Conclusions et perspectives

Ainsi, dans un modèle de lésion thalamique chez le Rat, nos résultats obtenus à ce jour ont permis de mettre en évidence les effets bénéfiques de l'environnement enrichi sur la restauration des capacités de rappel d'une mémoire spatiale ancienne, associé à des modification d'activation neuronale, notamment dans l'amygdale et le cortex préfrontal médian qui semble nécessaire pour la mise une place de la consolidation d'un souvenir spatial à long terme. De tels effets bénéfiques de l'enrichissement du milieu ont également été montrés dans un autre modèle de lésion thalamique (noyaux antérieurs) chez le Rat sur la récupération de fonctions mnésiques comme la mémoire spatiale de travail, le conditionnement de peur ou encore flexibilité dans l'utilisation des représentations spatiales (rev. Dalrymple-Alford et coll., 2015). L'ensemble des données sur le thalamus soulignent l'importance de l'environnement sur les déficits cognitifs en lien avec une atteinte des noyaux thalamiques. De ce fait, nos données confortent l'utilisation possible chez l'Homme de l'environnement enrichi comme un outil thérapeutique alternatif pour traiter certains déficits mnésiques liés aux lésions diencephaliques comme la maladie de Korsakoff.

Ce travail a permis, et pour la première fois, de proposer un modèle explicatif pour le mécanisme d'action de l'impact de la lésion ReRh sur la persistance de la mémoire spatiale, qui serait basé sur l'altération de la plasticité neuronale dans des structures impliquées comme le mPFC, et ceci en lien possible avec l'activité de l'amygdale. Cependant, des études complémentaires seront nécessaires pour comprendre cette récupération fonctionnelle provoquée par le milieu enrichi et la récupération de la plasticité neuronale dans le mPFC, voire dans l'hippocampe, altérée par la lésion ReRh. Parmi les pistes de recherche à explorer, la normalisation de l'activité basale de l'amygdale et son rôle dans la consolidation systémique d'une mémoire spatiale seraient intéressant à étudier. Il en est de même pour les interactions anatomo-fonctionnelle entre les noyaux thalamique (ReRh) et amygdaliens (BLA) dans la consolidation d'un souvenir spatial en utilisant des approches combinées de lésion permanente et/ou d'inactivation fonctionnelle réversible: cette dernière approche permettant de s'intéresser à l'un ou l'autre des processus mnésiques (encodage, consolidation, rappel). L'intervention d'une voie alternative engageant d'autres structures comme le cortex entorhinal, devrait également être explorée. Une autre approche permettant de mieux comprendre l'impact des conditions d'élevage dans notre modèle, serait d'exposer les rats au

6. Conclusions et perspectives

milieu enrichi en période post-acquisition comme réalisé précédemment par Fischer et coll. (2007). La généralisation de nos résultats à une autre tâche mnésique (ex : conditionnement de peur) serait un complément indispensable pour valider nos données. Enfin, pour une partie des perspectives proposées, l'étude de la plasticité cérébrale notamment dans le mPFC et l'hippocampe sera indispensable avec par exemple, la quantification du nombre et la morphologie des épines dendritiques qui pourraient être évalués à l'aide de la coloration de Golgi. De même, l'étude de marqueurs de la plasticité synaptique et de la formation des épines dendritiques comme la synaptophysine ou la cofiline serait pertinente.

7. Bibliographie

7. Bibliographie

Abela AR, Dougherty SD, Fagen ED, Hill CJR, Chudasama Y (2013) Inhibitory control deficits in rats with ventral hippocampal lesions. *Cerebral Cortex* 23, 1396–1409.

Abrahams S, Pickering A, Polkey C, Morris R (1997) Spatial memory deficits in patients with unilateral damage to the right hippocampal formation. *Neuropsychologia* 35, 11–24.

Aggleton J P, Brown MW (1999) Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *The Behavioral and Brain Sciences* 22, 425–444.

Aggleton J P, 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 J P, Nelson AJD (2014) Why do lesions in the rodent anterior thalamic nuclei cause such severe spatial deficits? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 54, 131–144.

Agster KL, Burwell RD (2011) Cortical efferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Hippocampus* 19, 1159–1186.

Alcaraz F, Naneix F, Desfosses E, Marchand AR, Wolff M, Coutureau E (2014) Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior. *Brain Structure and Function* 10.1007/s00429-014-0893-7.

Allen GL (1999) Cognitive Abilities in the Service of Wayfinding: A Functional Approach. *Professional Geographer* 51, 554–561.

Altman, J. and Das GD (1964) Autoradiographic Examination of the Effects of Enriched Environment on the Rate of Glial Multiplication in the Adult Rat Brain. *Nature* 204, 1161 – 1163.

Alwis DS, Rajan R (2014) Environmental enrichment and the sensory brain: the role of enrichment in remediating brain injury. *Frontiers in Systems Neuroscience* 8, 1-20.

Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, Keefe JO (2007) *The Hippocampus Book*. New York: Oxford University Press.

Arai R, Jacobowitz DM, Shigeyu D (1994) Parvalbumin in the Rat Thalamus. *Brain Research Bulletin* 33, 595–614.

Atkinson, RC; Shiffrin R (1968) Human memory: A proposed system and its control processes. In *Psychology of learning and motivation: Advances in research and theory* (ed. Spence KW, Spence JT), pp. 89–195. Academic, New York.

Baddeley A (2000) The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends in Cognitive Sciences* 4, 417–423.

7. Bibliographie

- Baddeley A, Della Sala S (1996) Working Memory and Executive Control. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 351, 1397–1404.
- Baddeley AD, Warrington EK (1970) Amnesia and the Distinction between Long- and Short-Term Memory. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 189, 176–189.
- Badura L, Goldman B (1992) Central sites mediating reproductive responses to melatonin in juvenile male Siberian hamsters. *Brain Research* 598, 98–106.
- Baldini S, Restani L, Baroncelli L, Coltelli M, Franco R, Cenni MC, Maffei L, Berardi N (2013) Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. *The Journal of Neuroscience* 33, 11715–11723.
- Barbelivien A, Herbeaux K, Oberling P, Kelche C, Galani R, Majchrzak M (2006) Environmental enrichment increases responding to contextual cues but decreases overall conditioned fear in the rat. *Behavioural Brain Research* 169, 231–238.
- Bast T, Wilson I a, Witter MP, Morris RGM (2009) From rapid place learning to behavioral performance: a key role for the intermediate hippocampus. *PLoS Biology* 7, 730-746.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Katze C, Slipczuk L, Rossato JI, Goldin A, Izquierdo I, Medina JH (2007) BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 2711-2716.
- Belz EE, Kennell JS, Czambel RK, Rubin RT, Rhodes ME (2003) Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 76, 481–486.
- Bennett EL, Rosenzweig MR, Diamond MC (1969) Rat Brain : Effects of Environmental Enrichment on Wet and Dry Weights Monosodium L-Glutamate : Its Pharmacology and Role in the Chinese Restaurant Syndrome. *Science* 21, 825-826.
- Berendse HW, Groenewegen HJ (1991) Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience* 42, 73–102.
- Berretta S, Pantazopoulos H, Caldera M, Pantazopoulos P, Paré D (2005) Infralimbic cortex activation increases c-Fos expression in intercalated neurons of the amygdala. *Neuroscience* 132, 943–953.
- Bertram E, Mangan P, Zhang D (2001) The midline thalamus: alterations and a potential role in limbic epilepsy. *Epilepsia* 42, 967–978.
- Bertram EH, Zhang DX (1999) Thalamic excitation of hippocampal CA1 neurons: a comparison with the effects of CA3 stimulation. *Neuroscience* 92, 15–26.
- Biernaskie J, Chernenko G, Corbett D (2004) Efficacy of rehabilitative experience declines with time after focal ischemic brain injury. *The Journal of Neuroscience* : 24, 1245–1254.

7. Bibliographie

- Bimonte H, Hyde L, Hoplight B, Denenberg V (2000) In two species, females exhibit superior working memory and inferior reference memory on the water radial-arm maze. *Physiology and Behavior* 70, 311–317.
- Bindu B, Rekha J, Kutty BM (2005) Post insult enriched housing improves the 8-arm radial maze performance but not the Morris water maze task in ventral subicular lesioned rats. *Brain Research* 1063, 121–131.
- Bliss T, Collingridge G (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31 – 39.
- Bokor H, Csáki Á, 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.
- Bonaccorsi J, Cintoli S, Mastrogiacomo R, Baldanzi S, Braschi C, Pizzorusso T, Cenni MC, Berardi N (2013) System consolidation of spatial memories in mice: effects of enriched environment. *Neural Plasticity* 2013, 956312. <http://doi.org/10.1155/2013/956312>.
- Boyce RW, Dorph-Petersen K-A, Lyck L, Gundersen HJG (2010) Design-based stereology: introduction to basic concepts and practical approaches for estimation of cell number. *Toxicologic Pathology* 38, 1011–1025.
- Bramham CR, Messaoudi E (2005) BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Progress in Neurobiology* 76, 99–125.
- Brenes JC, Padilla M, Fornaguera J (2009) A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behavioural Brain Research* 197, 125–137.
- Brenes JC, Rodríguez O, Fornaguera J (2008) Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 89, 85–93.
- Briones TL, Klintsova AY, Greenough WT (2004) Stability of synaptic plasticity in the adult rat visual cortex induced by complex environment exposure. *Brain Research* 1018, 130–135.
- Briones TL, Suh E, Jozsa L, Woods J (2006) Behaviorally induced synaptogenesis and dendritic growth in the hippocampal region following transient global cerebral ischemia are accompanied by improvement in spatial learning. *Experimental Neurology* 198, 530–538.
- Bruel-Jungerman E, Laroche S, Rampon C (2005) New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *The European Journal of Neuroscience* 21, 513–521.
- Buchhold B, Mogoanta L, Suofu Y, Hamm A, Walker L, Kessler C, Popa-Wagner A (2007) Environmental enrichment improves functional and neuropathological indices following stroke in young and aged rats. *Restorative Neurology and Neuroscience* 25, 467–484.

