



**HAL**  
open science

# Neurogenèse adulte hippocampique : Rôle fonctionnel dans la mémoire épisodique et recrutement des nouveaux neurones lors de la mémorisation

Alexandra Gros

► **To cite this version:**

Alexandra Gros. Neurogenèse adulte hippocampique : Rôle fonctionnel dans la mémoire épisodique et recrutement des nouveaux neurones lors de la mémorisation. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français. NNT : 2015PA11T051 . tel-02927787

**HAL Id: tel-02927787**

**<https://theses.hal.science/tel-02927787>**

Submitted on 2 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE 419 - BIOSIGNE

Laboratoires : Centre de Neurosciences Paris-Sud (CNPS)  
& Institut des Neurosciences Paris-Saclay (Neuro-PSI)

## Thèse de DOCTORAT

Discipline : Neurosciences

Soutenue le 28 Septembre 2015  
par

**Alexandra Gros**

**Neurogenèse adulte hippocampique : Rôle fonctionnel dans  
la mémoire épisodique et recrutement des nouveaux  
neurones lors de la mémorisation**

Directeur de thèse	Serge Laroche	Directeur de recherche (CNRS UMR9197, Orsay)
Co-directrice de thèse	Alexandra Veyrac	Chargée de recherche (CNRS UMR5292, Lyon)
Président de Jury	Hervé Daniel	Professeur (CNRS UMR9197, Orsay)
Rapporteurs	Claire Rampon	Directrice de recherche (CNRS UMR5169, Toulouse)
	Bruno Bontempi	Directeur de recherche (CNRS UMR5228, Bordeaux)
Examinatrice	Laure Rondi-Reig	Directrice de recherche (CNRS UMR8246, Paris)



# Remerciements

---

Les premiers mots de cette thèse sont également les derniers que j'écris et je dois avouer que c'est un grand moment de soulagement. Ces derniers mots marquent la fin d'un travail prenant mais passionnant et surtout la fin de 4 (longues ?) années de doctorat. Ils sont l'occasion de remercier toutes les personnes qui m'ont supportée, soutenue, réconfortée, encouragée et aidée à mener à bien ce travail de thèse.

Je tiens tout d'abord à exprimer tous mes remerciements à Serge Laroche pour m'avoir offert la possibilité d'intégrer ce laboratoire il y a déjà plus de 5 ans et d'avoir pu travailler sur ce projet tellement passionnant. Je tiens à lui exprimer ici toute ma gratitude pour m'avoir encadré, supporté et accordé sa confiance et son soutien sans faille même quand il n'avait pas toujours le temps !

Je tiens également à remercier très chaleureusement Alexandra Veyrac (Alex grande) pour m'avoir formée, guidée, supportée, pour m'avoir poussé toujours plus loin et d'avoir été là dans les coups durs pour me remonter le moral. Merci pour tout (et encore plus !), de t'être investie sans réserve dans ma formation et surtout de m'avoir fait grandir et merci pour ton amitié !

Je remercie l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté de faire partie de mon jury et d'évaluer mon travail de thèse. Je suis sûre que votre expertise apportera un regard pertinent à ce travail.

Je remercie également l'ED419 de l'Université Paris-Sud XI, la Fondation pour la Recherche Médicale ainsi que l'Agence Nationale de la Recherche pour le financement de cette thèse.

Je tiens ensuite à remercier Nadine Ravel, merci pour ton soutien, ton optimisme sans faille et toutes nos discussions autour de la cage pour faire avancer toujours plus loin les manips. Ce fut très enrichissant pour moi et je suis sûre que ça ne va pas s'arrêter là, il y a encore tellement à faire sur cette cage !

Je tiens également à remercier toute l'équipe technique de Lyon, et surtout Belkacem, pour avoir fabriqué de A à Z cette incroyable cage (même si je n'ai pas toujours dit ça et que j'ai voulu la passer par la fenêtre plus d'une fois...). Merci milles fois Belkacem d'avoir répondu présent à chaque fois que j'ai eu besoin d'un coup de main au dernier moment même en plein week-end !

Je remercie Marc-André pour la réalisation des irradiations, sa gentillesse et sa disponibilité.

Je remercie chaleureusement Alexandra Bisioti (Alex mini) qui m'a apporté le coup de main nécessaire à la réalisation de la fin de cette thèse. Thank you so much Alex, it was a pleasure to work with you ! OK Alex !

Je remercie bien sûr toute l'équipe animalerie pour leurs bons soins aux animaux et tout particulièrement Fabien et Céline pour avoir si bien pris soin de mes loulous et des mascottes. On a rarement vu des rats plus détendus !

Je remercie Nathalie pour tous les coups de main, d'avoir toujours répondu présente malgré les imprévus et pour nos discussions du matin ! Merci également à Bruno, pour les coups de mains informatiques et les discussions sport mais aussi parfois sciences ! J'en profite également pour remercier toutes les filles du secrétariat (Audrey, Annie, Michelle, Nathalie, Stéphanie et Véronique) que j'ai beaucoup embêté durant ces années, merci pour votre aide pour les commandes et autres contrats !

Je tiens à remercier toutes les personnes du ex-CNPS qui m'ont soutenu pendant la réalisation de cette thèse : Jean-Marc (merci pour tes outils et ton soutien et non ce n'est pas ma faute si les

animaux meurent quand je rentre dans la pièce... !), Cyrille (merci pour les conseils de stat et autres), Roseline, Valérie, Greg, Sabrina, Alexis, Fred (merci pour les conseils pour l'écriture), Anne, Sylvie, Arnaud, Boris, Chloé (merci pour le prêt du blouson de moto), Pascale, Jean-Vianney, Sandrine et Véronique.

Je remercie très chaleureusement toute l'équipe d'enseignement pour ces 3 années de monitorat. Mica, Heather et Laurence, merci pour votre bonne humeur et vos conseils, ce fut un plaisir de travailler à vos côtés, j'ai beaucoup appris de cette expérience d'enseignement ! Je remercie également tous les moniteurs (Amina, Amine, Amandine, Laura, Pilou, Quentin, Rémi, Romain, Steeve, Thomas et Yannick) pour avoir rendu cette expérience particulièrement agréable !

Je tiens maintenant à remercier comme il se doit tous mes compagnons de galère qui ont réussi à me supporter pendant 5 longues années pour certains (oui je sais ce n'est pas toujours facile, désolée) :

Quentin, il y a tellement à dire... Un grand merci d'avoir toujours été là dans les bons moments mais surtout pour mes coups de déprime quand la cage ne marchait pas (même depuis Oxford) et d'avoir réussi à me remonter le moral, le mercredi n'est toujours pas mon jour !

Amina, pour avoir été ma compagne de galère lors des corrections de copies dans un bâtiment de TP vide, les relectures de thèse à minuit, les MacDo à 23h sur le parking, pour m'avoir gardé Bouba, les pauses thé, nos discussions et tant d'autres choses ! Combien de sucres dans ton thé ?

Nico, merci de m'avoir supporté dans cette dernière année difficile, nos pauses gâteaux, nos coups de moins bien respectif à nous plaindre, pour m'avoir fait reprendre le badminton, pour m'avoir toujours donné de bons (?) conseils et surtout de m'avoir permis de tenir dans cette dernière année ! Tu mérites ce poste, tiens bon !

Steeve, pour nos discussions enflammées sur tout et n'importe quoi, les blagues pas toujours drôles, les soirées costumées (A quand la prochaine ?) et pour avoir été mon compagnon d'immuno avec Céline ! Et oui Excel peut disparaître tout seul mais je l'ai retrouvé depuis !

Pilou, pour tous les barbecues chez toi, ton soutien sans faille, les remises en question à pas d'heure ! Bon vent pour cette nouvelle aventure en Allemagne !

Amel, pour toutes nos discussions tardives autour d'un verre et nos remises en questions. J'espère que tes chaussures ne seront pas trouées cette fois pour que tu puisses venir à ma soutenance !

Romain, merci de m'avoir supportée à la salle de sport mais également en dehors malgré nos chamailleries ! Merci aussi et surtout pour tout le reste !

Rémi, pour m'avoir supportée dans le même bureau pendant 3 ans (et ce n'est pas peu dire), pour les coups de main informatique, nos discussions scientifiques ou non d'ailleurs et pour avoir été mon fournisseur de gâteaux, chocolat, thé et autres drogues que je passerais sous silence ! Courage, c'est bientôt ton tour !

Juliette, merci d'avoir alimenté la rumeur avec moi et d'être ma compagne du permis moto ! Tu vois on a réussi à le passer ce code !

Clément (pardon Docteur Cornec), bon vent pour la suite et profite à fond de cette année en terres australes !

Florian, pour nos discussions le soir et le week-end à nous plaindre et où on n'arrive jamais à être d'accord ! Courage, c'est bientôt la fin pour toi aussi !

Xavier, malgré ton passage éclair au labo, merci pour les fous rires avec la danse escalade, tes codes incompréhensibles et tes décrochages en plein milieu de nos conversations. Bravo pour ton poste et reste dans la lune, ça te va si bien !

Kambiz, pour nos conversations de 3h dans le bureau à refaire les sciences et le monde. Tu as cruellement manqué au bureau à la fin !

SuMen, It was a pleasure to share the office with you and thank you for the food! I am your rat for future studies if you give me some Popcorn! Courage !

Florence, pour avoir partagé pendant un temps notre bureau et d'avoir apporté ta bonne humeur. A quand le prochain concert ?

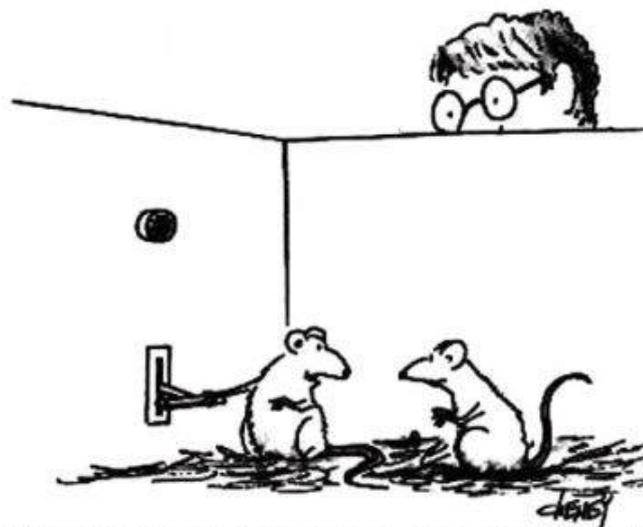
Je tiens également à remercier tous les autres « jeunes » : Pierre (merci de m'avoir ouvert les yeux sur mon état), Jonathan (merci pour tous tes bons conseils), Ophélie, Charlotte C., Charlotte L., Lucille, Nathalie, Konstantina, Elina, Victor, Elsa, Claire, Isabelle, Mehdi, Yonane.

Et parce qu'il y a une vie en dehors de la thèse, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont permis de sortir de temps en temps la tête de ma thèse :

Allison, merci d'avoir réussi à me faire décrocher le temps d'une journée sur Paris et merci de me supporter depuis si longtemps ! Promis je vais avoir plus de temps maintenant ! Pierre, merci de m'avoir accueillie dans le Sud et de m'avoir supportée ! Gaetan, Louis, Yves, Gweno, Fanny, Hugo, Marc, merci de toujours être là quand j'ai eu besoin de m'aérer la tête ! Merci également à Aymeric, Bryan, Camille, Clara, Clémentine et Margareth, mes acolytes de prépa. A quand le prochain week-end retrouvaille ?! Merci également à Emilien pour son soutien durant ces derniers mois.

Ces remerciements ne seraient pas complets si je n'inclusais pas mes loulous, sans eux ce travail n'aurait pas été possible alors un grand merci à eux !

Enfin, je remercie du fond du cœur toute ma famille qui m'a toujours supportée toutes ces années et surtout à mes parents et mon frère. Il y a tellement de merci à vous dire... Merci de votre soutien indéfectible durant ces longues années d'étude, de m'avoir forcée à sortir la tête de ma thèse et de m'avoir apportée le réconfort nécessaire lors des moments de doute et tout le reste. Sans vous rien de tout ça n'aurait été possible et cette thèse c'est aussi un peu la vôtre !



It's a rather interesting phenomenon. Every time I press this lever, that post-graduate student breathes a sigh of relief.