7. Bibliographie

- Bullitt E (1990) Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 296, 517–530.
- Burgess N (2006) Spatial memory: how egocentric and allocentric combine. *Trends in Cognitive Sciences* 10, 551–557.
- Burgess N, Maguire E, O'Keefe J (2002) The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron* 35, 625–641.
- Burnham W (1903) Retroactive amnesia: illustrative cases and a tentative explanation. *The American Journal of Psychology* 14, 118–132.
- Carlesimo GA, Costa A, Serra L, Bozzali M, Fadda L, Caltagirone C (2011) Prospective memory in thalamic amnesia. *Neuropsychologia* 49, 2199–2208.
- Carlesimo GA, Lombardi MG, Caltagirone C (2011) Vascular thalamic amnesia: a reappraisal. *Neuropsychologia* 49, 777–789.
- Carrera E, Michel P, Bogousslavsky J (2004) Anteromedian, central, and posterolateral infarcts of the thalamus: three variant types. *Stroke; Journal of Cerebral Circulation* 35, 2826–2831.
- Carughi A, Carpenter KJ, Diamond MC (1989) Effect of Environmental Enrichment during Nutritional Rehabilitation on Body Growth, Blood Parameters and Cerebral Cortical Development of Rats. *The Journal of Nutrition* 7, 2005–2016.
- Carvalho-Netto EF, Martinez RCR, Baldo MVC, Canteras NS (2010) Evidence for the thalamic targets of the medial hypothalamic defensive system mediating emotional memory to predatory threats. *Neurobiology of Learning and Memory* 93, 479–486.
- Cassel J-C, 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.
- Cassel R, Kelche C, Lecourtier L, Cassel J-C (2012) The match/mismatch of visuo-spatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behavioural Brain Research* 230, 333–342.
- 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.
- Vorhees CV and Williams MT (2010) Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols* 1, 848–858.
- Chen X, Li Y, Kline AE, Dixon CE, Zafonte RD, Wagner AK (2005) Gender and environmental effects on regional brain-derived neurotrophic factor expression after experimental traumatic brain injury. *Neuroscience* 135, 11–17.
- 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 J-C (2013) The ventral midline

7. Bibliographie

thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal cortical and hippocampal functions. *The Journal of Neuroscience* 33, 8772–8783.

Christie MA, Dalrymple-alford JC (1995) Behavioural consequences of frontal cortex grafts and enriched environments after sensorimotor cortex lesions. *Journal of Neural Transplantation and Plasticity* 5, 199–210.

Cipolotti L, Shallice T, Chan D, Fox N, Scahill R, Harrison G, Stevens J, Rudge P (2001) Long-term retrograde amnesia, the crucial role of the hippocampus. *Neuropsychologia* 39, 151–172.

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

Conrad CD (2010) A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 34, 742–755.

Corkin S (2002) What's new with the amnesic patient HM? *Nature Reviews Neuroscience* 3, 3–10.

Cowan N (1988) Evolving conceptions of memory storage, selective attention, and their mutual constraints within the human information-processing system. *Psychological Bulletin* 104, 163–191.

Crofton EJ, Zhang Y, Green TA (2014) Inoculation stress hypothesis of environmental enrichment. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 49, 19–31.

Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DF, Akil H, Watson SJ (1995) Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* 64, 477–505.

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

Dahlqvist P, Rönnebeck A., Risedal A., Nergårdh R, Johansson I-M, Seckl JR, Johansson BB, Olsson T (2003) Effects of postischemic environment on transcription factor and serotonin receptor expression after permanent focal cortical ischemia in rats. *Neuroscience* 119, 643–652.

Dalrymple-Alford JC, Harland B, Loukavenko EA, Perry B, Mercer S, Collings DA, Ulrich K, Abraham WC, McNaughton N, Wolff M (2015) Anterior thalamic nuclei lesions and recovery of function: Relevance to cognitive thalamus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 54, 145–160.

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.

7. Bibliographie

- 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.
- Day E, Bentham PW, Callaghan R, Kuruvilla T, George S. Thiamine for prevention and treatment of Wernicke-Korsakoff Syndrome in people who abuse alcohol (2013) *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 7. Art. No.: CD004033.
- De Bourbon-Teles J, Bentley P, Koshino S, Shah K, Dutta A, Malhotra P, Egner T, Husain M, Soto D (2014) Thalamic control of human attention driven by memory and learning. *Current Biology* 24, 993–999.
- De Carvalho CR, Pandolfo P, Pamplona FA, Takahashi RN (2010) Environmental enrichment reduces the impact of novelty and motivational properties of ethanol in spontaneously hypertensive rats. *Behavioural Brain Research* 208, 231–236.
- 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.
- De Witte L, Brouns R, Kavadias D, Engelborghs S, De Deyn PP, Mariën P (2011) Cognitive, affective and behavioural disturbances following vascular thalamic lesions: a review. *Cortex* 47, 273–319.
- Dedovic K, Duchesne A, Andrews J, Engert V, Pruessner JC (2009) The brain and the stress axis: the neural correlates of cortisol regulation in response to stress. *NeuroImage* 47, 864–871.
- Del Arco A, Segovia G, Canales JJ, Garrido P, de Blas M, García-Verdugo JM, Mora F (2007) Environmental enrichment reduces the function of D1 dopamine receptors in the prefrontal cortex of the rat. *J Neural Transm* 114, 43–48.
- Del Arco A, Segovia G, Garrido P, de Blas M, Mora F (2007) Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. *Behavioural Brain Research* 176, 267–273.
- Deng W, Saxe MD, Gallina IS, Gage FH (2010) Adult-born hippocampal dentate granule cells undergoing maturation modulate learning and memory in the brain. *Journal of Neuroscience* 29, 13532–13542.
- Diamond M, Greer E, York A, Lewis D (1987) Rat cortical morphology following crowded-enriched living conditions. *Experimental Neurology* 96, 241–247.
- Di Prisco GV, Vertes RP (2006) Excitatory actions of the ventral midline thalamus (Rhomboid / Reuniens) on the medial prefrontal cortex in the rat. *Synapse* 55, 45–55.
- Diekelmann S, Born J (2010) The memory function of sleep. *Nature Reviews. Neuroscience* 11, 114–26.

7. Bibliographie

- Dolleman-van der Weel M.J, 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.
- 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, Lopes da Silva FH, Witter MP (1997) Nucleus reuniens thalami modulates activity in hippocampal field CA1 through excitatory and inhibitory mechanisms. *The Journal of Neuroscience* 17, 5640–5650.
- Dostrovsky J, Guilbaud G (1990) Nociceptive responses in medial thalamus of the normal and arthritic rat. *Pain* 40, 93–104.
- Dragunow M (1996) A role for immediate-early transcription factors in learning and memory. *Behavior Genetics* 26, 293–299.
- Drapeau E, Abrous DN (2008) Stem cell review series: role of neurogenesis in age-related memory disorders. *Aging Cell* 7, 569–589.
- Drapeau E, Mayo W, Aurousseau C, Moal M Le, Piazza P, Abrous DN (2003) Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 14385–14390
- Duan AR, Varela C, Zhang Y, Shen Y, Xiong L, Wilson M, 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, Morris R (2000) *To consolidate or not to consolidate: what are the questions?* Oxford: Oxford University Press.
- Dudai Yadin (1996) Consolidation: fragility on the road to the engram. *Neuron* 17, 367–370.
- Dudai Yadin (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology* 55, 51–86.
- Dupire A, Kant P, Mons N, Marchand AR, Coutureau E, Dalrymple-Alford J, Wolff M (2013) A role for anterior thalamic nuclei in affective cognition: Interaction with environmental conditions. *Hippocampus* 23, 392–404.
- Dupret D, Revest J-M, Koehl M, Ichas F, De Giorgi F, Costet P, Abrous DN, Piazza PV (2008) Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. *PloS One* 3, 1-14.
- Eichenbaum H (1997) Declarative memory: Insights from cognitive neurobiology. *Annual Review of Psychology* 84, 547–572.

7. Bibliographie

- 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, 1-11.
- Elliott BM, Grunberg NE (2005) Effects of social and physical enrichment on open field activity differ in male and female Sprague-Dawley rats. *Behavioural Brain Research* 165, 187-196.
- Ericsson K, Kintsch W (1995) Long-term working memory. *Psychological Review* 102, 211-245.
- Fa M, Xia L, Anunu R, Kehat O, Kriebel M, Volkmer H, Richter-Levin G (2014) Stress modulation of hippocampal activity--spotlight on the dentate gyrus. *Neurobiology of Learning and Memory* 112, 53-60.
- Fama R, Pitel A-L, Sullivan EV (2012) Anterograde episodic memory in Korsakoff syndrome. *Neuropsychology Review* 22, 93-104.
- Fanselow MS, Dong H-W (2010) Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7-19.
- Fares RP, Belmeguenai A, Sanchez PE, Kouchi HY, Bodennec J, Morales A, Georges B, Bonnet C, Bouvard S, Sloviter RS, Bezin L (2013) Standardized environmental enrichment supports enhanced brain plasticity in healthy rats and prevents cognitive impairment in epileptic rats. *PloS One* 8, 1-20.
- Farioli-Vecchioli S, Saraulli D, Costanzi M, Pacioni S, Cinà I, Aceti M, Micheli L, Bacci A, Cestari V, Tirone F (2008) The timing of differentiation of adult hippocampal neurons is crucial for spatial memory. *PLoS Biology* 6, 1-17.
- Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai L-H (2007) Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature* 447, 178-182.
- Fleischmann A, Hvalby O, Jensen V, Strekalova T, Zacher C, Layer LE, Kvello A, Reschke M, Spanagel R, Gass P (2003) Impaired long-term memory and NR2A-type NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in mice lacking c-Fos in the CNS. *The Journal of Neuroscience* 23, 9116-9122.
- 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.
- Fox C, Merali Z, Harrison C (2006) Therapeutic and protective effect of environmental enrichment against psychogenic and neurogenic stress. *Behavioural Brain Research* 175, 1-8.
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6, 119-130.
- Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ (2004) The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* 304, 881-883.