*A mes grands-parents,*



# Table des matières

---

<b>Table des figures &amp; tableaux.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie 1 : Neurogenèse adulte et mémoire épisodique .....</b>	<b>5</b>
<b>Chapitre 1 : La mémoire .....</b>	<b>7</b>
I. Processus mnésiques et mécanismes .....	7
A. Généralités .....	7
B. Mécanismes neurobiologiques.....	9
C. Modèles de consolidation systémique .....	12
D. Reconsolidation .....	15
II. Hippocampe et mémoire .....	16
A. Organisation anatomique de l'hippocampe.....	16
B. Organisation anatomique du gyrus denté .....	18
C. Rôle de l'hippocampe dans les processus mnésiques .....	20
1. Hippocampe et mémoire spatiale .....	21
2. Sous-régions fonctionnelles de l'hippocampe .....	23
3. Rôle du GD dans les processus mnésiques .....	24
D. Potentialisation à long terme dans l'hippocampe .....	25
E. La PLT : un modèle de mécanismes de la mémorisation .....	29
<b>Chapitre 2 : La neurogenèse adulte hippocampique .....</b>	<b>31</b>
I. Un nouveau type de plasticité cérébrale .....	31
A. Histoire de la découverte de la neurogenèse .....	31
B. La neurogenèse adulte dans le règne animal .....	34
1. Chez les invertébrés .....	34
2. Chez les vertébrés non mammifères .....	34
3. Chez les vertébrés mammifères .....	36
C. Foyers neurogéniques dans le cerveau adulte .....	37
II. Mécanismes de la neurogenèse hippocampique adulte .....	39
A. Origine de la neurogenèse .....	40
B. Niche neurogénique .....	42
C. Maturation des nouveaux neurones .....	44
1. Expression des marqueurs de maturation neuronale .....	45
2. Migration au sein de la couche granulaire .....	46
3. Sélection des nouveaux neurones .....	47
4. Maturation morphologique .....	47
5. Maturation et intégration fonctionnelle .....	49
6. Des propriétés électrophysiologiques particulières .....	52
D. Cellules granulaires matures .....	54
III. Régulation de la neurogenèse hippocampique adulte .....	55
A. Facteurs intrinsèques .....	56
1. Influence du fond génétique .....	56
2. Programmes cellulaires intrinsèques .....	56
3. Programmes épigénétiques.....	57
4. Facteurs de transcription .....	59
B. Facteurs extrinsèques .....	60
1. Les neuromédiateurs .....	60
2. Les hormones .....	62
3. Les facteurs de croissance .....	64

4. Les drogues .....	64
5. L'âge .....	65
6. Les stimulations environnementales .....	66
<b>Chapitre 3 : Neurogenèse adulte et mémoire .....</b>	<b>69</b>
I. Corrélations entre neurogenèse adulte hippocampique et performances mnésiques.....	69
II. Blocage de la neurogenèse.....	70
III. Influence de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte hippocampique .....	80
IV. Recrutement des nouveaux neurones hippocampiques par les processus mnésiques et période critique .....	86
V. Séparation de patterns.....	88
<b>Chapitre 4 : La mémoire épisodique.....</b>	<b>91</b>
I. Définition.....	91
II. Et chez l'animal ? .....	92
III. Les rongeurs de laboratoire .....	96
<b>Objectifs.....</b>	<b>103</b>
<b>Résultats .....</b>	<b>105</b>
I. Une nouvelle tâche de mémoire épisodique .....	105
A. Dispositif expérimental .....	106
B. Les rats sont capables de former des souvenirs épisodiques à très long terme .....	108
C. Rappel des épisodes dans une situation interférente.....	109
D. Réseau neuronal impliqué dans le rappel épisodique .....	109
II. Article 1 : « Memory of occasional events in rats : Individual episodic memory profiles, flexibility, and neural substrate » .....	111
III. Le blocage de la neurogenèse adulte hippocampique perturbe-t-il la mémoire épisodique ?.....	125
A. Modèle de blocage de la neurogenèse adulte .....	125
1. Protocole de blocage de la neurogenèse adulte .....	125
2. Validation du modèle d'irradiation .....	126
B. Effets de l'irradiation focale sur les performances dans une tâche de mémoire épisodique....	130
C. Corrélations entre neurogenèse hippocampique et performances lors du test de rappel de la mémoire épisodique .....	142
D. Réseau neuronal activé après le rappel en test à 4 ports de la mémoire épisodique.....	143
E. Corrélations entre activation du réseau neuronal et performances lors du test de rappel de la mémoire épisodique .....	146
<b>Partie 2 : Zif268, neurogenèse et mémoire.....</b>	<b>149</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>151</b>
I. Le gène immédiat précoce <i>Zif268</i> .....	152
A. Le découverte de <i>Zif268</i> .....	152
B. Expression de <i>Zif268</i> dans le cerveau adulte .....	153
1. Expression basale de <i>Zif268</i> .....	153
2. Induction de l'expression de <i>Zif268</i> .....	155
C. Gènes cibles du facteur de transcription <i>Zif268</i> .....	155
D. Les différents rôles biologiques de <i>Zif268</i> .....	157
II. <i>Zif268</i> et plasticité synaptique .....	158
A. Potentialisation à long terme.....	158
B. Autres formes de plasticité.....	160
III. <i>Zif268</i> et mémoire.....	161
A. Apprentissage et consolidation mnésique .....	161
1. <i>Zif268</i> et conditionnement de peur .....	161

2. <i>Zif268</i> et mémoires non spatiales.....	163
3. <i>Zif268</i> et mémoires spatiales.....	165
B. <i>Zif268</i> et consolidation systémique.....	167
C. Reconsolidation mnésique.....	168
IV. <i>Zif268</i> et neurogenèse hippocampique.....	169
<b>Objectifs.....</b>	<b>173</b>
<b>Résultats.....</b>	<b>175</b>
I. Le gène <i>Zif268</i> contrôle la sélection des nouveaux neurones durant une période critique de leur maturation.....	175
II. Le gène <i>Zif268</i> contrôle la maturation fonctionnelle et morphologique des nouveaux neurones.....	176
III. Le gène <i>Zif268</i> contrôle le recrutement des nouveaux neurones dans les réseaux impliqués dans les processus mnésiques.....	177
IV. Article 2 : <i>Zif268/Egr1</i> controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning.....	178
<b>Discussion générale.....</b>	<b>191</b>
I. Mécanismes de consolidation d'une mémoire épisodique chez le rongeur.....	193
A. Une nouvelle tâche de mémoire épisodique.....	193
B. Réseau cérébral impliqué dans le rappel épisodique.....	200
C. Implication de la neurogenèse adulte hippocampique.....	205
D. Planification et mémoire prospective.....	214
II. Le gène <i>Zif268</i> , mécanisme de recrutement des nouveaux neurones.....	216
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>223</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>292</b>
<b>Liste des publications et communications.....</b>	<b>294</b>
<b>Listes des abréviations.....</b>	<b>296</b>
<b>Article 3.....</b>	<b>297</b>







# Table des figures & tableaux

---

## Figures

- Figure 1** : Classement des différents types de mémoire
- Figure 2** : Modèle standard de la consolidation systémique
- Figure 3** : Organisation structurale de la formation hippocampique
- Figure 4** : Organisation cyto-architecturale du gyrus denté de l'hippocampe
- Figure 5** : Représentation schématique des principales étapes des mécanismes moléculaires de la plasticité synaptique
- Figure 6** : Marquage de cellules nouvellement formées grâce à la technique de la radiographie de la thymidine tritiée dans le GD de l'hippocampe de rat adulte
- Figure 7** : Marquage de cellules nouvellement formées grâce à l'utilisation de la BrdU dans le GD de l'hippocampe de rongeur
- Figure 8** : Principales zones neurogéniques dans le cerveau adulte des rongeurs
- Figure 9** : La neurogenèse adulte du bulbe olfactif
- Figure 10** : Neurogenèse du GD de l'hippocampe
- Figure 11** : Modèle du lignage cellulaire permettant la genèse des nouveaux neurones dans la SGZ du GD de l'hippocampe
- Figure 12** : Architecture de la niche neurogénique du GD de l'hippocampe
- Figure 13** : Marquage de cellules nouvellement formées par l'approche rétrovirale et transgénique
- Figure 14** : Expression de différents marqueurs au cours de la maturation des nouveaux neurones dans le GD
- Figure 15** : Maturation morphologique des nouveaux neurones du GD
- Figure 16** : Intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe
- Figure 17** : Les nouveaux neurones présentent des propriétés électrophysiologiques particulières
- Figure 18** : Régulation des différentes étapes de la neurogenèse hippocampique adulte
- Figure 19** : Régulation des différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique par les neurotransmetteurs
- Figure 20** : Régulation des étapes de la neurogenèse adulte hippocampique par différentes modifications environnementales
- Figure 21** : Influence de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte hippocampique
- Figure 22** : Période critique d'intégration des nouveaux neurones hippocampiques
- Figure 23** : Neurogenèse et séparation de patterns
- Figure 24** : Paradigme expérimental utilisé par Clayton et Dickinson sur le geai buissonnier
- Figure 25** : Paradigme expérimental utilisé par Jozet-Alves et coll. sur le poulpe
- Figure 26** : Paradigme expérimental utilisé par Babb & Crystal chez le rongeur
- Figure 27** : Paradigme expérimental utilisé par Dere et coll. sur les rongeurs
- Figure 28** : Paradigme expérimental utilisé par Ergorul et coll. sur les rongeurs
- Figure 29** : Paradigme expérimental utilisé par Fouquet et coll. sur les rongeurs

- Figure 30** : Paradigme expérimental utilisé par Eacott & Norman sur les rongeurs
- Figure 31** : Irradiation focale de la région incluant l'hippocampe chez le rat
- Figure 32** : Expression de  $\gamma$ H2AX dans le GD environ 2 heures après une séance d'irradiation
- Figure 33** : Poids des animaux durant toute la procédure
- Figure 34** : Régions d'analyse de l'expression de DCX dans le GD de l'hippocampe
- Figure 35** : Blocage de la neurogenèse hippocampique par irradiation
- Figure 36** : Effet de l'irradiation sur la neurogenèse du bulbe olfactif
- Figure 37** : Protocole comportemental utilisé pour tester les performances en mémoire épisodique chez les rats Sham et irradiés
- Figure 38** : Consommation d'eau par les rats Sham et irradiés
- Figure 39** : Performances des rats Sham et irradiés avant l'exposition aux épisodes
- Figure 40** : Performances des rats Sham et irradiés lors de l'exposition aux épisodes E1 et E2
- Figure 41** : Consommation de sucre et de quinine par les rats Sham et irradiés
- Figure 42** : Performances des rats Sham et irradiés lors des 12 essais du rappel en test interférent à 4 ports de l'épisode E2, 24 heures après la fin des épisodes
- Figure 43** : Performances individuelles des rats Sham et irradiés lors des 12 essais du test de rappel à 4 ports de l'épisode E2
- Figure 44** : Analyse des performances individuelles des rats Sham et irradiés dans le test de mémoire épisodique
- Figure 45** : Corrélations entre la consommation de sucre et de quinine lors de l'exposition aux épisodes et les performances des rats sur le bon port du contexte testé avec la bonne odeur
- Figure 46** : La force et la précision de la mémoire épisodique sont diminuées en l'absence de neurogenèse adulte hippocampique
- Figure 47** : Corrélations entre le niveau de neurogenèse de l'hippocampe dorsal et les performances des rats sur le bon port du contexte testé avec la bonne odeur (P+O+IC)
- Figure 48** : Expression de c-Fos et Zif268 dans les différentes structures cérébrales analysées
- Figure 49** : Corrélations entre les performances des rats lors du test de rappel à 4 ports sur la configuration P+O+IC et l'activation du réseau neuronal en c-Fos
- Figure 50** : Représentation schématique des quatre membres de la famille des *Egr*
- Figure 51** : Expression basale de la protéine Zif268 dans différentes aires du cerveau de souris
- Figure 52** : L'expression de *Zif268* est dépendante de l'activité des récepteurs NMDA
- Figure 53** : L'induction d'une PLT dans l'hippocampe induit une expression robuste de *Zif268*
- Figure 54** : Expression basale de Zif268 dans des nouveaux neurones du GD
- Figure 55** : Induction de l'expression de Zif268 dans des nouveaux neurones du GD
- Figure 56** : La neurogenèse adulte hippocampique permet d'améliorer la résolution d'un souvenir complexe
- Figure 57** : Rôle du gène *Zif268* dans la maturation des nouveaux neurones, leur sélection et leur recrutement lors d'une mémoire spatiale

## **Tableaux**

**Tableau 1 :** Effets du blocage de la neurogenèse adulte hippocampique par des méthodes chimiques sur les processus mnésiques

**Tableau 2 :** Effets du blocage de la neurogenèse adulte hippocampique par irradiation sur les processus mnésiques

**Tableau 3 :** Effet du blocage génétique de la neurogenèse adulte hippocampique sur les processus mnésiques

**Tableau 4 :** Influences de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte hippocampique



# **Partie 1**

## Neurogenèse adulte et mémoire épisodique



# Chapitre 1

---

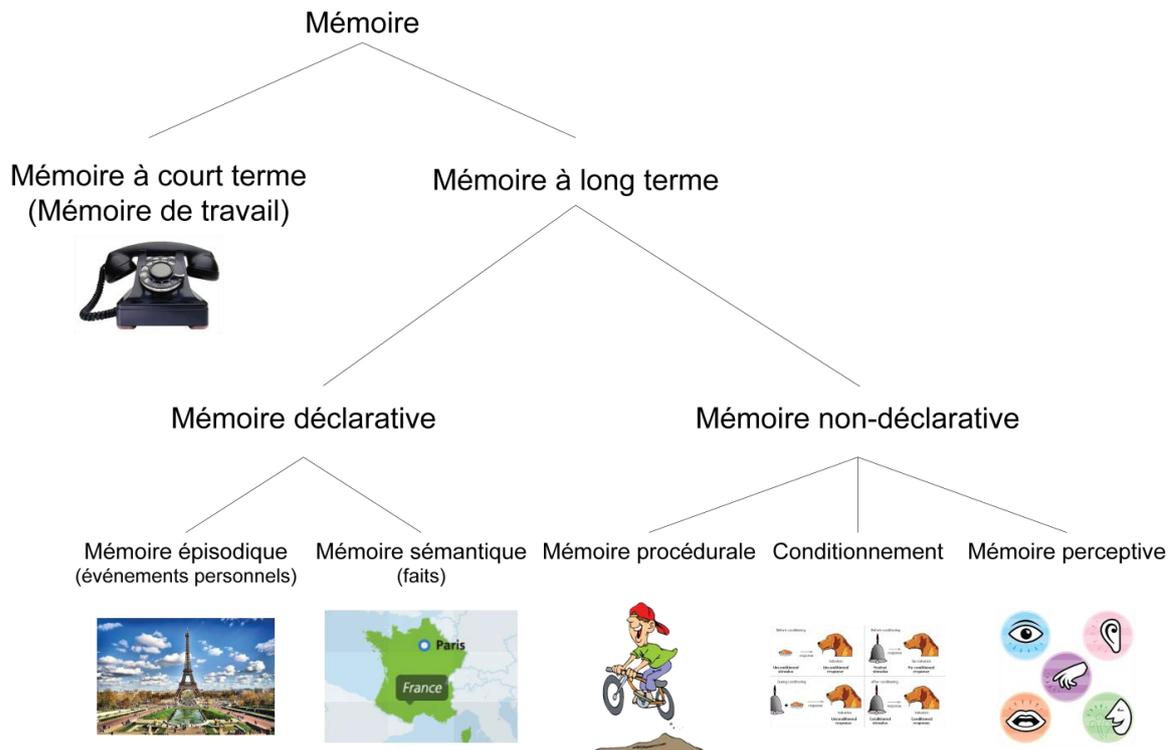
## La mémoire

La mémoire permet d'enregistrer des informations en provenance d'expériences et d'événements divers, de les conserver et de les restituer à plus ou moins long terme. Comment les souvenirs sont-ils encodés dans le cerveau ? Grâce à quel substrat et selon quels mécanismes ? L'information est-elle enregistrée de façon rapide et dans quels circuits neuronaux ? Comment les souvenirs peuvent-ils être conservés à très long terme ? Existe-t-il une limite au stockage de l'information ? Existe-t-il un oubli des informations et si oui à quelle vitesse et par quels mécanismes ? Autant de questions qui restent encore aujourd'hui un défi majeur des Neurosciences même si les recherches dans ce domaine ont abouti ces dernières années à des avancées considérables dans la connaissance des mécanismes neuronaux qui permettent de conserver une trace de nos expériences passées et de construire une représentation du monde qui nous entoure, des fonctions essentielles à nos capacités d'anticipation et d'adaptation à notre environnement.

### I. Processus mnésiques et mécanismes

#### A. Généralités

Tout au long de notre vie, nous apprenons et mémorisons de nombreuses informations différentes qui participent à notre construction individuelle. La mémoire est la capacité qu'à notre cerveau d'enregistrer, stocker et récupérer des informations spécifiques pour les réutiliser ultérieurement. Le traitement de l'information en mémoire a également un rôle reconstructif puisqu'il permet de modifier et de mettre à jour les traces mnésiques au cours du temps. Néanmoins, la mémoire ne constitue pas une entité unique mais elle est composée d'un ensemble de sous-systèmes de mémoire (voir pour revue Squire & Dede 2015). Ceci a été mis en évidence grâce à des études de neuropsychologie chez des patients ayant des lésions des structures du lobe temporal médian (LTM) (Tulving, 1985a; Eichenbaum & Cohen, 2004; Squire & Dede, 2015). Aujourd'hui, on distingue plusieurs formes de mémoire. Une première distinction peut être faite en fonction du temps de conservation du souvenir (Figure 1) : on distingue la mémoire à court terme voire à très court terme (secondes, minutes, heures), la mémoire à long terme (jours, semaines) et la mémoire ancienne (mois, années).



**Figure 1 : Classement des différents types de mémoire**

On distingue la mémoire à court terme ou mémoire de travail de la mémoire à long terme. La mémoire déclarative est constituée de la mémoire sémantique qui fait référence aux connaissances générales (ex. la capitale de la France est Paris) et de la mémoire épisodique qui fait référence aux souvenirs d'événements personnels (ex. le voyage que j'ai fait à Paris en été). La mémoire non-déclarative est constituée de la mémoire procédurale qui fait référence aux automatismes et procédures (ex. faire du vélo), le conditionnement (ex. conditionnement de Pavlov) et la mémoire perceptive qui fait référence aux modalités sensorielles (ex. reconnaître un visage ou un son).

La mémoire à court terme est plus couramment appelée **mémoire de travail** dans laquelle l'information est encodée de façon non permanente pendant quelques secondes voire quelques minutes, par exemple lorsqu'il s'agit de mémoriser un numéro de téléphone avant de le noter. C'est la mémoire du présent et nous la sollicitons en permanence même si elle ne prend pas en charge le stockage de l'information sur le long terme. C'est une forme de mémoire labile qui nécessite l'autorépétition de l'information sous peine de perdre cette information. Lorsque l'information est consolidée à long terme, la trace mnésique passe dans un état plus stable disponible pour le rappel à long terme. Le processus qui permet de passer d'une mémoire labile à une mémoire stabilisée se nomme la **consolidation mnésique** (Squire & Alvarez, 1995; Nader & Hardt, 2009). Il est intéressant de noter que l'information rappelée peut être qualitativement différente de celle qui a été acquise puisqu'il existe de nombreuses variables liées à l'individu qui peuvent influencer la mémorisation et le rappel du souvenir (stress, émotions, vécu personnel, savoir-faire, etc.) (Bartlett 1932).

A long terme, on distingue les mémoires non déclaratives ou implicites, constituées des informations acquises implicitement (conditionnement, apprentissage non associatif,

amorçage, mémoire procédurale et mémoire perceptive), des mémoires déclaratives ou explicites (mémoire sémantique et épisodique). La **mémoire procédurale** est la mémoire des automatismes et des procédures (conduire une voiture, faire du vélo, routines cognitives, *etc.*). Ce sont des processus qui sont effectués de façon implicite sans contrôle conscient. La **mémoire perceptive** dépend des modalités sensorielles et permet de retenir des images ou des sons sans s'en rendre compte facilitant la reconnaissance des visages, des voix ou des lieux. La **mémoire sémantique** est la mémoire du savoir permettant l'acquisition de connaissances générales sur soi et sur le monde (géographie, faits historiques, politique, relations sociales, *etc.*). Enfin, la mémoire la plus complexe en termes d'intégration de différentes informations, la **mémoire épisodique** qui permet de se souvenir d'événements personnels et également d'anticiper le futur ; elle correspond à ce que l'on appelle les souvenirs dans le langage courant (voir chapitre 4, page).

Ces différents types de mémoires sont indispensables à l'identité, au langage, aux connaissances, aux activités cognitives et à la projection dans le futur. De plus, il existe de nombreuses interactions entre les différents systèmes de mémoire (Squire & Dede, 2015). Un même souvenir peut contenir différentes informations et faire appel à différentes mémoires. Par exemple un même événement peut avoir des contenus sémantiques et épisodiques et une même information peut être sous forme explicite ou implicite. Il existe également des liens entre la mémoire de travail et la mémoire à long terme permettant la mémorisation de certains événements et la remémoration de souvenirs anciens en fonction du contexte présent afin de mieux s'adapter. Au vu de la diversité des types de mémoire, il paraît évident qu'il n'existe pas qu'un seul centre de la mémoire dans le cerveau mais que ces différents systèmes de mémoire mettent en jeu des réseaux neuronaux distincts mais néanmoins interconnectés afin de fonctionner en étroite collaboration.

## B. Mécanismes neurobiologiques

Même si l'on n'a pas encore pu identifier avec précision l'ensemble d'un réseau neuronal spécifique impliqué dans un type de mémoire, les mécanismes qui sous-tendent la mise en mémoire d'un souvenir se dévoilent au fil des découvertes. Au départ, les recherches sur la mémoire se sont intéressées aux structures cérébrales impliquées dans les différents types de mémoire ainsi qu'aux substrats neuronaux sous-tendant la mise en mémoire. L'étude de patients ayant des lésions au niveau du LTM et notamment l'étude du patient H.M. (Scoville & Milner, 1957; voir pour revue Squire, 2004; Squire & Dede, 2015), l'un des plus connus, constitue le point de départ des études sur le substrat neuronal des différentes formes de mémoire (voir I.A, page 7). Par la suite, l'étude d'autres patients et l'utilisation de modèles animaux chez lesquels il est possible de reproduire des lésions cérébrales ont permis de mettre en évidence l'implication d'un certain nombre de structures cérébrales dans les

processus mnésiques, et particulièrement de l'hippocampe en fonction du type et de l'âge de la mémoire. Ces études montrent que l'hippocampe joue un rôle central dans l'encodage et le stockage, au moins temporaire, des informations explicites, en lien avec différentes structures corticales. Brièvement, chez l'Homme, la mémoire perceptive implique des réseaux neuronaux dans diverses aires sensorielles corticales, la mémoire procédurale recrute des boucles cortico-sous-corticales ainsi que des structures comme le cervelet, la mémoire sémantique implique des réseaux de neurones dans diverses régions très étendues dont les lobes temporaux, et la mémoire épisodique fait appel à des réseaux neuronaux de l'hippocampe et plus largement des lobes temporaux et du cortex préfrontal (voir pour revue Squire & Zola-Morgan, 2015).

Selon la théorie classique de la **consolidation** exposée par McGaugh en 1966, lors de l'encodage d'informations nouvelles, une nouvelle trace, fragile, est gérée dans un premier temps par un système de mémoire à court terme, sensible à l'interférence, puis elle est dans un deuxième temps consolidée en mémoire à long terme, mémoire plus ou moins permanente capable d'être réutilisée lors du rappel (Mcgaugh, 1966). Cette hypothèse suit la théorie de Hebb qui suggérait que la stabilisation de l'activité neuronale auto-entretenu qui sous-tend la mémoire à court terme entraîne progressivement des changements durables permettant la formation d'une mémoire à long terme (Hebb, 1949). L'inhibition de la synthèse protéique altère la mémoire à long terme sans perturber la mémoire à court terme, suggérant qu'il existe bien au moins deux états de mémoire et que la consolidation de la trace permettant la formation d'une mémoire à long terme nécessite la synthèse de nouvelles protéines. Selon le modèle généralement admis, la formation et le stockage des souvenirs reposent sur l'activation de circuits neuronaux interconnectés où l'information est codée sous forme de motifs spatio-temporels d'activité de neurones, formés par des trains d'impulsions électriques rythmés se propageant spatialement au sein de vastes réseaux neuronaux (Laroche, 2010). Ces motifs d'activité neuronale ont une organisation spatiale *via* la localisation des neurones au sein des réseaux qui s'activent, et temporelle *via* la fréquence, la cadence mais aussi les cohérences des décharges neuronales. Le souvenir est donc fragmenté en un ensemble de représentations neuronales uniques permettant de coder différents aspects d'un souvenir (les formes, les couleurs, les odeurs, les saveurs, les visages, les lieux, *etc.*) mais également les valeurs émotionnelles et les activités motrices ou intentionnelles associées à celui-ci. Ces activités dynamiques de neurones se propagent à diverses régions cérébrales associatives où les informations des différentes modalités sensorielles se combinent afin d'encoder le souvenir dans sa totalité. Lors de l'encodage, ces activités électriques sont brèves (quelques dizaines de secondes) mais sont capables d'entraîner des modifications cellulaires au sein des réseaux neuronaux activés de manière à stocker ces représentations en vue d'un rappel futur du souvenir. Il est en effet aujourd'hui admis que la formation et la mise en mémoire à long terme des souvenirs s'accompagnent de modifications durables de la force synaptique et

de l'architecture des réseaux neuronaux activés lors de l'encodage. La mémorisation résulte donc de modifications des connexions entre les neurones des circuits activés, grâce aux propriétés de plasticité synaptique. Cette relation entre processus mnésiques et plasticité des structures cérébrales était déjà exposée par Ramon y Cajal à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, puisqu'il émettait l'hypothèse que l'apprentissage conduirait à la modification structurale des synapses connectant les neurones entre eux, constituant un des mécanismes élémentaires du stockage mnésique (Ramon y Cajal, 1894). En 1949, Donald Hebb suggère qu'un groupe de neurones déchargeant simultanément forme une « assemblée cellulaire » dont l'activité pourrait persister après l'événement déclencheur (Hebb, 1949). Il postule que lors de l'apprentissage, certaines synapses excitatrices au sein d'une assemblée cellulaire activée, ou connectant les neurones de deux assemblées cellulaires coactives, développeraient une augmentation persistante de leur excitabilité aboutissant ainsi à une efficacité de transmission accrue au sein de ces assemblées cellulaires de manière à les stabiliser et à les associer. De plus, selon Hebb, l'activité neuronale pourrait induire un renforcement des connexions synaptiques préexistantes mais également la croissance de nouvelles synapses (synaptogenèse) afin d'augmenter l'efficacité de la transmission synaptique au sein du réseau neuronal activé. A la même période, Jerzy Konorski (1948) propose que la plasticité, induite par l'association de stimuli répétés, puisse être liée à la transformation de connexions synaptiques potentielles en connexions synaptiques fonctionnelles à la suite de modifications morphologiques (Konorski, 1948). Conjointement, l'hypothèse Hebb-Konorski constitue l'un des fondements essentiels de la plupart des modèles neurobiologiques de la mémoire. Mais c'est surtout la découverte par Tim Bliss et Terje Lømo d'une forme particulièrement durable de plasticité synaptique, la **potentialisation à long terme** (PLT), qui a permis à l'hypothèse Hebb-Konorski de s'imposer comme modèle. La PLT correspond à une augmentation durable de l'efficacité synaptique, mesurée par une augmentation de la réponse post-synaptique de neurones après une brève stimulation à haute fréquence d'une voie afférente à ces neurones (voir pour revue Bennett, 2000). Cette capacité à modifier la force de la transmission synaptique d'une manière dépendante de l'activité représente une propriété fondamentale de très nombreuses synapses excitatrices des structures corticales et sous-corticales du cerveau, et notamment dans l'hippocampe. Ceci implique des changements de forme et de taille des synapses, la transformation de synapses silencieuses en synapses actives ainsi que la croissance de nouvelles synapses, permettant de créer un réseau spécifique de neurones connectés entre eux et associés au souvenir (voir pour revue Bruel-Jungerman *et al.*, 2007a). Chaque souvenir correspondrait donc à une configuration unique d'activité spatio-temporelle dans un réseau de neurones interconnectés au sein duquel l'activité permettrait de renforcer les connexions.