7. Bibliographie

Fréchette M, Rennie K, Pappas BA (2009) Developmental forebrain cholinergic lesion and environmental enrichment: behaviour, CA1 cytoarchitecture and neurogenesis. *Brain Research* 1252, 172–182.

Freeman D, Zucker I (2001) Refractoriness to melatonin occurs independently at multiple brain sites in Siberian hamsters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 6447–6452.

Fuster JM (2001) The Prefrontal Cortex — An Update :Time Is of the Essence. *Neuron* 30, 319–333.

Galani R, Berthel M-C, Lazarus C, Majchrzak M, Barbelivien A, Kelche C, Cassel J-C (2007) The behavioral effects of enriched housing are not altered by serotonin depletion but enrichment alters hippocampal neurochemistry. *Neurobiology of Learning and Memory* 88, 1–10.

Garrido P, De Blas M, Ronzoni G, Cordero I, Antón M, Giné E, Santos a, Del Arco a, Segovia G, Mora F (2013) Differential effects of environmental enrichment and isolation housing on the hormonal and neurochemical responses to stress in the prefrontal cortex of the adult rat: relationship to working and emotional memories. *Journal of Neural Transmission* 120, 829–843.

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, 270–278.

Glanzer M, Cunitz A (1966) Two storage mechanisms in free recall. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 360, 351–360.

Goes TC, Antunes FD, Teixeira-Silva F (2014) Environmental enrichment for adult rats: Effects on trait and state anxiety. *Neuroscience Letters* 584C, 93–96.

Goosens KA (2011) Hippocampal regulation of aversive memories. *Current Opinion in Neurobiology* 21, 460–466.

Gray JA, McNaughton N (2000) *The Neuropsychology of Anxiety: An Enquiry into the Functions of the Septo-Hippocampal System, Second Edition*. Oxford: Oxford University Press.

Groenewegen HJ, Berendse HW (1994) The specificity of the “nonspecific” midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends in Neurosciences* 17, 52–57.

Grossberg S, Pilly PK (2012) How entorhinal grid cells may learn multiple spatial scales from a dorsoventral gradient of cell response rates in a self-organizing map. *PLoS Computational Biology* 8, 1–31.

Guillery R, Sherman S (2002) Thalamic relay functions and their role in corticocortical communication: generalizations from the visual system. *Neuron* 33, 163–175.

7. Bibliographie

- Guzowski J F, Setlow B, Wagner EK, McGaugh JL (2001) Experience-dependent gene expression in the rat hippocampus after spatial learning: a comparison of the immediate-early genes Arc, c-fos, and zif268. *The Journal of Neuroscience* 21, 5089–5098.
- Guzowski JF., McNaughton BL, Barnes CA, Worley PF (1999) Environment-specific expression of the immediate-early gene Arc in hippocampal neuronal ensembles. *Nature* 2, 1120–1124.
- 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.
- Hall F, Huang S, Fong G, Sundstrom J, Pert A (2000) Differential basis of strain and rearing effects on open-field behavior in Fawn Hooded and Wistar rats. *Physiology and Behavior* 71, 525–532.
- Halliday GM (2009) Thalamic changes in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders* 15, S152–S155.
- 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.
- Hannan AJ (2014) Environmental enrichment and brain repair: harnessing the therapeutic effects of cognitive stimulation and physical activity to enhance experience-dependent plasticity. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 40, 13–25.
- Harati H, Barbelivien A, Herbeaux K, Muller M-A, Engeln M, Kelche C, Cassel J-C, Majchrzak M (2013) Lifelong environmental enrichment in rats: impact on emotional behavior, spatial memory vividness, and cholinergic neurons over the lifespan. *Age* 35, 1027–1043.
- Harati H, Majchrzak M, Cosquer B, Galani R, Kelche C, Cassel J-C, Barbelivien A (2011) Attention and memory in aged rats: Impact of lifelong environmental enrichment. *Neurobiology of Aging* 32, 718–736.
- Hartley T, Maguire E, Spiers H, Burgess N (2003) The well-worn route and the path less traveled: distinct neural bases of route following and wayfinding in humans. *Neuron* 37, 877–888.
- He J, Yamada K, Nabeshima T (2002) A role of Fos expression in the CA3 region of the hippocampus in spatial memory formation in rats. *Neuropsychopharmacology* 26, 259–268.
- Hebb D (1949) *The organization of behavior: A neuropsychological theory*. New York:Wiley.
- Hellemans KGC, Benge LC, Olmstead MC (2004) Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Developmental Brain Research* 150, 103–115.
- Hembrook JR, Mair RG (2011) Lesions of reuniens and rhomboid thalamic nuclei impair radial maze win-shift performance. *Hippocampus* 21, 815–826.

7. Bibliographie

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.

Herdegen T, Leah JD (1998) Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. *Brain Research Reviews* 28, 370–490.

Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H (2005) Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry* 29, 1201–1213.

Herrero AI, Sandi C, Venero C (2006) Individual differences in anxiety trait are related to spatial learning abilities and hippocampal expression of mineralocorticoid receptors. *Neurobiology of Learning and Memory* 86, 150–159.

Herrero M-T, Barcia C, Navarro JM (2002) Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child's Nervous System* : 18, 386–404.

Hirayasu Y, Wada J (1992a) Convulsive seizures in rats induced by N-methyl-D-aspartate injection into the massa intermedia. *Brain Research* 577, 36–40.

Hirayasu Y, Wada J (1992b) N-methyl-D-aspartate injection into the massa intermedia facilitates development of limbic kindling in rats. *Epilepsia* 33, 965–970.

Hodges H (1996) Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Cognitive Brain Research* 3, 167–181.

Hoffmann LC, Schütte SRM, Koch M, Schwabe K (2009) Effect of “enriched environment” during development on adult rat behavior and response to the dopamine receptor agonist apomorphine. *Neuroscience* 158, 1589–1598.

Hogg S (1996) A Review of the Validity and Variability of the Elevated Plus-Maze as an Animal Model of Anxiety. 54, 21–30.

Hok V, Save E, Poucet B, Lenck-Santini PP (2005) Coding for spatial goals in the prelimbic – infralimbic area of the rat frontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 4602–4607.

Holdstock JS, Mayes AR, Cezayirli E, Isaac CL, Aggleton JP, Roberts N (2000) A comparison of egocentric and allocentric spatial memory in a patient with selective hippocampal damage. *Neuropsychologia* 38, 410–425.

Holloway-Erickson CM, McReynolds JR, McIntyre CK (2012) Memory-enhancing intra-basolateral amygdala infusions of clenbuterol increase Arc and CaMKII α protein expression in the rostral anterior cingulate cortex. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 6, 1-9.

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.

7. Bibliographie

- 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.
- Howland JG, Harrison R a, Hannesson DK, Phillips AG (2008) Ventral hippocampal involvement in temporal order, but not recognition, memory for spatial information. *Hippocampus* 18, 251–257.
- Hughes P, Dragunow M (1995) Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene-expression within the nervous-system. *Pharmacological Reviews* 47, 133–178.
- Hunsaker MR, Kesner RP (2008) Dissociations across the dorsal–ventral axis of CA3 and CA1 for encoding and retrieval of contextual and auditory-cued fear. *Neurobiology of Learning and Memory* 89, 61–69.
- Huppert FA, Piercy M (1979) Normal and Abnormal Forgetting in Organic Amnesia: Effect of Locus of Lesion. *Cortex* 15, 385–390.
- Hutchinson KM, McLaughlin KJ, Wright RL, Bryce Ortiz J, Anouti DP, Mika A, Diamond DM, Conrad CD (2012) Environmental enrichment protects against the effects of chronic stress on cognitive and morphological measures of hippocampal integrity. *Neurobiology of Learning and Memory* 97, 250–260.
- Ickes BR, Pham TM, Sanders LA, Albeck DS, Mohammed AH, Granholm AC (2000) Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Experimental Neurology* 164, 45–52.
- Jacqmain J, Nudi ET, Fluharty S, Smith JS (2014) Pre and post-injury environmental enrichment effects functional recovery following medial frontal cortical contusion injury in rats. *Behavioural Brain Research* 275, 201–211.
- Jankord R, Herman JP (2008) Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1148, 64–73.
- 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, 1–10.
- Janus C, Koperwas JS, Janus M RJ (1995) Rearing environment and radial maze exploration in mice. *Behavioral Processes* 34, 129–140.
- Jay TM, Burette F, Laroche S (1996) Plasticity of the hippocampal-prefrontal. *Physiology* 90, 361–366.
- Jay T. M., 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.

7. Bibliographie

Jessberger S, Clark RE, Broadbent NJ, Gregory D, Clemenson J, Consiglio A, Lie DC, Squire LR, Gage FH (2009) Dentate gyrus-specific knockdown of adult neurogenesis impairs spatial and object recognition memory in adult rats. *Learning and Memory* 16, 147–154.

Joëls M, Pu Z, Wiegert O, Oitzl MS, Krugers HJ (2006) Learning under stress: how does it work? *Trends in Cognitive Sciences* 10, 152–158.

Johansson BB, Belichenko PV (2002) Neuronal Plasticity and Dendritic Spines : Effect of Environmental Enrichment on Intact and Postischemic Rat Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 22, 89–96.