## C. Modèles de consolidation systémique

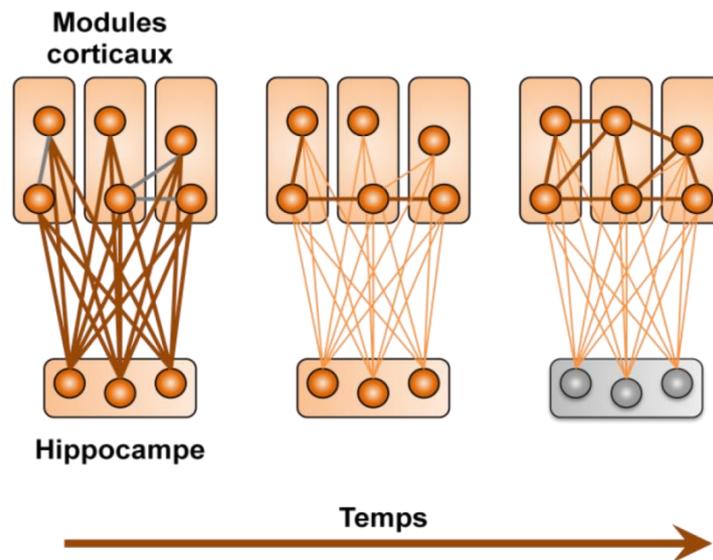
L'étude de patients présentant des lésions de l'hippocampe et/ou du néocortex, notamment l'étude des capacités mnésiques du patient Henry Gustav Molaison (H.M.), ont permis de montrer qu'en cas de lésion de l'hippocampe, les patients présentent une amnésie antérograde ainsi qu'une amnésie rétrograde, mais qu'une partie des souvenirs les plus anciens reste intacte (Scoville & Milner, 1957; Squire & Alvarez, 1995; voir pour revue Frankland & Bontempi, 2005; Moscovitch *et al.*, 2006), suggérant que l'hippocampe pourrait ne pas être le lieu de stockage de mémoires anciennes. Dans les années 90, certains auteurs suggéraient que l'hippocampe ne stockait pas lui-même les souvenirs mais qu'il favorisait l'activation de réseaux de stockage du cortex préfrontal ; d'autres postulaient que l'hippocampe enregistrait des indices d'activation corticale spécifiques permettant le rappel ; et d'autres au contraire proposaient que les souvenirs étaient stockés initialement dans l'hippocampe (Squire & Alvarez, 1995). Les données obtenues chez les patients amnésiques, ainsi que les données obtenues chez l'animal *via* des modèles génétiques ou de lésions cérébrales, suggèrent qu'il existe une réorganisation graduelle de la mémoire au cours du temps, avec un désengagement de l'implication de l'hippocampe dans le rappel associé à une implication plus importante de régions néocorticales, en particulier des aires du cortex préfrontal (McClelland *et al.*, 1995; Squire & Alvarez, 1995; O'Reilly & Rudy, 2000; Frankland & Bontempi, 2005; Tse *et al.*, 2007). En effet, plusieurs études reposant sur des inactivations de l'hippocampe ou d'aires du cortex préfrontal montrent que l'hippocampe est impliqué lors du rappel d'une mémoire relativement récente (1 ou 5 jours après l'acquisition), contrairement au cortex préfrontal qui lui est impliqué uniquement lors du rappel d'une mémoire ancienne (testé entre 25 et 36 jours après acquisition) (Zola-Morgan & Squire, 1990; Quillfeldt *et al.*, 1996; Izquierdo *et al.*, 1997; Anagnostaras *et al.*, 1999; Bontempi *et al.*, 1999; Takehara *et al.*, 2003; Frankland *et al.*, 2004; Maviel *et al.*, 2004; Ridderinkhof *et al.*, 2004). Les traces mnésiques correspondant à des souvenirs anciens pourraient donc résider dans des réseaux corticaux, notamment le cortex cingulaire antérieur, les cortex prélimbique et infralimbique (Bontempi *et al.*, 1999; Takehara *et al.*, 2003; Frankland *et al.*, 2004; Maviel *et al.*, 2004; Frankland & Bontempi, 2005; Restivo *et al.*, 2009). Ces régions corticales, étant connectées à divers cortex sensoriels, sont idéalement placées pour intégrer et synthétiser les informations en provenance de diverses aires cérébrales (Miller, 1996).

La théorie qui s'est imposée considère que l'hippocampe est nécessaire à l'intégration des informations en provenance de divers cortex, afin de créer une trace mnésique cohérente, ainsi qu'au stockage temporaire des souvenirs. Ceci impliquerait des modifications rapides des connexions synaptiques dans l'hippocampe (Squire & Zola-Morgan, 1991; Bennett, 2000; Abraham & Williams, 2003) alors que ces changements sont plus lents dans le cortex préfrontal (Greenough *et al.*, 1985; Greenough & Bailey, 1988; Black *et al.*, 1990; Wallace *et*

*al.*, 1992; Squire & Alvarez, 1995). Restivo et coll. montrent qu'il existe un mécanisme dynamique d'ajout et d'élimination des épines dendritiques dans l'hippocampe et le cortex cingulaire en fonction de la formation d'une mémoire à court ou long terme (Restivo *et al.*, 2009). En effet, alors que la consolidation d'une mémoire récente est associée à une augmentation transitoire du nombre d'épines dendritiques dans l'aire CA1 de l'hippocampe uniquement, la consolidation d'une mémoire ancienne implique une augmentation du nombre d'épines dendritiques dans le cortex cingulaire antérieur (Restivo *et al.*, 2009; Aceti *et al.*, 2015). Ces résultats suggèrent que la formation d'une mémoire ancienne requiert des modifications synaptiques dans des aires corticales comme le cortex cingulaire.

Néanmoins, l'hippocampe reste indispensable à la réorganisation lente des réseaux neuronaux en réactivant de manière répétée les représentations corticales, notamment durant le sommeil (Frankland & Bontempi, 2005), conduisant *in fine* à des interconnexions suffisamment fortes au sein des réseaux corticaux pour soutenir la mémoire et permettre le rappel sans l'intervention de l'hippocampe. En effet, Restivo et coll. montrent que la lésion de l'hippocampe à la fin de l'apprentissage empêche les modifications synaptiques dans le cortex cingulaire et perturbe la rétention à long terme de la mémoire, alors que la lésion plus tardive de l'hippocampe (24 jours après la fin de l'apprentissage) ne perturbe ni les modifications synaptiques dans le cortex cingulaire ni la rétention à long terme de la mémoire (Restivo *et al.*, 2009). Ceci suggère que l'hippocampe est un intermédiaire nécessaire à la consolidation à long terme de la mémoire dans les réseaux corticaux. L'ensemble de ces modifications est appelé **consolidation systémique**. McClelland et coll. suggèrent que la consolidation progressive des souvenirs de l'hippocampe vers le cortex préfrontal est essentielle au maintien des souvenirs car elle permet à celui-ci d'incorporer lentement les représentations de l'environnement et les faits sur le monde, alors qu'une modification rapide des représentations corticales conduirait à une instabilité des réseaux (McClelland *et al.*, 1995).

Le modèle standard de consolidation systémique propose donc un stockage temporaire de l'information grâce à des modifications rapides au sein de l'hippocampe alors que les faits ou événements qui doivent être stockés de façon permanente seraient progressivement pris en charge par le cortex préfrontal (Figure 2; Marr, 1970, 1971; Frankland & Bontempi, 2005). Plusieurs études suggèrent que la consolidation de la trace mnésique dans le cortex préfrontal nécessite une communication entre l'hippocampe et le cortex durant toute la période de la consolidation puisque l'inactivation de l'hippocampe dans les premières semaines qui suivent l'acquisition induit des déficits de mémoire ancienne (Zola-Morgan & Squire, 1990; Kim & Fanselow, 1992; Maren *et al.*, 1997; Anagnostaras *et al.*, 1999; Shimizu *et al.*, 2000; Lisman *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003; Cui *et al.*, 2004; Remondes & Schuman, 2004). Ce modèle propose également que le rappel de l'information devienne ensuite éventuellement indépendant de l'hippocampe après un certain temps (Figure 2).



**Figure 2 : Modèle standard de la consolidation systémique**

L'encodage des informations se fait initialement dans différents circuits hippocampo-corticaux. L'hippocampe intègre les informations des différentes aires corticales afin de créer une trace mnésique cohérente. Au cours du temps, le processus de consolidation s'accompagne d'un renforcement des connexions cortico-corticales et la trace mnésique devient indépendante de l'hippocampe. Extrait de Frankland & Bontempi 2005.

Par ailleurs, certains auteurs montrent que lors du rappel d'une mémoire ancienne, les aires du cortex préfrontal sont activées et que l'hippocampe est activement inhibé (Bontempi *et al.*, 1999; Frankland *et al.*, 2004; Maviel *et al.*, 2004) suggérant que le cortex préfrontal pourrait également jouer le rôle de comparateur entre mémoires déjà consolidées et encodage de nouvelles informations. En d'autres termes, si l'information existe déjà, le cortex préfrontal joue un rôle inhibiteur sur l'activité de l'hippocampe afin d'éviter d'encoder deux fois la même information. Au contraire, si l'information a été perdue ou n'a jamais été stockée, le cortex préfrontal n'exerce pas d'inhibition et favorise ainsi l'engagement de l'hippocampe (Frankland & Bontempi, 2005).

En résumé, l'ensemble de ces données suggère que l'hippocampe est impliqué dans la mémorisation sur une période de temps limitée mais que par la suite le rappel de la trace mnésique serait sous la dépendance prépondérante du cortex préfrontal, associé à un désengagement de l'hippocampe. Le désengagement de l'hippocampe nécessite le renforcement des connexions corticales, ce qui implique un remaniement des connexions synaptiques dans et entre les différentes structures corticales impliquées afin de maintenir le souvenir à très long terme (Frankland *et al.*, 2001, 2004; Hoffman & McNaughton, 2002; Elgersma *et al.*, 2004; Hayashi *et al.*, 2004; Maviel *et al.*, 2004; Vetere *et al.*, 2011). Cependant, la vitesse de consolidation de la trace mnésique dans le cortex préfrontal peut être influencée par ce qui est déjà connu. En effet, lorsque de nouvelles informations associatives dépendantes de l'hippocampe doivent être intégrées dans un schéma cortical préexistant, l'assimilation de ces nouvelles informations se produit très rapidement dans les

aires corticales impliquées dans la rétention à long terme de cette mémoire (Tse *et al.*, 2011), suggérant que la consolidation de certaines informations ne nécessite pas forcément l'hippocampe et qu'elles peuvent être directement intégrées dans des réseaux corticaux.

Par ailleurs, plusieurs auteurs montrent que certains patients atteints de lésions de l'hippocampe présentent des déficits de rappel de certaines mémoires anciennes et notamment celles des souvenirs personnels (Rosenbaum *et al.*, 2000; Cipolotti *et al.*, 2001; Viskontas *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2005). De plus, il a également été montré que lors du rappel d'une mémoire épisodique, l'hippocampe est activé (Ryan *et al.*, 2001; Maguire & Frith, 2003; Addis *et al.*, 2004; Gilboa *et al.*, 2004). Ces données suggérant que l'hippocampe peut également être impliqué dans le rappel de mémoires épisodiques anciennes, ont incité à l'émergence d'une deuxième théorie de la consolidation systémique, appelée « **théorie des traces multiples** » (Nadel & Moscovitch, 1997; Nadel *et al.*, 2000; Moscovitch *et al.*, 2005, 2006). Cette théorie postule qu'un souvenir, étant constitué de différents éléments, est encodé sous forme de traces mnésiques multiples dans différentes régions du cerveau. Selon ce modèle, la consolidation à long terme d'informations épisodiques serait dépendante d'un réseau impliquant à la fois le cortex et l'hippocampe. Dans ce schéma, l'information est initialement encodée par un réseau hippocampo-cortical dans lequel l'hippocampe stockerait principalement à long terme le contexte spatio-temporel du souvenir (Nadel & Moscovitch, 1997; Frankland & Bontempi, 2005). Chaque réactivation de la trace mnésique permet sa consolidation mais également la création d'une autre trace mnésique qui partage plus ou moins d'informations avec l'épisode initial si celui-ci est différent. La répétition de ce processus produirait des traces multiples liées à l'événement original et les souvenirs épisodiques anciens seraient associés à un nombre important de traces distribuées dans des aires cérébrales étendues par rapport aux souvenirs récents, rendant les traces mnésiques les plus anciennes moins sensibles à la lésion de l'hippocampe.

## D. Reconsolidation

Les scientifiques ont longtemps pensé que les souvenirs, une fois consolidés et stockés, restaient inchangés et prêts à être rappelés à la demande. Néanmoins, la mémoire est également un processus dynamique puisque le rappel de certains souvenirs peut les modifier, les effacer ou les rendre indisponibles. En effet, une fois le souvenir rappelé ou réactivé, la trace mnésique redevient labile et doit à nouveau être consolidée pour être ensuite disponible pour un nouveau rappel de l'information : c'est la **reconsolidation mnésique** (Nader *et al.*, 2000b; Nader, 2003; Alberini, 2005; Nader & Hardt, 2009; Besnard *et al.*, 2012). Une partie des mécanismes moléculaires impliqués initialement dans la consolidation des souvenirs est également engagée dans la reconsolidation de ces souvenirs. En effet, si les mécanismes cellulaires impliqués dans la consolidation sont bloqués après le rappel d'un souvenir, un

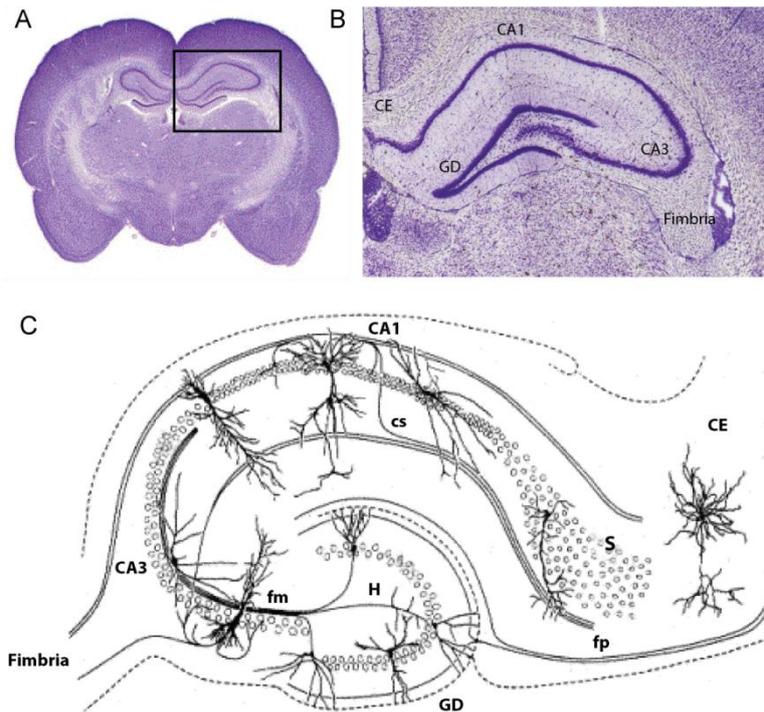
souvenir pourtant bien consolidé au départ peut être oublié. Par exemple, le blocage de la synthèse protéique pendant le rappel d'une information mémorisée ne perturbe pas un second rappel peu de temps après mais entraîne un déficit lorsque ce second rappel est réalisé 24 heures plus tard, c'est-à-dire après une phase de reconsolidation (Nader *et al.*, 2000a). De même, l'activation de la voie des *Mitogen-activated protein kinase* (MAPK) impliquée dans la consolidation est également nécessaire à la reconsolidation d'une mémoire de reconnaissance d'objets après réactivation (Bozon *et al.*, 2003b; Kelly *et al.*, 2003). La reconsolidation d'un souvenir peut servir à son renforcement, à l'incorporation de nouvelles informations afin de le réactualiser, à l'élimination d'une partie des informations ou à l'association de nouveaux souvenirs à des souvenirs plus anciens (Nader, 2003; Besnard *et al.*, 2012). Cette vulnérabilité récurrente des souvenirs montre que même consolidée, la mémoire est un processus dynamique sans cesse en reconstruction.

## II. Hippocampe et mémoire

L'hippocampe est une structure au sein du lobe temporal qui reçoit des signaux multimodaux venant d'autres structures cérébrales organisées hiérarchiquement de façon à recevoir des signaux multisensoriels issus de nombreuses régions corticales, ce qui lui confère une position privilégiée pour participer aux processus mnésiques.

### A. Organisation anatomique de l'hippocampe

L'hippocampe est une structure bilatérale du système limbique de forme enroulée et recourbée composée du **gyrus denté** (GD) et de la **corne d'Ammon** (Figure 3). L'hippocampe est associé au complexe subiculaire (subiculum, parasubiculum, présubiculum) et aux aires corticales entorhinale et périrhinale (Figure 3; Amaral & Witter, 1989; Witter & Amaral, 2004; Andersen *et al.*, 2007). La partie dorsale de l'hippocampe est en contact avec les noyaux du septum alors que la partie ventrale de l'hippocampe est au contact de régions corticales du lobe temporal. L'hippocampe est constitué de deux couches neuronales principales : la couche des cellules granulaires du GD et les cellules pyramidales du subiculum et des champs ammoniens (CA), sous-divisés en quatre sous-régions nommées CA1, CA2, CA3 et CA4 (Ramon y Cajal, 1911; Lorente De Nó, 1934; Amaral & Witter, 1989), auxquelles s'ajoutent de nombreux interneurons GABAergiques (Freund & Buzsáki, 1996; Freund, 2003; Somogyi & Klausberger, 2005).



**Figure 3 : Organisation structurale de la formation hippocampique**

**A.** Coupe transversale de cerveau de rat au niveau de l'hippocampe. Coloration Nissl. **B.** Zoom sur la formation hippocampique. Coloration Nissl. **C.** Structure interne de l'hippocampe et principales connexions du circuit intro-hippocampique. CE : Cortex Entorhinal ; GD : Gyrus Denté ; H : Hile ; CA : Corne d'Ammon ; S : Subiculum ; fp : faisceau perforant ; fm : fibres moussues ; cs : collatérales de Schaffer.

L'hippocampe est connecté à de nombreuses régions cérébrales par deux faisceaux majeurs de fibres : la fimbria-fornix en provenance des noyaux du télencéphale antérieur et le faisceau perforant en provenance du cortex entorhinal. Le faisceau perforant constitue la plus importante afférence corticale à l'hippocampe alors que la voie septo-hippocampique *via* la fimbria-fornix constitue la voie principale de projection d'origine sous-corticale en provenance du noyau septal médian, du thalamus, de l'amygdale, de l'hypothalamus, de l'aire tegmentale ventrale et du tronc cérébral. Le GD, les aires CA1 et CA3 et le subiculum sont innervés par le faisceau perforant mais la projection la plus dense s'établit entre le cortex entorhinal et la couche moléculaire du GD (Figure 3). Le faisceau perforant est divisé en deux parties : le faisceau perforant latéral qui projette sur le tiers externe des dendrites des cellules granulaires du GD et le faisceau perforant médian qui projette sur le tiers médian. Au sein de l'hippocampe, les connexions forment une boucle tri-synaptique : les axones des cellules granulaires du GD, les fibres moussues, projettent sur les dendrites des cellules pyramidales de l'aire CA3 qui projettent à leur tour *via* les collatérales de Schaffer sur les dendrites des cellules pyramidales des aires CA2 et CA1 (Figure 3). Les connexions de cette boucle tri-synaptique sont glutamatergiques et donc excitatrices. Les cellules granulaires du GD et les cellules pyramidales des CA émettent également des collatérales vers les interneurons inhibiteurs, qui projettent en retour vers ces deux populations neuronales. De plus, les

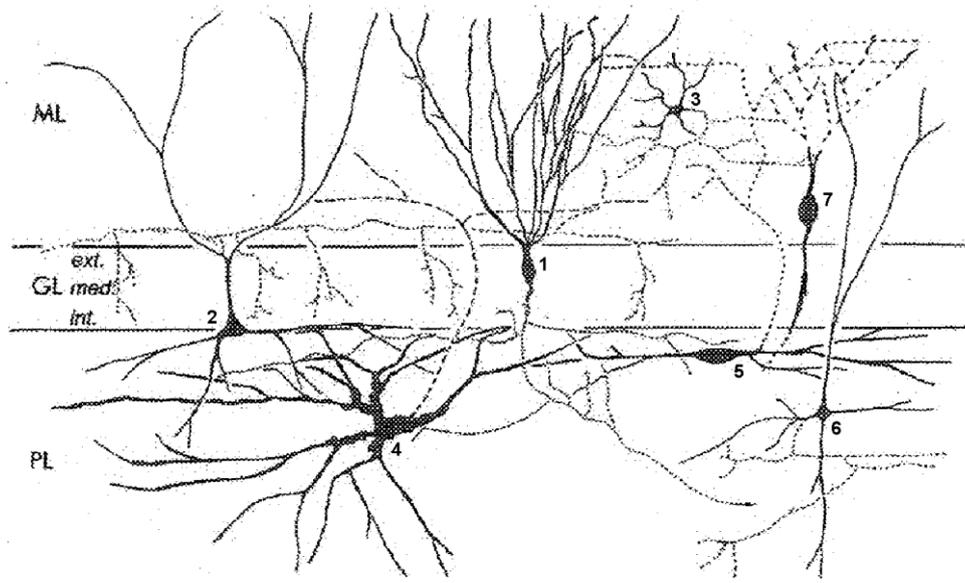
interneurones reçoivent aussi des terminaisons du faisceau perforant. Longtemps décrite comme l'unique organisation interne des connexions de l'hippocampe, cette organisation tri-synaptique n'est néanmoins pas la seule : les cellules de l'aire CA3 envoient de nombreuses projections sur les autres cellules pyramidales de l'aire CA3 *via* des collatérales récurrentes, faisant de l'aire CA3 une région fortement interconnectée et importante pour l'acquisition rapide d'informations (Rolls & Kesner, 2006). A contrario, les cellules pyramidales de l'aire CA1 ne sont que faiblement interconnectées. Il existe également des projections directes du cortex entorhinal sur les aires CA1, CA2 et CA3 (Witter & Moser, 2006; Chevaleyre & Siegelbaum, 2010). La voie principale de sortie de l'hippocampe vers les régions parahippocampiques se fait à partir de l'aire CA1. Les cellules pyramidales de l'aire CA1 projettent soit directement sur les couches profondes des cortex entorhinal et périrhinal, soit indirectement *via* un relais par le subiculum. Le subiculum possède des relations bidirectionnelles avec le cortex entorhinal et projette sur les couches profondes de celui-ci. Les neurones du cortex entorhinal projettent ensuite sur les aires corticales. De plus, le subiculum et l'aire CA1 projettent directement sur le cortex préfrontal. Par ailleurs, des fibres efférentes de l'hippocampe *via* la fimbria et le fornix projettent vers le septum latéral, l'amygdale, le noyau accumbens, la formation réticulée, le thalamus et les corps mamillaires (Witter & Amaral, 2004; Andersen *et al.*, 2007).

L'hippocampe est donc une structure en relation avec de nombreuses aires du cerveau : il représente un point de convergence multimodal recevant des informations prétraitées ; et un point de divergence puisqu'il envoie des informations vers les structures corticales et sous-corticales. L'hippocampe peut donc influencer un grand nombre de fonctions comme les fonctions endocriniennes, viscérales, motrices, affectives et cognitives.

## B. Organisation anatomique du gyrus denté

Le GD de l'hippocampe est constitué de trois couches : la couche granulaire, la couche moléculaire et la couche polymorphique aussi appelée hile (Figure 4).

La **couche moléculaire** est la moins densément peuplée de neurones, elle est pour l'essentiel occupée par les dendrites des cellules granulaires ainsi que les fibres de la voie perforante en provenance du cortex entorhinal. Néanmoins, quelques interneurones, les cellules étoilées et les cellules en chandelier (Figure 4), sont présents et jouent un rôle inhibiteur sur les cellules granulaires en projetant sur leurs dendrites (Halasy & Somogyi, 1993).



**Figure 4 : Organisation cyto-architecturale du gyrus denté de l'hippocampe**

(1) Cellule granulaire ; (2) Cellule en panier ; (3) Cellule étoilée ; (4) Cellule mousseuse ; (5) Cellule fusiforme ; (6) Cellule polymorphique ; (7) Cellule en chandelier ; ML : Couche moléculaire ; GL : Couche granulaire externe (ext), médiane (med) et interne (int) ; PL : Couche polymorphique ou hile. Extrait de Amaral et Witter 1995.

La **couche granulaire** se divise en lames dorsale et ventrale qui se rejoignent pour former la crête, formant ainsi un V ou un U sur des sections coronales, sagittales et horizontales de l'hippocampe. Cette couche est la plus dense du GD et est constituée essentiellement par les cellules granulaires (Figure 4) agrégées les unes aux autres sur une épaisseur de quelques dizaines de micromètres chez les rongeurs. Ces cellules sont des neurones excitateurs glutamatergiques de forme arrondie et dont le noyau occupe une large partie du soma. Ces cellules possèdent des dendrites apicales qui peuplent la couche moléculaire, alors que les segments initiaux de leurs axones occupent la couche polymorphique dans laquelle ils se ramifient et se rassemblent pour former les fibres mousseuses qui projettent sur CA3. La population des cellules granulaires du GD est estimée à plus d'un million chez le rat (Bayer *et al.*, 1982; Boss *et al.*, 1985). Par ailleurs, quelques interneurons inhibiteurs, minoritaires dans cette couche, se retrouvent disséminés dans la couche granulaire. La partie basale de la couche granulaire du GD de l'hippocampe, située à la limite de la couche polymorphique, correspond à la zone sous-granulaire (SGZ). Cette zone est peuplée de cellules en panier GABAergiques (Figure 4). Les corps cellulaires de ces cellules sont localisés juste à la limite entre le hile et la couche granulaire. Leurs dendrites n'ont pas ou peu d'épines et s'étendent dans le hile et la couche moléculaire du GD. L'axone de ces cellules concentre une arborisation dense au sein de la couche granulaire où ils contactent le soma et les dendrites proximales des cellules granulaires et éventuellement d'autres cellules en panier (Lorente De

Nó, 1934; Struble *et al.*, 1978; Seress & Pokorny, 1981; Ribak & Seress, 1983; Seress & Ribak, 1983; Freund & Buzsáki, 1996).

Enfin, la **couche polymorphique** ou hile est constituée d'une grande variété de types cellulaires. On y trouve les cellules moussues (Figure 4), majoritaires, glutamatergiques, excitatrices, avec un corps cellulaire large de forme triangulaire et dont les épaisses dendrites présentent dans le hile sont la cible de projections des cellules granulaires ; les cellules polymorphiques (Figure 4), interneurons GABAergiques de formes variées ; et les cellules fusiformes (Figure 4), également GABAergiques et dont les dendrites s'étendent parallèlement à la couche granulaire sur toute la longueur (Buckmaster & Jongen-Rêlo, 1999). Les cellules moussues innervent à la fois les dendrites des cellules granulaires au niveau de la couche moléculaire et les interneurons GABAergiques du hile (Ribak *et al.*, 1985; Amaral & Witter, 1989; Scharfman, 1995; Buckmaster *et al.*, 1996; Freund & Buzsáki, 1996; Buckmaster & Jongen-Rêlo, 1999; Amaral *et al.*, 2007).

### C. Rôle de l'hippocampe dans les processus mnésiques

Grâce aux études cliniques réalisées chez des patients présentant des lésions plus ou moins étendues de l'hippocampe et/ou des structures l'entourant, à celles réalisées chez les rongeurs et les primates non humains, et enfin grâce aux techniques d'imagerie chez l'Homme, l'hippocampe est depuis longtemps associé à l'encodage et au stockage de certaines formes de mémoire à long terme. C'est l'étude du patient H.M. pendant plus de 50 ans qui a permis initialement de montrer l'importance de l'hippocampe dans certains processus mnésiques. H.M. a subi une ablation bilatérale d'une large portion de la formation hippocampique et de régions adjacentes du LTM par chirurgie afin de diminuer ses crises d'épilepsies, dont le foyer se situait dans l'hippocampe. Après son réveil, il est apparu qu'H.M. souffrait de troubles de mémoire, notamment une amnésie antérograde c'est-à-dire qu'il était incapable d'encoder de nouveaux souvenirs de manière explicite alors que sa mémoire à court terme était intacte. Il était donc incapable de retenir une information au-delà de quelques minutes à moins de répéter continuellement l'information, suggérant que l'hippocampe est nécessaire à la formation de nouveaux souvenirs à long terme (Scoville & Milner, 1957; Milner, 1972). Malgré tout, H.M. avait conservé sa mémoire implicite puisqu'il était capable de mémoriser de nouvelles tâches motrices. H.M. souffrait également d'amnésie rétrograde de plusieurs années mais il avait gardé le souvenir d'événements très anciens. Ces études menées sur plusieurs dizaines d'années ont permis de mettre en évidence le rôle central de l'hippocampe dans les processus mnésiques et notamment dans la consolidation de nouveaux souvenirs. Par la suite, de nombreuses études lésionnelles ciblées ont été effectuées chez des rongeurs ou des primates non humains et ont confirmé que l'hippocampe et les cortex adjacents sont nécessaires à l'encodage de certaines formes de mémoire à long

terme (Squire & Zola-Morgan, 1991; Squire, 1992; Logue *et al.*, 1997; Gerlai *et al.*, 2002; Winters *et al.*, 2004; Forwood *et al.*, 2005; Goshen *et al.*, 2011). On distingue aujourd'hui trois théories majeures sur le rôle de l'hippocampe dans les processus mnésique : la théorie de la carte cognitive de O'Keefe et Nadel (O'Keefe & Nadel, 1978), celle de la mémoire déclarative de Squire et coll. (Schacter *et al.*, 1993; Squire & Zola, 1996, 1997; Squire & Dede, 2015) et celle de la mémoire relationnelle de Eichenbaum (Eichenbaum *et al.*, 1992; Cohen *et al.*, 1997; Dusek & Eichenbaum, 1997; Eichenbaum, 2001, 2004, 2007).