Johnson EM, Traver KL, Hoffman SW, Harrison CR, Herman JP (2013) Environmental enrichment protects against functional deficits caused by traumatic brain injury. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 7, 1-7.

Jones KR, Myers B, Herman JP (2011) Stimulation of the prelimbic cortex differentially modulates neuroendocrine responses to psychogenic and systemic stressors. *Physiology and Behavior* 104, 266–271.

Jones M, Errington M, French P (2001) A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nature* 4, 289–296.

Jones TA, Klintsova AY, Kilman VL, Sirevaag AM, Greenough WT (1997) Induction of Multiple Synapses by Experience in the Visual Cortex of Adult Rats. *Neurobiology of learning and memory* 20, 13–20.

Jung CKE, Herms J (2014) Structural dynamics of dendritic spines are influenced by an environmental enrichment: an in vivo imaging study. *Cerebral Cortex* 24, 377–384.

Katche C, Goldin A, Gonzalez C, Bekinschtein P, Medina JH (2012) Maintenance of long-term memory storage is dependent on late posttraining Egr-1 expression. *Neurobiology of Learning and Memory* 98, 220–227.

Kee N, Teixeira CM, Wang AH, Frankland PW (2007) Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nature Neuroscience* 10, 355–362.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage F (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386, 493-495.

Kempermann G (2002) Why New Neurons ? Possible Functions for Adult Hippocampal. *Neuroscience* 22, 635–638.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH (1998) Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *Neuroscience* 18, 3206–3212.

Kessels RP, Haan EH De, Kappelle LJ, Postma A (2001) Varieties of human spatial memory : a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. *Brain Research Reviews* 35, 295–303.

7. Bibliographie

- Kim J, Kwon J-T, Kim H-S, Han J-H (2013) CREB and neuronal selection for memory trace. *Frontiers in Neural Circuits* 7, 1-7.
- Kim JJ, Fanselow MS (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 665–677.
- Kishi T, Tsumori T, Yokota S, Yasui Y (2006) Topographical projection from the hippocampal formation to the amygdala: a combined anterograde and retrograde tracing study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 496, 349–368.
- Kolb B, Gibb R (2010) Tactile stimulation after frontal or parietal cortical injury in infant rats facilitates functional recovery and produces synaptic changes in adjacent cortex. *Behavioural Brain Research* 214, 115–120.
- Konefal S, Elliot M, Crespi B (2013) The adaptive significance of adult neurogenesis: an integrative approach. *Frontiers in Neuroanatomy* 7, 1-21.
- Konkle ATM, Kentner AC, Baker SL, Stewart A, Bielajew C (2010) Environmental-enrichment-related variations in behavioral, biochemical, and physiologic responses of Sprague-Dawley and Long Evans rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 49, 427–436.
- Kopelman MD, Lasserson D, Kingsley DR, Bello F, Rush C, Stanhope N, Stevens TG, Goodman G, Buckman JR, ... Colchester C (2003) Retrograde amnesia and the volume of critical brain structures. *Hippocampus* 13, 879–891.
- Kopelman MD (2014) What does a comparison of the alcoholic Korsakoff syndrome and thalamic infarction tell us about thalamic amnesia? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 54, 46–56.
- Kopelman MD, Thomson AD, Guerrini I, Marshall EJ (2009) The Korsakoff syndrome: clinical aspects, psychology and treatment. *Alcohol and Alcoholism* 44, 148–54.
- Kovesdi E, Gyorgy AB, Kwon S-KC, Wingo DL, Kamnaksh A, Long JB, Kasper CE, Agoston D V (2011) The effect of enriched environment on the outcome of traumatic brain injury; a behavioral, proteomics, and histological study. *Frontiers in Neuroscience* 5, 1-12.
- Kril JJ, Harper CG (2012) Neuroanatomy and neuropathology associated with Korsakoff's syndrome. *Neuropsychology Review* 22, 72–80.
- Kudielka BM, Kirschbaum C (2005) Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. *Biological Psychology* 69, 113–132.
- Lambe EK, Liu R-J, Aghajanian GK (2007) Schizophrenia, hypocretin (orexin), and the thalamocortical activating system. *Schizophrenia Bulletin* 33, 1284–1290.
- Lamprecht R, Dudai Y (1996) Transient expression of c-Fos in rat amygdala during training is required for encoding conditioned taste aversion memory. *Learning and Memory* 3, 31–41.

7. Bibliographie

- Lamprecht R, LeDoux J (2004) Structural plasticity and memory. *Nature Reviews Neuroscience* 5, 45–54.
- Lanni C, Govoni S, Lucchelli A, Boselli C (2009) Depression and antidepressants: molecular and cellular aspects. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66, 2985–3008.
- Laviola G, Hannan AJ, Macrì S, Solinas M, Jaber M (2008) Neurobiology of disease effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiology of Disease* 31, 159–168.
- Law LM, Smith DM (2013) The Anterior thalamus is critical for overcoming interference in a context-dependent odor discrimination task. *Behavioral Neuroscience* 126, 710–719.
- Lechner HA, Squire LR, Byrne JH, Mu G (1999) 100 Years of Consolidation—Remembering Muller and Pilzecker. *Learning and Memory* 6, 77–87.
- Leger M, Bouet V, Freret T, Darmaillacq A-S, Dacher M, Dauphin F, Boulouard M, Schumann-Bard P (2012a) Environmental enrichment improves recent but not remote memory in association with a modified brain metabolic activation profile in adult mice. *Behavioural Brain Research* 228, 22–29.
- Leger M, Quiedeville A, Paizanis E, Natkunarajah S, Freret T, Boulouard M, Schumann-Bard P (2012b) Environmental enrichment enhances episodic-like memory in association with a modified neuronal activation profile in adult mice. *PloS One* 7, 1–11.
- Leggio MG, Mandolesi L, Federico F, Spirito F, Ricci B, Gelfo F, Petrosini L (2005) Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behavioural Brain Research* 163, 78–90.
- Leitner C, Bartness TJ (2011) An intact dorsomedial hypothalamic nucleus, but not the subzona incerta or reunions nucleus, is necessary for short-day melatonin signal-induced responses in Siberian hamsters. *Neuroendocrinology* 93, 29–39.
- Lepage M, Habib R, Tulving E (1998) Hippocampal PET Activations of Memory Encoding and Retrieval : The HIPER Model. *Hippocampus* 322, 313–322.
- Li M, Long C, Yang L (2015) Hippocampal-Prefrontal Circuit and Disrupted Functional Connectivity in Psychiatric and Neurodegenerative Disorders. *BioMedical Research International* 2015, 1–11.
- Lim C, Alexander MP (2009) Stroke and episodic memory disorders. *Neuropsychologia* 47, 3045–3058.
- Link W, Konietzko U, Kauselmann G, Krugt M, Schwanke B, Frey U, Kuhl D (1995) Somatodendritic expression of an immediate early gene is regulated by synaptic activity. *Neurobiology* 92, 5734–5738.
- Lisman JE, Pi HJ, Zhang Y, Otmakhova NA (2010) A Thalamo-hippocampal-ventral tegmental area loop may produce the positive feedback that underlies the psychotic break in schizophrenia. *Biological Psychiatry* 68, 17–24.

7. Bibliographie

- Liu R, Aghajanian G (2008) Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 359–364.
- Loayza FR, Fernández-Seara MA, Aznárez-Sanado M, Pastor MA (2011) Right parietal dominance in spatial egocentric discrimination. *NeuroImage* 55, 635–643.
- Loeblich S, Nedivi E (2009) The function of activity-regulated genes in the nervous system. *Physiological Reviews* 210, 1079–1103.
- 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.
- Lopez J, Wolff M, Lecourtier L, Cosquer B, Bontempi B, Dalrymple-Alford J, Cassel J-C (2009) The intralaminar thalamic nuclei contribute to remote spatial memory. *The Journal of Neuroscience* 29, 3302–3306.
- Lorsbach T, Worman L (1989) The development of explicit and implicit forms of memory in learning disabled children. *Contemporary Educational Psychology* 76, 67–76.
- Loukavenko EA, Ottley MC, Moran JP, Wolff M, Dalrymple-Alford JC (2007) Towards therapy to relieve memory impairment after anterior thalamic lesions: improved spatial working memory after immediate and delayed postoperative enrichment. *The European Journal of Neuroscience* 26, 3267–3276.
- Loureiro M, Cholvin T, Lopez J, Merienne N, Latreche A, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel J-C, Pereira de Vasconcelos A (2012) The ventral midline thalamus (reuniens and rhomboid nuclei) contributes to the persistence of spatial memory in rats. *The Journal of Neuroscience* 32, 9947–9959.
- Loureiro M, Lecourtier L, Engeln M, Lopez J, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel J-C, Pereira de Vasconcelos A (2012a) The ventral hippocampus is necessary for expressing a spatial memory. *Brain Structure and Function* 217, 93–106.
- Macchi G, Bentivoglio M (1999) Is the “nonspecific” thalamus still “nonspecific”? *Archives Italiennes de Biologie* 137, 201–226.
- Maddux J-M, Holland PC (2012) Effects of dorsal or ventral medial prefrontal cortical lesions on five-choice serial reaction time performance in rats. *Behavioural Brain Research* 221, 63–74.
- Maguire E, Burgess N, O’Keefe J (1999) Human spatial navigation: cognitive maps, sexual dimorphism, and neural substrates. *Current Opinion in Neurobiology* 9, 171–177.
- Maguire EA, Frackowiak RSJ, Frith CD (1997) Recalling routes around London: activation of the right hippocampus in taxi drivers. *Neuroscience* 17, 7103–7110.

7. Bibliographie

- Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS, Good CD, Ashburner J, Frackowiak RS, Frith CD (2000) Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 1-6.
- Mair R, Burk J, Porter M (1998) Lesions of the frontal cortex, hippocampus, and intralaminar thalamic nuclei have distinct effects on remembering in rats. *Behavioral Neuroscience* 112, 772-792.
- Markowitsch H (1982) Thalamic mediodorsal nucleus and memory: a critical evaluation of studies in animals and man. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 6, 351-380.
- Marr D (1970) A Theory for Cerebral Neocortex. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 176, 161-234.
- Marr D (1971) Simple Memory : A Theory for Archicortex. *Biological Sciences* 262, 23-81.
- McDonald RJ, Hong NS, Devan BD (2004) The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: an interactive learning and memory systems approach. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28, 719-745.
- McGaugh JL (2002) Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *Trends in Neurosciences* 25, 456-461.
- McGaugh JL (2004) The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience* 27, 1-28.
- McGaugh JL (2013) Making lasting memories: remembering the significant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 Suppl , 10402-10407.
- McIntyre CK, Miyashita T, Setlow B, Marjon KD, Steward O, Guzowski JF, McGaugh JL (2005) Memory-influencing intra-basolateral amygdala drug infusions modulate expression of Arc protein in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 10718-10723.
- McKenna JT, Vertes RP (2004) Afferent projections to nucleus reuniens of the thalamus. *The Journal of Comparative Neurology* 480, 115-142.
- McNamara T, Rump B, Werner S (2003) Egocentric and geocentric frames of reference in memory of large-scale space. *Psychonomic Bulletin and Review* 10, 589-595.
- McReynolds JR, Holloway-Erickson CM, Parmar TU, McIntyre CK (2014) Corticosterone-induced enhancement of memory and synaptic Arc protein in the medial prefrontal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* 112, 148-157.
- Miller EK, Cohen JD (2001) An Integrative Theory of Prefrontal Cortex Function. *Annual Review of Neuroscience* 24, 167-202.
- Miller G (1956) The magical number seven, plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychological Review* 101, 343-352.

7. Bibliographie

- Mitchell A, Dalrymple-Alford J (2006) Lateral and anterior thalamic lesions impair independent memory systems. *Learning and Memory* 17, 388–396.
- Mitchell AS, Chakraborty S (2013) What does the mediodorsal thalamus do? *Frontiers in Systems Neuroscience* 7, 1-19.
- Mohammed AH, Zhu S, Darmopil S, Hjerling-Leffler J, Ernfors P, Winblad B, Diamond MC, Eriksson PS, Bogdanovic N (2002) Environmental enrichment and the brain. *Progress in Brain Research* 138, 109-133.
- Monaco CM, Mattiola VV, Folweiler KA, Tay JK, Yelleswarapu NK, Curatolo LM, Matter AM, Cheng JP, Kline AE (2013) Environmental enrichment promotes robust functional and histological benefits in female rats after controlled cortical impact injury. *Experimental Neurology* 247, 410–8.
- Moncek F, Duncko R, Jezova D, Johansson BB (2004) Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *Journal of Neuroendocrinology* 16, 423–431.
- Morales GJ, Ramcharan EJ, Sundararaman N, Morgera SD, Vertes RP (2007) Analysis of the actions of nucleus reuniens and the entorhinal cortex on EEG and evoked population behavior of the hippocampus. *Annual International Conference Of The IEEE 2007*, 2480–2484.
- Moreau P-H, Tsenkina Y, Lecourtier L, Lopez J, Cosquer B, Wolff M, Dalrymple-Alford J, Cassel J-C (2012) Lesions of the anterior thalamic nuclei and intralaminar thalamic nuclei: place and visual discrimination learning in the water maze. *Brain Structure and Function* 218, 657-667.
- Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 11, 47–60.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology* 16, 179–190.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Robyn Westmacott, Grady C, McAndrews MP, Levine B, Black S, Winocur G, Nadel L (2005) Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Anatomical Society of Great Britain and Ireland* 207, 35–66.
- 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.
- Mura A, Murphy CA., Feldon J, Jongen-Relo A-L (2004) The use of stereological counting methods to assess immediate early gene immunoreactivity. *Brain Research* 1009, 120–128.
- Murphy TH, Corbett D (2009) Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nature Reviews. Neuroscience* 10, 861–872.

7. Bibliographie

- Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology* 7, 217–227.
- Nadel L, Samsonovich A, Ryan L, Moscovitch M (2000) Multiple trace theory of human memory: computational, neuroimaging, and neuropsychological results. *Hippocampus* 368, 352–368.
- Nadel L, Hardt O (2004) The spatial brain. *Neuropsychology* 18, 473–476.
- Nadel Lynn, Winocur G, Ryan L, Moscovitch M (2007) Systems consolidation and hippocampus: two views. *Debates in Neuroscience* 1, 55–66.
- Nascimento ES do, Cavalcante JS, Cavalcante JC, Costa MSMO (2010) Retinal afferents to the thalamic mediodorsal nucleus in the rock cavy (*Kerodon rupestris*). *Neuroscience Letters* 475, 38–43.
- Nestor PJ, Fryer TD, Hodges JR (2006) Declarative memory impairments in Alzheimer's disease and semantic dementia. *NeuroImage* 30, 1010–1020.
- Nikolaev E, Kaczmarek L, Wei S, Winblad B, Mohammed AH (2002) Environmental manipulation differentially alters c-Fos expression in amygdaloid nuclei following aversive conditioning. 957, 91–98.
- Nithianantharajah J, Hannan AJ (2006) Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews. Neuroscience* 7, 697–709.
- Novkovic T, Mittmann T, Manahan-Vaughan D (2015) BDNF contributes to the facilitation of hippocampal synaptic plasticity and learning enabled by environmental enrichment. *Hippocampus* 25, 1–15.
- Nudo RJ (2013) Recovery after brain injury: mechanisms and principles. *Frontiers in Human Neuroscience* 7, 1-14.
- O'Keefe J (1990) Understanding the Brain Through the Hippocampus: the Hippocampal Region as a Model for Studying Brain Structure and Function. *Progress in Brain Research*. 83, 301–312.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford, Clarendon Press.
- Ochs M, Mühlfeld C (2013) Quantitative microscopy of the lung: a problem-based approach. Part 1: basic principles of lung stereology. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 305, 15–22.
- Ohnishi T, Matsuda H, Hirakata M, Ugawa Y (2006) Navigation ability dependent neural activation in the human brain: An fMRI study. *Neuroscience Research* 55, 361–369.
- Okuno H (2011) Regulation and function of immediate-early genes in the brain: beyond neuronal activity markers. *Neuroscience Research* 69, 175–86.
- Olton DS (1979) Mazes , Maps , and Memory. *American Psychologist* 34, 583–596.

7. Bibliographie

- Olton DS, Papas BC (1979) Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia* 17, 669–682.
- Olton DS, Samuelson RJ (1976) Remembrance of Places Passed : Spatial Memory in Rats. *Experimental Psychology : Animal Behavior Processes* 2, 97–116.
- Oualian C, Gisquet-Verrier P (2010) The differential involvement of the prelimbic and infralimbic cortices in response conflict affects behavioral flexibility in rats trained in a new automated strategy-switching task. *Learning and Memory* 17, 654–668.
- Packard MG, Cahill L, Mcgaugh JL (1994) Amygdala modulation of hippocampal-dependent and caudate nucleus-dependent memory processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 8477–8481.
- Pamplona FA, Pandolfo P, Savoldi R, Prediger RDS, Takahashi RN (2009) Environmental enrichment improves cognitive deficits in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR): relevance for Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD). *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry* 33, 1153–1160.
- Pang TYC, Hannan AJ (2013) Enhancement of cognitive function in models of brain disease through environmental enrichment and physical activity. *Neuropharmacology* 64, 515–528.
- Paré D (2003) Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Progress in Neurobiology* 70, 409–420.
- Parron C, Save E (2004) Comparison of the effects of entorhinal and retrosplenial cortical lesions on habituation, reaction to spatial and non-spatial changes during object exploration in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 82, 1–11.
- Pellow S, File SE (1986) Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 24, 525–529.
- Peña Y, Prunell M, Dimitsantos V, Nadal R, Escorihuela RM (2006) Environmental enrichment effects in social investigation in rats are gender dependent. *Behavioural Brain Research* 174, 181–187.
- Peña Y, Prunell M, Rotllant D, Armario A, Escorihuela RM (2009) Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology* 34, 1390–1404.
- Penke Z, Morice E, Veyrac A, Gros A, Chagneau C, Leblanc P, Samson N, Mansuy IM, Davis S, Laroche S (2014) Zif268 / Egr1 gain of function facilitates hippocampal synaptic plasticity and long-term spatial recognition memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 369, 1–9.
- Penley SC, Gaudet CM, Threlkeld SW (2013) Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury. *Journal of Visualized Experiments* 82, 1-7.

7. Bibliographie

Pereira de Vasconcelos A, Cassel J-C (2015) The nonspecific thalamus: A place in a wedding bed for making memories last? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 54, 175–196.

Pereira LO, Nabinger PM, Strapasson ACP, Nardin P, Gonçalves CAS, Siqueira IR, Netto CA (2009) Long-term effects of environmental stimulation following hypoxia-ischemia on the oxidative state and BDNF levels in rat hippocampus and frontal cortex. *Brain Research* 1247, 188–195.

Peyron C, Tighe D (1998) Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *Neuroscience* 18, 9996–10015.

Pilly PK, Grossberg S (2014) How does the modular organization of entorhinal grid cells develop? *Frontiers in Human Neuroscience* 8, 1-12.

Pinaud R, Tremere LA, Penner MR, Hess FF, Robertson HA, Currie RW (2002) Complexity of sensory environment drives the expression of candidate-plasticity gene, nerve growth factor induced-A. *Neuroscience* 112, 573–582.

Pitel AL, Perruchet P, Vabret F, Desgranges B, Eustache F, Beaunieux H (2010) The advantage of errorless learning for the acquisition of new concepts' labels in alcoholics. *Psychological Medicine* 40, 497–502.