## 1. Hippocampe et mémoire spatiale

La **théorie de la carte cognitive** postule que l'hippocampe est une structure permettant l'encodage d'informations spatiales relationnelles en élaborant une carte cognitive de l'environnement (O'Keefe & Nadel, 1978). Cette théorie a été fondée sur des études lésionnelles mais surtout sur les propriétés de décharge des cellules pyramidales de l'aire CA1 de l'hippocampe, les cellules de lieu (O'Keefe & Dostrovsky, 1971). Ces cellules déchargent en bouffées à haute fréquence lorsqu'un animal se trouve à une localisation particulière au sein d'un environnement (O'Keefe, 1976; McNaughton *et al.*, 1984; Muller *et al.*, 1987; O'Keefe & Speakman, 1987), chaque cellule possédant ainsi un champ récepteur particulier, appelé « champ spatial », pour un environnement donné. Plusieurs études utilisant des déplacements d'indices contextuels, des rotations d'indices ou encore des changements de tailles ou de formes de l'environnement ont confirmé les propriétés de codage de ces neurones (Muller & Kubie, 1987; Bostock *et al.*, 1991). D'après cette théorie, les cellules de lieu participent au codage d'une représentation neuronale de la localisation de l'individu dans un environnement. Ces cellules peuvent aussi participer à la formation de cartes distinctes pour différents environnements, puisque une même cellule peut présenter des champs récepteurs différents dans plusieurs environnements (O'Keefe & Conway, 1978; Tanila *et al.*, 1997). Par ailleurs, il existe dans le cortex entorhinal une population particulière de cellules participant au codage de l'espace, les cellules de grille (Fyhn *et al.*, 2004). Ces cellules présentent un patterns régulier d'activation, avec de multiples champs d'activité disposés de manière à former une grille à maille triangulaire couvrant l'ensemble de l'environnement exploré par l'animal (Hafting *et al.*, 2005). La présence dans la formation hippocampique de ces cellules codant un environnement ainsi que la localisation de l'animal dans celui-ci, font de l'hippocampe une structure privilégiée pour former une carte cognitive de l'environnement. Parallèlement, les études de lésions ou d'inactivation de l'hippocampe ont renforcé l'importance du rôle de celui-ci dans la mémoire spatiale (Morris *et al.*, 1982, 1990; Cassel *et al.*, 1998). Les études d'IRM fonctionnelles chez l'Homme ont montré une activation de l'hippocampe postérieur droit lorsque les sujets circulent dans une ville virtuelle (Hartley *et al.*, 2003; Maguire *et al.*, 2003), et il a été observé que les chauffeurs de taxi londoniens qui

doivent connaître les 25.000 rues de la ville possèdent un hippocampe postérieur d'autant plus volumineux que leur expérience de chauffeur est longue (Maguire *et al.*, 2000). Néanmoins, cette théorie postule que l'hippocampe est dédié à l'encodage et au stockage de souvenirs liés à des informations spatiales alors que certains travaux montrent que les cellules de lieu peuvent également décharger en réponse à des éléments non spatiaux. Par exemple, les cellules pyramidales de l'hippocampe peuvent être activées par des entrées sensorielles (olfactives, visuelles, auditives, somatosensorielles) (Eichenbaum *et al.*, 1999; Wood *et al.*, 1999), suggérant un rôle de l'hippocampe dans l'intégration de multiples informations nécessaires à l'encodage d'un souvenir dans son intégralité.

En effet, étant donné qu'il est très difficile de tester le comportement d'animaux dans des tâches d'apprentissage en l'absence de contexte spatial, une ambiguïté sur la nature du codage porté par les cellules de lieu s'est installée. Pour Eichenbaum, l'hippocampe posséderait une fonction plus générale dans les apprentissages associatifs, l'encodage d'informations spatiales n'étant qu'une composante de cette fonction (Eichenbaum *et al.*, 1992). Eichenbaum propose donc que les cellules pyramidales de l'hippocampe répondent à une configuration de variables comportementales, environnementales et spatiales et non pas à la simple position de l'animal dans son environnement. Il postule que l'hippocampe est nécessaire à l'encodage et au stockage de mémoires relationnelles permettant de réaliser des associations dans le domaine spatial mais aussi temporel. Les cellules de l'hippocampe coderaient donc des conjonctions de stimuli et de caractéristiques comportementales constituant un événement, ceci reposant sur des mécanismes Hebbiens de renforcement synaptique par répétition des événements et permettant de constituer des réseaux de neurones codant la succession des événements survenant au cours d'une tâche. Des épisodes pouvant avoir des éléments en commun, une des fonctions essentielles de l'hippocampe serait alors d'encoder un contexte, nécessaire à la mémoire épisodique, en fournissant un cadre spatial aux souvenirs.

La **théorie de la mémoire déclarative** attribuée à différentes régions et circuits du cerveau des fonctions spécifiques dans les différents types distincts de mémoire (voir I.A, page 6 ; Cohen & Squire 1980; Squire & Zola-Morgan 1988; Knowlton & Squire 1993). Selon Squire, l'hippocampe est nécessaire à l'encodage de la mémoire déclarative, alors que la mémoire non déclarative est associée à d'autres structures cérébrales. Cette théorie est soutenue par des études cliniques comme celle du patient H.M. puisqu'en l'absence d'hippocampe, il est incapable de former à long terme de nouveaux souvenirs explicites, sémantiques et épisodiques (Scoville & Milner, 1957). Mais H.M. est capable de réaliser une tâche procédurale non déclarative impliquant des capacités visuo-motrices (Gabrieli *et al.*, 1993), suggérant que le lobe temporal n'est que peu voire pas impliqué dans la mémoire procédurale. De plus, des patients présentant des lésions du lobe temporal sont capables d'apprendre une tâche de discrimination alors qu'ils sont incapables de s'en souvenir (Squire

& Zola-Morgan, 1988). Les mêmes lésions réalisées chez le singe montrent que la lésion de l'hippocampe seule induit un déficit de mémoire déclarative alors qu'ils ne montrent pas de déficit de discrimination visuelle (Mishkin, 1978). De plus, plus les lésions sont étendues dans le lobe temporal et plus la mémoire déclarative est affectée (Squire & Zola-Morgan, 1991; Zola-Morgan *et al.*, 1994). Néanmoins, se pose toujours la question de savoir si l'hippocampe est impliqué dans le traitement de la mémoire sémantique et/ou dans le traitement de la mémoire épisodique, difficulté d'autant plus grande que ces deux types de mémoire sont étroitement liés. En effet, la mémoire épisodique englobe certaines informations sémantiques puisque celles-ci peuvent se former dans un contexte ou un environnement spécifique. Par ailleurs, certains souvenirs épisodiques associés initialement à un contexte spatial et temporel spécifique, peuvent par répétition acquérir un contenu sémantique. Il a donc été proposé que l'hippocampe serait impliqué dans l'encodage de la mémoire épisodique mais aussi de la mémoire sémantique (Squire, 2004). L'hippocampe est également impliqué dans la mémoire de reconnaissance, c'est-à-dire la capacité à identifier des items déjà rencontrés. Cette forme de mémoire peut s'exprimer selon deux composantes : une composante de familiarité qui dépend de structures corticales adjacentes à l'hippocampe et qui informe que les items ont déjà été rencontrés sans fournir d'informations sur le contexte, et une composante de rappel ou reconnaissance (« recollection »), de nature plus épisodique, qui inclut des informations sur l'épisode au cours duquel le ou les items ont été perçus et qui dépend de l'hippocampe (Squire, 2004).

## 2. Sous-régions fonctionnelles de l'hippocampe

La plupart des modèles théoriques traitent l'hippocampe comme une seule entité fonctionnelle, or il peut être divisé chez les rongeurs en une partie dorsale, une partie intermédiaire et une partie ventrale selon l'axe septotemporal (Dolorfo & Amaral, 1998; Witter & Amaral, 2004). Les portions septales font généralement référence à l'hippocampe dorsal et les portions temporales à l'hippocampe ventral. D'un point de vue anatomique, les connexions corticales et sous corticales de l'hippocampe varient selon l'axe septotemporal. La majorité des afférences provenant du cortex visuel, auditif et somatosensoriel projettent sur les cortex entorhinal dorsolatéral et caudomédian, projetant ensuite sur la partie dorsale du GD (Burwell & Amaral, 1998; Fanselow & Dong, 2010). La partie ventrale de l'hippocampe présente plus de connexions avec les structures sous-corticales et le cortex préfrontal (voir pour revue Bannerman *et al.* 2004; Fanselow & Dong 2010). La région ventrale du CA1 reçoit les afférences en provenance de l'amygdale (van Groen & Wyss, 1990; Pitkänen *et al.*, 2000; Petrovich *et al.*, 2001) alors que le CA1 intermédiaire a davantage de projections vers le cortex infralimbique (Swanson, 1981; Verwer *et al.*, 1997). Ces différences de connectivité entre régions dorsales, intermédiaires et ventrales suggèrent qu'elles pourraient avoir des

rôles fonctionnels différents. En effet, l'**hippocampe dorsal** serait plus impliqué dans les processus cognitifs et mnésiques alors que l'**hippocampe ventral** serait plus impliqué dans la gestion du stress et des émotions (Moser & Moser, 1998; Bannerman *et al.*, 2004; Fanselow & Dong, 2010). Par exemple, plus la partie dorsale de l'hippocampe est endommagée ou inactivée et plus les animaux présentent des déficits de mémoire spatiale de référence alors que les lésions de l'hippocampe ventral n'affectent pas cette fonction (Moser *et al.*, 1993, 1995; Mao & Robinson, 1998; Bannerman *et al.*, 1999, 2002, 2004; Maruki *et al.*, 2001; Broadbent *et al.*, 2004; Pothuizen *et al.*, 2004). La région ventrale de l'hippocampe aurait un rôle plus important dans les comportements liés à la peur et à l'anxiété puisque sa lésion engendre un effet anxiolytique (Bannerman *et al.*, 1999, 2002, 2003; Alves *et al.*, 2004; Mchugh *et al.*, 2004; Weeden *et al.*, 2015). Néanmoins, cette dichotomie n'est pas toujours aussi tranchée. Moser et Moser indiquent par exemple que le rappel d'informations en mémoire de référence sollicite une grande partie de l'hippocampe (Moser & Moser, 1998). Par ailleurs, la mise en mémoire fait appel à une multitude d'éléments qu'ils soient visuels, olfactifs, tactiles, spatiaux ou émotionnels, supposant que chaque partie de l'hippocampe participe à la mise en mémoire d'une partie des informations afin de former un souvenir complet.

### 3. Rôle du GD dans les processus mnésiques

Certains travaux montrent que les différentes sous-régions de l'hippocampe – CA1, CA3 et GD – ont des contributions spécifiques, mais complémentaires, dans les processus d'apprentissage et de mémoire (Kesner *et al.*, 2000, 2005; Goodrich-Hunsaker *et al.*, 2008; Hunsaker & Kesner, 2008). La lésion spécifique du GD, obtenue par injection de colchicine, un alcaloïde provoquant la mort spécifique des cellules granulaires (Goldschmidt & Steward, 1980, 1982; Sutula *et al.*, 1983), est associée à une hyperactivité locomotrice lorsque l'animal est placé dans un environnement familier suggérant que les stimuli ne sont pas intégrés de manière adaptative et ne perdent donc pas leur propriété de nouveauté d'où une exploration accrue de l'environnement (Walsh *et al.*, 1986; Jeltsch *et al.*, 2001). Ce type de lésion provoque également d'importants déficits de mémoire spatiale dans la tâche de la piscine de Morris (Sutherland *et al.*, 1983; McNaughton *et al.*, 1989; Nanry *et al.*, 1989; Xavier *et al.*, 1999; Jeltsch *et al.*, 2001), dans le labyrinthe de Hebb-Williams (Lee & Kesner, 2004), et dans le labyrinthe radial (Walsh *et al.*, 1986; McLamb *et al.*, 1988; McNaughton *et al.*, 1989; Jeltsch *et al.*, 2001), mais pas dans une tâche de reconnaissance spatiale en alternance spontanée dans le labyrinthe en T (Jeltsch *et al.*, 2001). La lésion du GD par la colchicine induit également un déficit dans la formation d'associations temporelles (Aimone *et al.*, 2006; Hunsaker & Kesner, 2008; Morris *et al.*, 2013a), suggérant un rôle du GD de l'hippocampe

dans l'intégration temporelle des informations. Par ailleurs, on attribue classiquement au GD un rôle privilégié dans l'encodage des informations (Rolls, 1996; Kesner, 2007).