Pitkänen A, Pikkarainen M, Nurminen N, Ylinen A (2000) Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. *Annals of the New York Academy of Sciences* 911, 369–391.

Ploughman M, Windle V, MacLellan CL, White N, Doré JJ, Corbett D (2009) Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats. *Stroke. Journal of Cerebral Circulation* 40, 1490–1495.

Porter M, Mair R (1997) The effects of frontal cortical lesions on remembering depend on the procedural demands of tasks performed in the radial arm maze. *Behavioural Brain Research* 87, 115–125.

Posner M, Konick A (1966) On the role of interference in short-term retention. *Journal of Experimental Psychology* 72, 221–231.

Postman L, Phillips LW (1965) Short-term temporal changes in free recall. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* 17, 132–138.

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.

Purvis CC, Duncan MJ (1997) Discrete thalamic lesions attenuate winter adaptations and increase body weight. *American Journal of Physiology* 273, 226–235.

Puurunen K (2001) Enriched-environment housing increases neuronal Fos-staining in the dentate gyrus after a water maze spatial learning task. *Neuropharmacology* 40, 440–447.

7. Bibliographie

- Rassnick S, Hoffman G, Rabin B, Sved A (1998) Injection of corticotropin-releasing hormone into the locus coeruleus or foot shock increases neuronal Fos expression. *Neuroscience* 85, 259–268.
- Ravenelle R, Santolucito HB, Byrnes EM, Byrnes JJ, Donaldson ST (2014) Housing environment modulates physiological and behavioral responses to anxiogenic stimuli in trait anxiety male rats. *Neuroscience* 270, 76–87.
- Reed J, Squire L (1998) Retrograde amnesia for facts and events: findings from four new cases. *The Journal of Neuroscience* 18, 3943–3954.
- Rempel-Clower NL, Zola SM, Squire LR, Amaral DG (1996) Three cases of enduring memory impairment after bilateral damage limited to the hippocampal formation. *Neuroscience* 16, 5233–5255.
- 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. *The Journal of Neuroscience* 29, 8206–8214.
- Riccio DC, Joyes RL (2007) Forgetting of stimulus attributes: Some implications for hippocampal models of memory. *Learning and Memory* 14, 430–432.
- Rich EL, Shapiro M (2009) Rat prefrontal cortical neurons selectively code strategy switches. *Neuroscience* 29, 7208–7219.
- Rijzingen V (1997) Postoperative Environmental Enrichment Attenuates Fimbria-Fornix Lesion-Induced Impairments in Morris Maze Performance. *Neurobiology of Learning and Memory* 28, 21–28.
- Roediger HL, Agarwal PK, McDaniel MA, McDermott KB (2011) Test-enhanced learning in the classroom: long-term improvements from quizzing. *Journal of Experimental Psychology Applied* 17, 382–95.
- Roozendaal B, Castello N a, Vedana G, Barsegyan A, McGaugh JL (2008) Noradrenergic activation of the basolateral amygdala modulates consolidation of object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 90, 576–579.
- Rosenberg T, Gal-Ben-Ari S, Dieterich DC, Kreutz MR, Ziv NE, Gundelfinger ED, Rosenblum K (2014) The roles of protein expression in synaptic plasticity and memory consolidation. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 7, 1-14.
- Rosenkranz JA, Grace AA (1999) Modulation of basolateral amygdala neuronal firing and afferent drive by dopamine receptor activation in vivo. *The Journal of Neuroscience* 19, 11027–11039.
- Rosenzweig M, Love W, Bennett E (1968) Effects of a few hours a day of enriched experience on brain chemistry and brain weights. *Physiology and Behavior* 3, 819–825.
- Rosenzweig MR, Bennett EL (1996) Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research* 78, 57–65.

7. Bibliographie

- Ross RS, Eichenbaum H (2006) Dynamics of hippocampal and cortical activation during consolidation of a nonspatial memory. *The Journal of Neuroscience* 26, 4852–4859.
- Rossi C, Angelucci A, Costantin L, Braschi C, Mazzantini M, Babbini F, Fabbri ME, Tessarollo L, Maffei L, Berardi N, Caleo M (2006) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. *The European Journal of Neuroscience* 24, 1850–1856.
- Rudy JW, Biedenkapp JC, O'Reilly RC (2005) Prefrontal cortex and the organization of recent and remote memories: an alternative view. *Learning and Memory* 12, 445–446.
- Saalmann YB (2014) Intralaminar and medial thalamic influence on cortical synchrony, information transmission and cognition. *Frontiers in Systems Neuroscience* 8, 1–8.
- Sah P, Faber ESL, Lopez De Armentia M, Power J (2003) The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological Reviews* 83, 803–834.
- Sampedro-Piquero P, Zancada-Menendez C, Begega a, Rubio S, Arias JL (2013) Effects of environmental enrichment on anxiety responses, spatial memory and cytochrome c oxidase activity in adult rats. *Brain Research Bulletin* 98, 1–9.
- Sandi C, Pinelo-Nava MT (2007) Stress and memory: behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plasticity* 2007, 1–20.
- Saper C, Loewy A (1980) Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research* 197, 291–317.
- 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 reveal the critical neuroanatomical substrates of memory dysfunction and recovery. *Neuropsychology Review* 22, 195–209.
- Save E, Poucet B (2009) Role of the parietal cortex in long-term representation of spatial information in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 91, 172–178.
- Schacter DL, Ochsner KN, Chiu C-YP (1993) Implicit memory: A selective review. *Annual Review of Neuroscience* 16, 59–82.
- Schmahmann JD (2003) Vascular syndromes of the thalamus. *Stroke; Journal of Cerebral Circulation* 34, 2264–2278.
- Schrijver NCA, Bahr NI, Weiss IC, Wu H (2002) Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. 73, 209–224.
- Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Neurology Neurosurgery and Psychiatry*. 20, 11–21.

7. Bibliographie

- Shallice T, Warrington EK (1970) Independent functioning of verbal memory stores: a neuropsychological study. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 22, 261–273.
- Sherman S M, Guillery RW (1998) On the actions that one nerve cell can have on another: distinguishing “drivers” from “modulators”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 7121–7126.
- Sherman S Murray (2005) Thalamic relays and cortical functioning. *Progress in Brain Research* 149, 107–126.
- Sherman S Murray (2007) The thalamus is more than just a relay. *Current Opinion in Neurobiology* 17, 417–422.
- Sherman S Murray, Guillery RW (2002) The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 357, 1695–1708.
- Sherman S Murray, Guillery RW (2011) Distinct functions for direct and transthalamic corticocortical connections. *Journal of Neurophysiology* 10, 1068–1077.
- Sherry D, Schacter D (1987) The evolution of multiple memory systems. *Psychological Review* 94, 439–454.
- Siapas AG, Lubenov E V, Wilson MA (2005) Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. *Neuron* 46, 141–151.
- Simonov PV (1972) On the role of the hippocampus in the integrative activity of the brain. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 34, 33–41.
- Simpson J, Kelly JP (2011) The impact of environmental enrichment in laboratory rats--behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research* 222, 246–264.
- Smith M Lou, Milner B (1981) The role of the right hippocampus spatial location in the recall of spatial location. *Neuropsychologia* 19, 781–793.
- Solstad T, Boccara C, Kropff E, Moser M, Moser E (2008) Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science* 1109, 1865–1868.
- Spangenberg EMF, Augustsson H, Dahlborn K, Essén-Gustavsson B, Cvek K (2005) Housing-related activity in rats: effects on body weight, urinary corticosterone levels, muscle properties and performance. *Laboratory Animals* 39, 45–57.
- Speisman RB, Kumar A, Rani A, Pastoriza JM, Severance E. J, Foster TC, Ormerod BK (2013) Environmental enrichment restores neurogenesis and rapid acquisition in aged rats. *Neurobiol Aging* 34, 263–274.
- Squire L, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Current Opinion in Neurobiology* 5, 169–177.

7. Bibliographie

Squire L, Zola-Morgan A (1991) Memory and brain. Oxford: Oxford University Press, 1–14.

Squire L.R, Zola-Morgan B, Murray G (1993) The structure and organization of memory. *Annual Review of Psychology* 44, 453–459.

Squire Larry R (2004) Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory* 82, 171–177.

Susser ER, Wallace RB (1982) The effects of environmental complexity on the hippocampal formation of the adult rat. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 42, 203–207.

Sutherland RJ, Hamilton DA (2004) Rodent spatial navigation: at the crossroads of cognition and movement. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28, 687–697.

Sweatt JD (2003) The Hippocampus Serves a Role in Multimodal Information Processing, and Memory Consolidation. In *Mechanisms of Memory*. San Diego: Academic Press, Elsevier

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

Tashiro A, Makino H, Gage FH (2007) Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *The Journal of Neuroscience* 27, 3252–3259.

Taub E, Uswatte G, Elbert T (2002) New treatments in neurorehabilitation founded on basic research. *Nature Reviews. Neuroscience* 3, 228–236.

Teubner B J W, Freeman DA (2007) Different neural melatonin-target tissues are critical for encoding and retrieving day length information in Siberian hamsters. *Journal of Neuroendocrinology* 19, 102–108.

Teubner Brett JW, Smith CD, Freeman DA (2008) Multiple Melatonin Target Tissues Mediate Termination of Photorefractoriness by Long Day Lengths in Siberian Hamsters. *Journal of Biological Rhythms* 23, 502–510.

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

Thomson AD, Guerrini I, Marshall EJ (2012) The evolution and treatment of Korsakoff's syndrome: out of sight, out of mind? *Neuropsychology Review* 22, 81–92.

Tierney PL, Dégenétais E, Thierry A-M, Glowinski J, Gioanni Y (2004) Influence of the hippocampus on interneurons of the rat prefrontal cortex. *The European Journal of Neuroscience* 20, 514–524.

Trouche S, Bontempi B, Roullet P, Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial

7. Bibliographie

memory. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America *106*, 5919–5924.

Tulving E (1972) Episodic and semantic memory. *In Organization of Memory*. E. Tulving and W. Donaldson (Eds.). New York: Academic Press.

Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B (2003) Do rats have a prefrontal cortex? Behavioural Brain Research *146*, 3–17.

Van der Werf YD, Scheltens P, Lindeboom J, Witter MP, Uylings HBM, Jolles J (2003) 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 Reviews Research *39*, 107–140.

Van Praag H, Kempermann G, Gage FH (1999) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. Nature America *2*, 266–170.

Van Praag H, Kempermann G, Gage FH (2000) Neural consequences of environmental enrichment. Nature Reviews. Neuroscience *1*, 191–198.

Van Praag Henriette (2008) Neurogenesis and exercise: past and future directions. Neuromolecular Medicine *10*, 128–140.

Vanderwolf C, Leung L, Cooley R (1985) Pathways through cingulate, neo-and entorhinal cortices mediate atropine-resistant hippocampal rhythmical slow activity. Brain Research *347*, 58–73.

Van Der Werf YD, Jolles J, Witter MP, Uylings HBM (2003) Contributions of thalamic nuclei to declarative memory functioning. Cortex, *39*, 1047–1062.

Vann SD, Brown MW, Aggleton JP (2000) Fos expression in the rostral thalamic nuclei and associated cortical regions in response to different spatial memory tests. Neuroscience *101*, 983–991.

Varela C, Kumar S, Yang JY, Wilson MA (2013) Anatomical substrates for direct interactions between hippocampus, medial prefrontal cortex, and the thalamic nucleus reuniens. Brain Structure and Function. *219*, 911–929.

Varela Carmen (2014) Thalamic neuromodulation and its implications for executive networks. Frontiers in Neural Circuits *8*, 1–22.

Vargha-Khadem F, Gadian G, Watkins KE, Connelly A, Paesschen W Van, Mishkin M (1997) Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. Science *277*, 376–380.

7. Bibliographie

- Varty G, Paulus M, Braff D, Geyer M (2000) Environmental enrichment and isolation rearing in the rat: effects on locomotor behavior and startle response plasticity. *Biological Psychiatry* 3223, 864–873.
- Vedovelli K, Silveira E, Velho E, Stertz L, Kapczinski F, Schröder N, Bromberg E (2011) Effects of increased opportunity for physical exercise and learning experiences on recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels in brain and serum of rats. *Neuroscience* 199, 284–291.
- Vertes P (2002) Analysis of projections from the medial prefrontal cortex to the thalamus in the rat, with emphasis on nucleus reuniens. *Journal of Comparative Neurology* 187, 163–187.
- Vertes P, Hoover WB, Rodriguez JJ (2012) Projections of the central medial nucleus of the thalamus in the rat: node in cortical, striatal and limbic forebrain circuitry. *Neuroscience* 219, 120–136.
- Vertes P (2004) Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 51, 32–58.
- Vertes P (2006) Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience* 142, 1–20.
- Vertes P, Hoover WB, Szigeti-Buck K, Leranth C (2007) Nucleus reuniens of the midline thalamus: link between the medial prefrontal cortex and the hippocampus. *Brain Research Bulletin* 71, 601–609.
- Vertes Robert P, 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 P, Linley SB, Hoover WB (2015) Limbic circuitry of the midline thalamus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1–19.
- Visser PJ, Krabbendam L, Verhey FR, Hofman PA, Verhoeven WM, Tuinier S, Wester A, Den Berg YW, Goessens LF, Werf YD, Jolles J (1999) Brain correlates of memory dysfunction in alcoholic Korsakoff's syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 67, 774–778.
- Vorhees CV, Williams MT (2014) Value of water mazes for assessing spatial and egocentric learning and memory in rodent basic research and regulatory studies. *Neurotoxicology and Teratology* 45C, 75–90.
- Walf AA, Frye CA (2007) The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols* 2, 322–328.
- Wallace CS, Withers GS, Ivan I, Weiler J, George JM, Clayton DF, Greenough WT (1995) Correspondence between sites of NGFI-A induction and sites of morphological plasticity following exposure to environmental complexity 32, 211–220.
- Warburton E, Morgan A, Baird A (1999) Does pretraining spare the spatial deficit associated with anterior thalamic damage in rats? *Behavioral Neuroscience* 113, 956–967.

7. Bibliographie

- Warrington E (1996) Studies of retrograde memory: a long-term view. *Proceedings of the National Academy of Sciences of America* 93, 13523–13526.
- Wartman BC, Holahan MR (2013) The use of sequential hippocampal-dependent and -non-dependent tasks to study the activation profile of the anterior cingulate cortex during recent and remote memory tests. *Neurobiology of Learning and Memory* 106, 334–342.
- Watkins M (1975) Inhibition in recall with extralist “cues.” *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* 303, 294–303.
- West MJ (2012) Introduction to stereology. *Cold Spring Harbor Protocols* 2012, 843–852 doi:10.1101/pdb.top070623.
- Will B, Galani R, Kelche C, Rosenzweig MR (2004) Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990–2002). *Progress in Neurobiology* 72, 167–182.
- Wilmot C, Sullivan A, Levin B (1988) Effects of diet and obesity on brain α 1- and α 2-noradrenergic receptors in the rat. *Brain Research* 453, 157–166.
- Wilson HD, Uhelski ML, Fuchs PN (2008) Examining the role of the medial thalamus in modulating the affective dimension of pain. *Brain Research* 1229, 90–99.
- Wiltgen BJ, Silva AJ (2007) Memory for context becomes less specific with time. *Learning and Memory* 14, 313–317.
- 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, Sekeres M (2007) Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nature Neuroscience* 10, 555–557.
- Wolff M, Loukavenko EA, Will BE, Dalrymple-Alford JC (2008a) The extended hippocampal-diencephalic memory system: enriched housing promotes recovery of the flexible use of spatial representations after anterior thalamic lesions. *Hippocampus* 18, 996–1007.
- Wolff M, Gibb SJ, Cassel J-C, Dalrymple-Alford JC (2008b) Anterior but not intralaminar thalamic nuclei support allocentric spatial memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 90, 71–80.
- Wolff M, Gibb SJ, Dalrymple-Alford JC (2006) Beyond spatial memory: the anterior thalamus and memory for the temporal order of a sequence of odor cues. *The Journal of Neuroscience* 26, 2907–2913.

7. Bibliographie

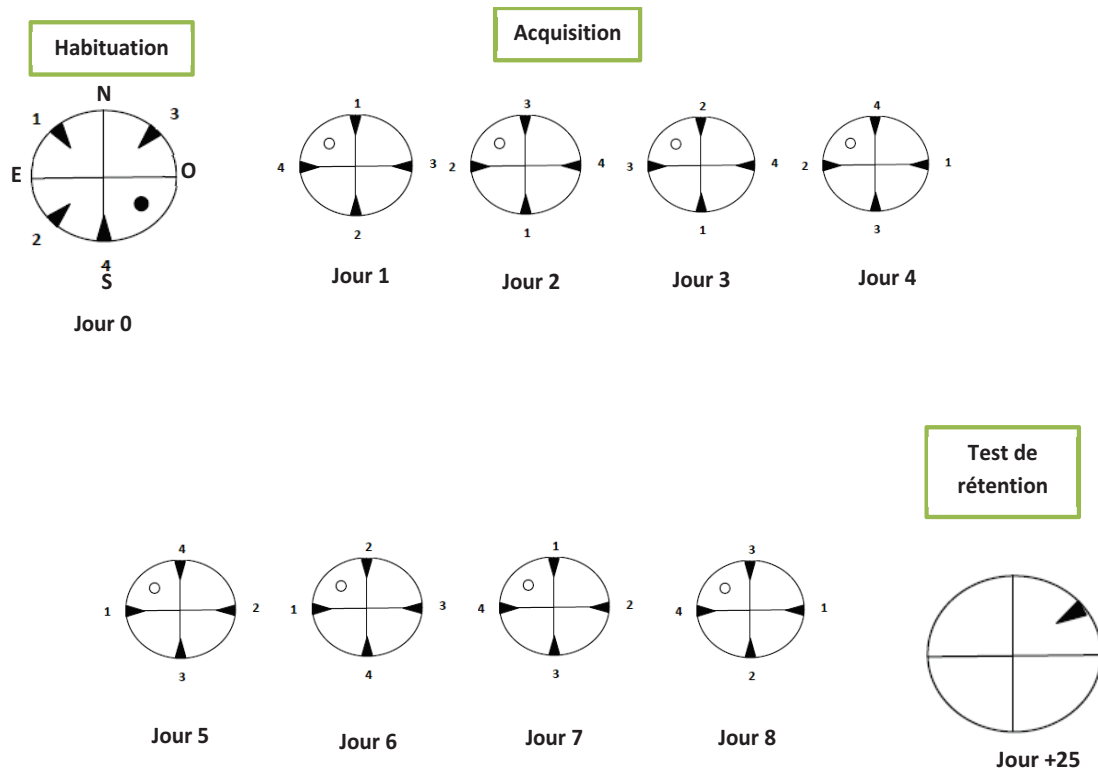
- Wouterlood FG, Saldana E, Witter MP (1990) Projection from the nucleus reuniens thalami to the hippocampal region: light and electron microscopic tracing study in the rat with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology* 296, 179–203.
- Wright RL, Conrad CD (2008) Enriched environment prevents chronic stress-induced spatial learning and memory deficits. *Behavioural Brain Research* 187, 41–47.
- Xu W, Sudhof T (2013) A Neural Circuit for Memory Specificity and Generalization. *Science* 339, 1290–1295.
- Yamada Y, Yamamoto M (1999) Differential expression of immediate-early genes, c-fos and zif268, in the visual cortex of young rats: effects of a noradrenergic neurotoxin on their expression. *Neuroscience* 92, 473–484.
- Yang G, Pan F, Gan W-B (2009) Stably maintained dendritic spines are associated with lifelong memories. *Nature* 462, 920–924.
- Yoon T, Otto T (2007) Differential contributions of dorsal vs. ventral hippocampus to auditory trace fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory* 87, 464–475.
- Zaehle T, Jordan K, Wüstenberg T, Baudewig J, Dechent P, Mast FW (2007) The neural basis of the egocentric and allocentric spatial frame of reference. *Brain Research* 1137, 92–103.
- Zaias J, Queeney TJ, Kelley JB, Zakharova ES, Izenwasser S (2008) Social and Physical Environmental Enrichment Differentially Affect Growth and Activity of Preadolescent and Adolescent Male Rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 47, 30–34.
- Zanatta MS, Quillfeldt JH, Schaeffer E, Schmitz PK, Quevedo J, Medina JH, Izquierdo I (1997) Involvement of the hippocampus, amygdala, entorhinal cortex and posterior parietal cortex in memory consolidation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 30, 235–240.
- Zhang D, Bertram E (2002) Midline thalamic region: widespread excitatory input to the entorhinal cortex and amygdala. *The Journal of Neuroscience* 22, 3277–3284.
- Zhang Y, Yoshida T, Katz DB, Lisman JE (2012) NMDAR antagonist action in thalamus imposes δ oscillations on the hippocampus. *Journal of Neurophysiology* 107, 3181–3189.
- Zhang Yue, 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.
- Zhong L, Yan C, Lu C, Xu J, Huang H (2009) Calmodulin activation is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. *Neurological Research* 31, 707–714.