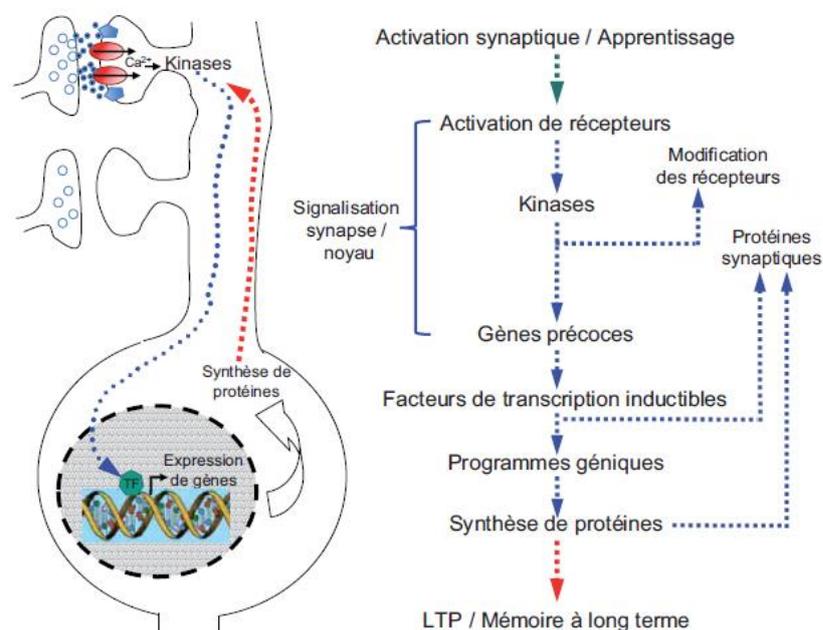
Les mémoires déclaratives reposent sur deux processus essentiels : la séparation de patterns et la complétion de patterns (Rolls, 2013). La **séparation de patterns** permet de distinguer deux événements proches, en termes de contextes, actions réalisées, localisations, personnes, *etc.*, mais néanmoins différents par certains éléments plus ou moins importants. Nous sommes par exemple capables de discriminer deux pommes qui ne diffèrent que par des nuances de rouge. Ce mécanisme permet d'encoder de manière différentielle des souvenirs qui présentent des éléments communs pour éviter une possible confusion. La séparation de patterns est définie comme le processus par lequel des représentations entrantes relativement similaires sont orthogonalisées et transformées en sortie en représentations neuronales distinctes des différents événements (Colgin *et al.*, 2008). La **complétion de patterns** au contraire permet de récupérer un souvenir entier à partir d'un fragment d'un souvenir évoquant un pattern d'activité neuronale incomplet. Le GD et l'aire CA3 de l'hippocampe sont importants pour la fonction de séparation de patterns (Moody *et al.*, 1998; Kesner, 2007; Leutgeb *et al.*, 2007; Bakker *et al.*, 2008; Aimone *et al.*, 2011; Yassa & Stark, 2011; Deng *et al.*, 2013) alors que l'aire CA3 participe fortement à la complétion de patterns. Alors que la lésion spécifique du GD par la colchicine n'altère pas les performances dans un test de mémoire associative dans lequel l'animal doit associer un lieu où se situe une récompense à une odeur ou un objet (Gilbert & Kesner, 2003), elle affecte la capacité à discriminer celui où se trouve la récompense parmi deux lieux proches (Gilbert *et al.*, 2001). L'intensité de ce déficit de discrimination est d'autant plus important que les deux lieux d'intérêt sont rapprochés (Gilbert *et al.*, 2001). De même, la lésion spécifique du GD induit des déficits de discrimination entre deux stimuli visuels (Toga & Lothman, 1983), de formation de représentations contextuelles (Morris *et al.*, 2013b), et de séparation de patterns en labyrinthe radial (Morris *et al.*, 2012). Enfin, la manipulation spécifique de la fonctionnalité du GD en inhibant la sous-unité NR1 des récepteurs NMDA dans les cellules granulaires induit un déficit dans la discrimination de contextes (McHugh *et al.*, 2007). L'ensemble de ces données montre que le GD de l'hippocampe est impliqué dans la fonction de séparation de patterns, suggérant un rôle dans la gestion des interférences afin de discriminer deux événements présentant de larges similitudes. L'hippocampe pourrait ainsi être une structure clé dans l'encodage de mémoires complexes comme la mémoire épisodique (voir II.C, page 20).

## D. Potentialisation à long terme dans l'hippocampe

Comme nous l'avons vu dans la partie I.B, la formation et la mise en mémoire à long terme des informations reposent sur des modifications de l'efficacité de la transmission synaptique au sein des réseaux activés par l'apprentissage ainsi que sur le remodelage structural de

l'architecture de ces réseaux. D'un point de vue cellulaire, comme nous l'avons évoqué plus haut, la plupart des modèles neurobiologiques de la mémoire reposent sur l'hypothèse proposée par Donald Hebb selon laquelle l'efficacité de la transmission synaptique entre deux neurones se renforce lorsque ceux-ci sont répétitivement et simultanément activés de façon intense (Hebb, 1949). Depuis la découverte de l'existence d'un tel mécanisme de plasticité, la PLT dans le GD chez le lapin (Bliss & Gardner-Medwin, 1973; Bliss & Lømo, 1973), il est maintenant établi qu'il s'agit d'une propriété essentielle des synapses excitatrices chez de nombreuses espèces, dont le rat, la souris, les oiseaux et même chez l'homme (Beck *et al.*, 2000), dans diverses autres régions cérébrales telles que les aires CA1 et CA3 de l'hippocampe, l'amygdale, le striatum ainsi que de nombreuses aires corticales sensorielles, motrices ou associatives comme le cortex préfrontal (voir pour revue Bennett, 2000). Dans l'hippocampe, cette augmentation de l'efficacité de la transmission synaptique peut perdurer plusieurs jours voire des mois après l'application de la stimulation téτανique chez le rat (voir pour revue Abraham, 2003).

On connaît maintenant les grandes étapes des mécanismes moléculaires qui sous-tendent les modifications durables des synapses nécessaires au processus de consolidation mnésique (figure 5; voir pour revue Laroche, 2010).



**Figure 5 : Représentation schématique des principales étapes des mécanismes moléculaires de la plasticité synaptique**

L'activation synaptique du neurone post-synaptique amorce une succession de réactions moléculaires conduisant à la modification durable de la synapse. Extrait de Laroche 2010.

L'induction de cette forme de plasticité nécessite l'activation des récepteurs NMDA du glutamate (Collingridge *et al.*, 1983; Errington *et al.*, 1987; Davis *et al.*, 1992; Bliss & Collingridge, 1993; Tsien *et al.*, 1996; voir pour revue Abraham & Williams, 2003) qui fonctionnent comme des détecteurs de coïncidence temporelle et spatiale entre une libération importante de glutamate du neurone présynaptique et une dépolarisation intense du neurone post-synaptique. Suite à la dépolarisation post-synaptique induite par l'activation des récepteurs AMPA par le glutamate, le blocage du canal NMDA par le  $Mg^{2+}$  est levé entraînant une entrée massive d'ions calcium dans le neurone post-synaptique. Ce mécanisme constitue l'élément déclencheur de la plasticité ; il amorce une succession de réactions moléculaires conduisant à la modification durable de la synapse.

La première étape est l'activation par le calcium de nombreuses voies de signalisation neuronales impliquant à la fois des kinases et des phosphatases. Ceci entraîne la phosphorylation des récepteurs AMPA, augmentant ainsi leur conductance (Malinow *et al.*, 2000), et favorise également l'insertion d'un nombre accru de nouveaux récepteurs AMPA à la membrane post-synaptique (Kullmann, 2003; Malinow, 2003), rendant la synapse plus sensible à toute activation ultérieure. De plus, ces voies de signalisation permettent de convertir des synapses dites « silencieuses » (sans récepteurs AMPA) en synapses actives grâce à la mobilisation des mécanismes de transport et d'ancrage des récepteurs (Isaac *et al.*, 1995; Soderling & Derkach, 2000; Lisman, 2003). Au niveau présynaptique, certaines kinases vont mobiliser des cascades protéiques contrôlant la mobilisation des vésicules synaptiques à la membrane ainsi que les processus d'exocytose afin de favoriser la libération de glutamate lorsque les synapses seront à nouveau activées (Bliss & Collingridge, 1993). Par ailleurs, il existe une régulation très fine de la balance entre l'activité des kinases et celle des phosphatases permettant de contrôler finement ces mécanismes de signalisation intracellulaire (Bliss & Collingridge, 1993; Bhalla & Iyengar, 1999; Soderling & Derkach, 2000) afin de maintenir ou d'abroger la plasticité synaptique.

A l'issue de cette première étape, les modifications synaptiques peuvent être stabilisées sur le long terme. Les mécanismes de maintien et d'expression à long terme de la PLT pour stabiliser et consolider les modifications synaptiques reposent en grande partie sur l'activation de gènes et la synthèse de protéines (voir pour revue Abraham & Williams, 2003). En effet, la PLT peut être dissociée selon deux composantes, la PLT précoce, dont les mécanismes sont décrits précédemment, et la PLT durable dépendante de la transcription génique et de la synthèse de protéines (Nguyen *et al.*, 1994; Frey & Morris, 1997). L'initiation des régulations transcriptionnelles permettant de modifier l'expression génique implique là aussi des cascades d'activation de kinases qui, en plus de leur action locale sur les protéines-substrats des synapses, vont envoyer un signal vers le noyau. Une des voies de signalisation essentielle est celle des MAPK. En effet, l'induction d'une PLT conduit à la phosphorylation rapide des MAPK et cette étape conditionne le maintien à long terme de la PLT (Davis *et al.*, 2000; Bozon *et al.*,

2003b; Sweatt, 2004; voir pour revue Davis & Laroche, 2006). Une fois phosphorylées, les MAPK entrent dans le noyau des neurones où elles activent, de façon directe ou indirecte, des facteurs de transcriptions tels que CREB (*cAMP Response Element-binding protein*) et Elk-1 (Davis *et al.*, 2000) qui se fixent sur des sites spécifiques sur l'ADN situés au niveau des promoteurs de gènes immédiats précoces pour réguler leur expression. Certains comme BDNF, Homer ou Arc codent des protéines qui agissent directement au niveau de la synapse, alors que d'autres comme Zif268 ou c-Fos codent des facteurs de transcription inductibles qui vont à leur tour activer de nombreux gènes cibles dits « effecteurs tardifs » (voir partie 2 sur le gène immédiat précoce *Zif268*, page 151). C'est donc un mécanisme en deux étapes, composé d'une première vague rapide d'expression de gènes précoces qui agissent comme des « commutateurs moléculaires » induisant une seconde vague d'expression génique complexe constituée par des changements d'expression de nombreux gènes effecteurs dont les protéines vont permettre de remodeler durablement les réseaux neuronaux (voir pour revue Laroche, 2010). *In fine*, ces mécanismes vont conduire à des changements profonds du fonctionnement et de la structure même des réseaux neuronaux, en modifiant durablement l'efficacité des synapses, mais également en permettant la formation de nouvelles connexions fonctionnelles (modifications de la forme et du nombre d'épines dendritiques et de synapses, augmentation du nombre de boutons multi-synaptiques, alignement de récepteurs en face des sites de libération, croissance de nouvelles épines dendritiques et de nouvelles connexions synaptiques) (Geinisman *et al.*, 1991, 1992, 1996; Moser *et al.*, 1994; Edwards, 1995; Isaac *et al.*, 1995; Engert & Bonhoeffer, 1999; Maletic-Savatic *et al.*, 1999; Toni *et al.*, 1999, 2001).

En parallèle et de façon complémentaire à la PLT, il existe également un autre type de plasticité synaptique, la **dépression à long terme** (DLT), aboutissant à un affaiblissement durable de l'efficacité synaptique (voir pour revue Bruel-Jungerman *et al.*, 2007a). Découverte initialement dans le cervelet, ses mécanismes restent encore peu connus par rapport à ceux de la PLT. Contrairement à celle-ci, la DLT dans l'hippocampe ou dans différentes aires corticales peut être déclenchée par des stimulations synaptiques à basse fréquence qui aboutissent *in fine* à un affaiblissement des connexions synaptiques. L'induction de cette forme de plasticité est également permise par l'activation des récepteurs NMDA et l'entrée d'ions calcium mais l'amplitude ainsi que la cinétique d'entrée différentes du calcium permet d'aboutir à une DLT *via* la déphosphorylation des récepteurs AMPA par les phosphatases et à leurs internalisations (Collingridge *et al.*, 2004). La DLT pourrait représenter un mécanisme d'oubli de l'information mais également servir à renforcer l'émergence de schémas de connexions en affaiblissant les connexions inutilisées afin de rendre plus « saillantes » les connexions renforcées. Il a d'ailleurs été montré dans le GD que l'induction d'une PLT dans certaines synapses est toujours associée à une DLT dans d'autres synapses de la même population neuronale (Doyère *et al.*, 1997). Certaines données récentes suggèrent que des diminutions d'efficacité synaptique de type de DLT surviennent dans l'hippocampe lors de

l'exploration d'objets ou de l'acquisition de tâches spatiales (Goh & Manahan-Vaughan, 2013), suggérant que des mécanismes de DLT, comme ceux de la PLT, jouent un rôle important dans la consolidation mnésique (Voir pour revue Kemp & Manahan-Vaughan, 2007; Kemp et al., 2013). Toutefois, le rôle exact de la DLT dans les processus mnésiques reste encore très peu connu.