7. Bibliographie

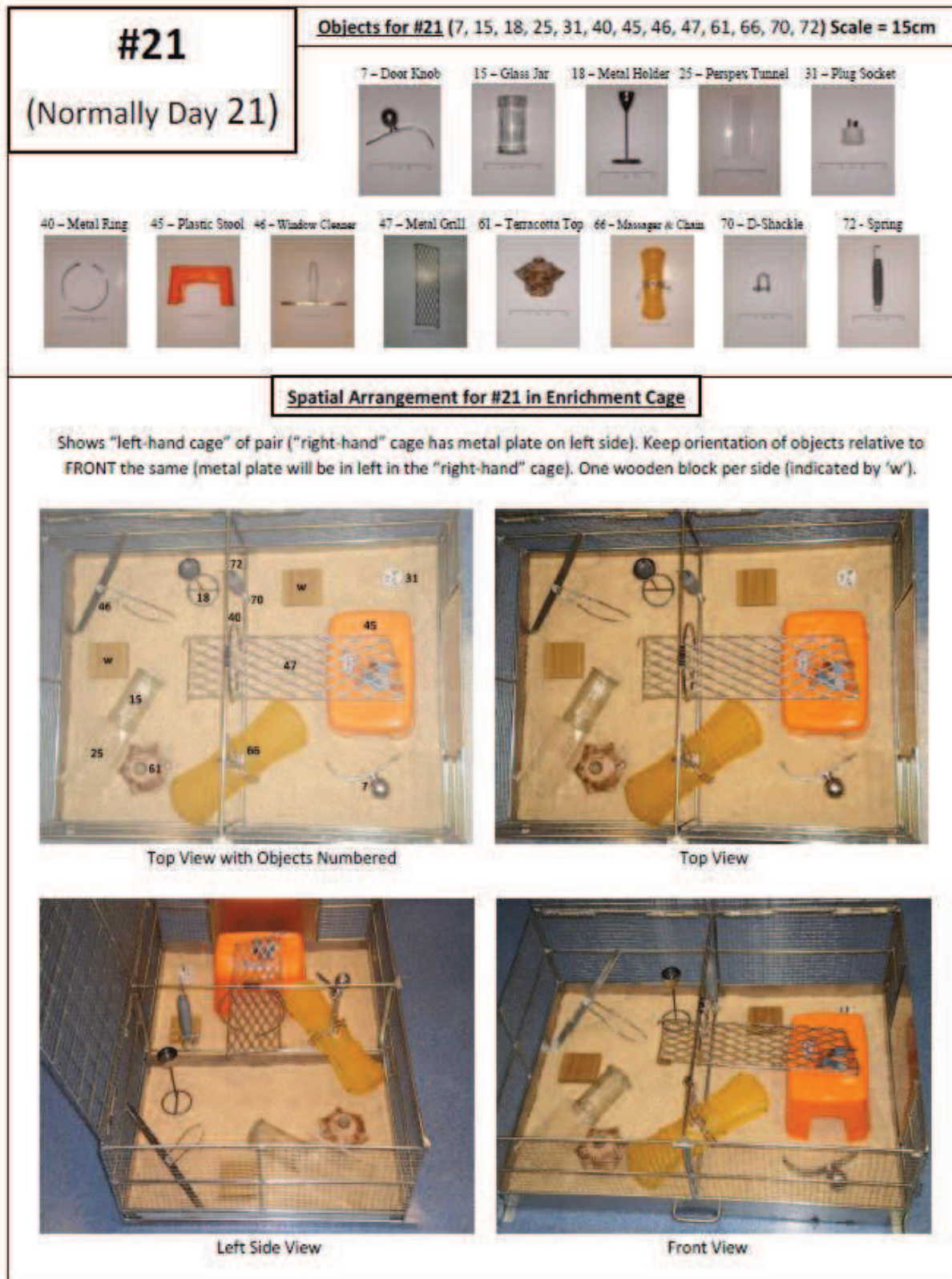
Zimmermann A, Stauffacher M, Langhans W, Wurbel H (2001) Enrichment-dependent differences in novelty exploration in rats can be explained by habituation. *Behavioural Brain Research* 121, 11–20.

Annexes

8. Annexes



Annexe 1 : Protocole de la mémoire spatiale de référence dans la piscine de Morris. Phase d'habitation : 4 essais/ 1 jour avec rideaux. Phase d'acquisition : 8 jours, 4 essais/ jour. Test de rappel spatial ancien : un essai de 60 sec, 25j après l'acquisition sans plateforme. Cercle rempli : plateforme visible. Cercle vide : plateforme cachée. Tête de flèche : pont de lâcher.



Annexe 2 : Exemple d’une configuration de l’environnement enrichi utilisée dans ce travail montrant l’arrangement des différents objets dans la cage, visualisée en quatre positions. Image extrait d’un protocole du milieu enrichi de l’équipe de Professor John C. Dalrymple-Alford et Dr Bruce Harland.


8. Annexes

#7


(Spouting Only)

Objects for #7 (79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 91, 92) Scale = 15cm


79 – Yjunction




80 – Yjunction




81 – Yjunction




82 – Tjunction




83 – Tjunction




84 – Tjunction




85 – 12cm Spout




86 – 12cm Spout




87 – 18cm Spout




88 – 18cm Spout




89 – 18cm Spout



91 – 24cm Spout

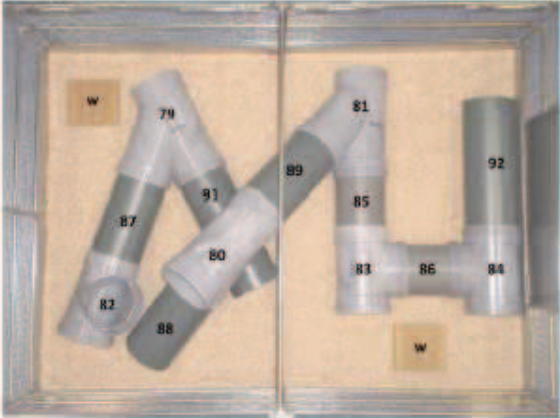


92 – 24cm Spout




Spatial Arrangement for #7 in Enrichment Cage


Shows “left-hand cage” of pair (“right-hand” cage has metal plate on left side). Keep orientation of objects relative to FRONT the same (metal plate will be in left in the “right-hand” cage). One wooden block per side (indicated by ‘w’).




Top View with Objects Numbered



Top View



Left Side View



Front View

Annexe 3 : Exemple d’une configuration uniquement avec des tuyaux.

Method for using multiple Enrichment Cages (four cages)

Day	Cage 1*	Cage 2*	Cage 3*	Cage 4*
1	1	2	3	4
2	2	3	4	5
3	3	4	5	6
4	4	5	6	7
5	5	6	7	1
6	6	7	1	2
7	7	1	2	3
8	8	8	8	8
9	9	10	11	12
10	10	11	12	13
11	11	12	13	14
12	12	13	14	15
13	13	14	15	9
14	14	15	9	10
15	15	9	10	11
16	16	16	16	16
17	17	18	19	20
18	18	19	20	21
19	19	20	21	22
20	20	21	22	23
21	21	22	23	17
22	22	23	17	18
23	23	17	18	19
24	24	24	24	24
25	25	26	27	28
26	26	27	28	29
27	27	28	29	30
28	28	29	30	31
29	29	30	31	25
30	30	31	25	26
31	31	25	26	27
32	32	32	32	32
33	33	34	35	36
34	34	35	36	37
35	35	36	37	38
36	36	37	38	39
37	37	38	39	33
38	38	39	33	34
39	39	33	34	35
40	40	40	40	40

* Numbers in the columns refer to configurations to use on that day for that cage.

Note: Day 8, 16, 24, 32 and 40 are "no-object" days for any cage (move cage in room every fourth day).

Annexe 4 : Exemple pour l'utilisation de plusieurs cages d'enrichissement pour une période de 40 jours, ainsi que l'ordre de l'exposition de chaque configuration dans chaque cage enrichi.