## E. La PLT : un modèle de mécanismes de la mémorisation

Depuis la découverte de la PLT, un nombre important de recherches a été consacré à l'exploration du rôle fonctionnel de cette forme de plasticité dans l'apprentissage et la mémoire. On distingue dans ce domaine trois grands types de stratégies expérimentales : l'enregistrement de potentiels synaptiques et des mesures de PLT dans différentes structures du cerveau chez des animaux placés en situation d'apprentissage ; la recherche de similitudes entre les mécanismes cellulaires et moléculaires de la PLT et ceux induits lors de l'apprentissage ; les approches interventionnelles consistant à modifier expérimentalement la plasticité (perte ou gain de fonction par manipulation pharmacologique ou génétique) et à analyser les conséquences sur l'apprentissage et la mémoire. Les données issues de ces approches ont été discutées dans de nombreuses revues (voir pour revue Bruel-Jungerman *et al.*, 2007a; Laroche, 2010; Stuchlik, 2014). Pour prendre quelques exemples, les premières données montraient une corrélation entre les capacités d'expression de la PLT dans l'hippocampe et les performances des animaux (Barnes & McNaughton, 1985; Bloch & Laroche, 1985; Laroche *et al.*, 1989). L'enregistrement de potentiels synaptiques *in vivo* a aussi permis de mettre en évidence des augmentations de la transmission synaptique dans l'hippocampe pendant l'apprentissage (Whitlock *et al.*, 2006). Pour ce qui est des mécanismes, différentes études ont permis de mettre en évidence que les mécanismes moléculaires de la PLT sont également observés dans différentes structures et lors de différentes tâches pendant la consolidation mnésique ou après le rappel : activation des récepteurs NMDA, augmentation de la libération de glutamate, phosphorylation de kinases et de facteurs de transcription, régulation transcriptionnelle de gènes, modifications morphologiques des synapses, *etc.* (Laroche *et al.*, 1987; Morris & Frey, 1997; Geinisman, 2000; Geinisman *et al.*, 2000, 2001; Malleret *et al.*, 2001; Guzowski *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2001; Genoux *et al.*, 2002; Bozon *et al.*, 2003b; Kelly *et al.*, 2003; Leuner *et al.*, 2003; Maviel *et al.*, 2004; Morris, 2013). Ces données établissent donc un lien fort entre les mécanismes impliqués dans la PLT et ceux qui sous-tendent la mémorisation. Enfin, la manipulation expérimentale des mécanismes biochimiques et moléculaires sous-tendant la PLT aboutit à des déficits corrélés d'apprentissage et/ou de rétention de certaines tâches dépendantes de l'hippocampe (voir pour revue Lynch, 2004). Par exemple, l'inactivation de la sous-unité NR1 du récepteur NMDA dans l'aire CA1 ou le blocage pharmacologique des récepteurs induit des

déficits d'apprentissage spatial associés à un déficit d'induction de la PLT dans cette même aire (Davis *et al.*, 1992; Tsien *et al.*, 1996). A contrario, la surexpression de la sous-unité NR2B induit une amélioration des performances mnésiques associée à une augmentation de la PLT dans l'hippocampe (Tang *et al.*, 1999). Par ailleurs, l'inhibition génétique de certaines phosphatases, augmentant l'activité des kinases, induit une facilitation de la mémoire (Malleret *et al.*, 2001; Genoux *et al.*, 2002) alors que la surexpression de phosphatases induit une réduction de la PLT associée à des déficits d'apprentissage (Mansuy *et al.*, 1998). De plus, l'inactivation de certaines kinases, notamment celles de la voie des MAPK, l'inhibition des synthèses protéiques, ou l'inactivation de gènes codant certains facteurs de transcription comme CREB ou Zif268, provoquent des déficits de mémoire à long terme, sans altération de la mémoire à court terme, associés à un déficit du maintien de la PLT (Grant *et al.*, 1992; Abeliovich *et al.*, 1993a, 1993b; Bourchuladze *et al.*, 1994; Bach *et al.*, 1995; Mayford *et al.*, 1996; Atkins *et al.*, 1998; Giese *et al.*, 1998; Blum *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2001; Kida *et al.*, 2002; Kelly *et al.*, 2003; Silva, 2003; Tonegawa *et al.*, 2003; Bozon *et al.*, 2003a, 2003b; Lynch, 2004). Ces travaux suggèrent que les mécanismes d'induction et de maintien de la PLT sont essentiels à la formation et à la stabilisation de représentations neuronales de l'information en mémoire.

Les mécanismes de plasticité synaptique à long terme restent le modèle expérimental le plus communément accepté pour expliquer le maintien durable de traces mnésiques dans différentes structures cérébrales. Cependant, les recherches récentes ont mis en évidence une autre forme de plasticité cérébrale dans certaines régions cérébrales chez l'adulte par ajout de nouveaux neurones, c'est la neurogenèse adulte.

## Chapitre 2

---

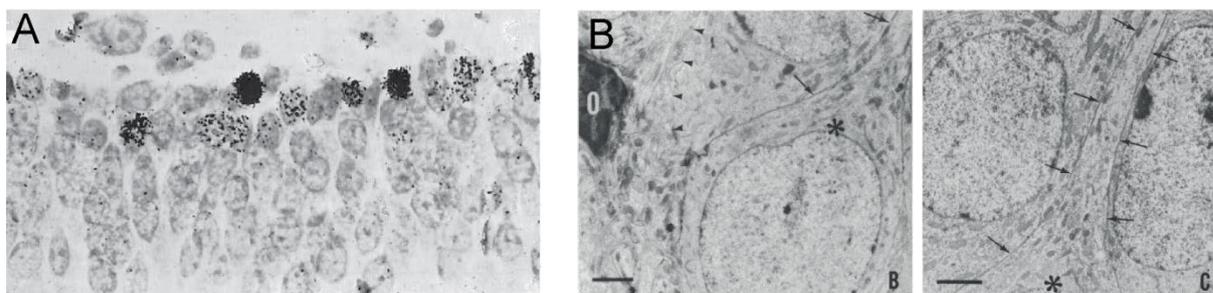
# La neurogenèse adulte hippocampique

### III. Un nouveau type de plasticité cérébrale

#### A. Histoire de la découverte de la neurogenèse

Depuis la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, la notion de plasticité cérébrale du cerveau des mammifères adultes a considérablement évoluée. Alors qu'il a longtemps été admis que la structure du cerveau adulte demeurait fixe, il a été montré que les éléments du système nerveux présentent des modifications au niveau de la synapse : la synaptogenèse (Ramon y Cajal, 1894) et le remodelage synaptique. Néanmoins, du fait de l'architecture particulièrement élaborée du cerveau adulte, l'ajout de nouveaux neurones au sein de cette structure n'était pas envisageable et la production de nouveaux neurones était restreinte aux périodes de développement embryonnaire et post-natal. En effet, les techniques à disposition ne permettaient pas alors d'observer des cellules en division dans le cerveau des mammifères adultes (voir pour revue Gross, 2000; Rakic, 2002; Ming & Song, 2005; Aimone *et al.*, 2014). Cependant, dès la première moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, quelques études ont commencé à suggérer l'existence d'une neurogenèse post-natale dans le cerveau de certains mammifères au niveau de la paroi des ventricules latéraux et dans la zone sous-ventriculaire (SVZ) (Hamilton, 1901; Allen, 1912; Bryans, 1959; voir pour revue Gross, 2000; Ming & Song, 2005; Aimone *et al.*, 2014). Malgré leur publication, ces premières données, faute de preuve qu'il s'agissait de cellules neuronales, sont restées ignorées par la communauté scientifique.

A la fin des années 1950, l'apparition d'une nouvelle méthode de détection de la prolifération cellulaire – l'autoradiographie de la thymidine tritiée – a permis une avancée considérable dans la mise en évidence et l'analyse de la neurogenèse. La thymidine tritiée est un analogue radio-marqué de la thymidine qui s'incorpore à l'ADN lors de la réplication dans les cellules en division, permettant ainsi de dater l'âge des cellules marquées (Figure 6). Grâce à cette technique, Altman et coll. ont publié une série d'études réalisées chez le rat et le chat montrant la présence de nouvelles cellules nerveuses dans différentes zones du cerveau adulte dont le néocortex, le GD de l'hippocampe et le bulbe olfactif (BO) (Figure 6; Altman, 1962, 1963, 1969; Altman & Das, 1965, 1966).



**Figure 6 : Marquage de cellules nouvellement formées grâce à la technique de la radiographie de la thymidine tritiée dans le GD de l'hippocampe de rat adulte**

**A.** Exemple de cellules âgées de 10 jours. Extrait de Altman et Das, 1965. **B.** Exemple d'une cellule âgée de 30 jours en microscopie électronique. La présence d'une extension dendritique (flèches) indique que cette cellule est un neurone. Barre d'échelle : 2  $\mu$ m. Extrait de Kaplan et Hinds, 1977.

Néanmoins, l'ensemble de ces travaux, malgré le fait qu'ils aient été publiés dans des revues prestigieuses, n'ont eu que très peu d'impact et ont également été ignorés car les techniques disponibles à l'époque ne permettaient pas non plus de déterminer sans ambiguïté l'identité de ces cellules. L'avis prévalent étant que seules les cellules gliales étaient capables de se diviser, une réticence persistait sur la division possible des neurones.

Dans les années 70, l'apparition des techniques de microscopie électronique a permis de confirmer le statut neuronal de cellules en division dans le cerveau adulte (Figure 6). En effet, grâce à cette technique, les caractéristiques morphologiques des cellules sont clairement identifiables et distinctes entre les neurones et les différents types de cellules gliales. Kaplan et coll. publient alors une série d'études montrant que les cellules radiomarquées à la thymidine tritiée dans le GD de l'hippocampe, le BO, et le cortex visuel de rats adultes possèdent des caractéristiques ultrastructurales de neurones, comme des prolongements neuritiques et des contacts synaptiques (Kaplan & Hinds, 1977; Kaplan, 1981, 1985; Kaplan & Bell, 1984).

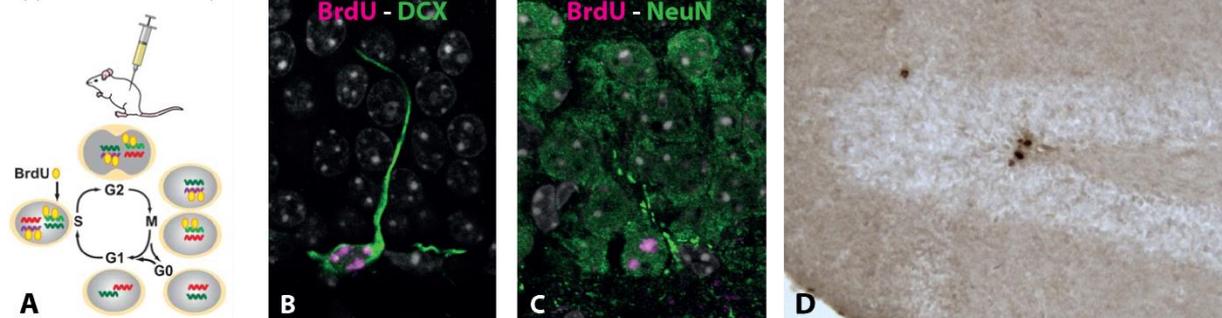
Ces derniers travaux, bien que confirmant ceux d'Altman, n'ont pas pour autant ébranlé le dogme de l'absence d'une neurogenèse adulte car dans le même temps, l'équipe de Rakic publie en 1985 une étude chez le primate adulte qui s'oppose fermement à l'existence d'une neurogenèse adulte (Rakic, 1985a, 1985b). Cette étude a pris le dessus au niveau de la communauté scientifique par rapport aux études réalisées par Kaplan et coll car l'idée de l'ajout de nouveaux neurones dans le cerveau adulte était en opposition avec la conception théorique de la nécessité d'une stabilité structurale des réseaux neuronaux pour le maintien à long terme de la mémoire (Rakic, 1985a; Eckenhoff & Rakic, 1988). Néanmoins, Rakic est prêt à admettre la présence de neurogenèse adulte chez certains mammifères moins évolués que le primate, notamment les rongeurs, sans toutefois lui accorder de l'importance (Kaplan, 2001) – « *Identification of neurogenesis in rats was phylogenetically specific to lower*

*mammalian forms ; the rates of neurogenesis in rats were too small to have any significance »* Rakic (1984).

Différents facteurs ont contribué à l'abolition du dogme au début des années 1990 : une série d'expériences réalisées chez l'oiseau montrant une neurogenèse adulte abondante (voir pour revue Nottebohm, 2002) ; la mise en évidence *in vitro* de cellules souches adultes neuronales à partir de la SVZ du cerveau adulte de souris (Reynolds & Weiss, 1992) ; et enfin l'arrivée de nouvelles techniques de marquages permettant de distinguer les neurones des cellules gliales, grâce notamment à l'utilisation d'un nouvel analogue de la thymidine, la 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) qui est incorporée spécifiquement dans l'ADN des cellules en division, au moment de la phase S du cycle cellulaire (Figure 7 ; Gratzner, 1982; Miller & Nowakowski, 1988; Nowakowski *et al.*, 1989; voir pour revue Taupin, 2007). De plus, ce marqueur présente l'avantage d'être plus facilement détectable par des techniques d'immunohistochimie (Figure 7) et permet, lorsqu'il est couplé à la détection d'autres marqueurs spécifiques d'autres types cellulaires, d'identifier sans ambiguïté l'identité des cellules formées en microscopie confocale (Figure 7).

Aujourd'hui l'existence de la neurogenèse dans le cerveau adulte est admise chez plusieurs espèces animales dont les mammifères (voir pour revue Cayre *et al.*, 2002).

Approche nucléotidique



**Figure 7 : Marquage de cellules nouvellement formées grâce à l'utilisation de la BrdU dans le GD de l'hippocampe de rongeur**

**A.** L'approche nucléotidique repose sur l'incorporation d'un analogue de la thymidine (BrdU) au cours de la phase S du cycle cellulaire et conduit à un marquage nucléaire des cellules néoformées. Modifié d'après Ming & Song 2005. **B** et **C.** Exemple de doubles marquages en immunohistochimie à fluorescence de cellules BrdU+ exprimant soit le marqueur d'immaturité neuronale DCX (B), soit le marqueur de maturité neuronale NeuN (C). **D.** Marquage en immunohistochimie à la DAB de cellules du GD ayant incorporé la BrdU dans leur ADN. Extrait de Veyrac *et al.* 2013.

## B. La neurogenèse adulte dans le règne animal

### 1. Chez les invertébrés

Le cerveau des **insectes** était considéré comme particulièrement inflexible et stable une fois à l'âge adulte. Néanmoins, Cayre et coll. ont montré que 25% des interneurones sont continuellement ajoutés à l'âge adulte dans les corps pédonculés, structures impliquées dans l'intégration multisensorielle des signaux en provenance des antennes, des yeux et des palpes, et dans l'apprentissage et la mémoire chez différentes espèces d'Orthoptères et de Coléoptères (Cayre *et al.*, 1994, 1996, voir pour revue 2002). La présence d'une neurogenèse adulte a également été montrée chez la drosophile dans le cortex médullaire des lobes optiques (Fernández-Hernández *et al.*, 2013). Cependant, il n'a pas été montré de neurogenèse adulte chez l'abeille, le papillon monarque ou encore chez le criquet migrateur. La raison de ces différences entre espèces d'insectes reste inconnue (voir pour revue Cayre *et al.*, 2002). Néanmoins, certains auteurs suggèrent que la persistance de la neurogenèse adulte chez certains insectes pourrait être liée à leur complexité comportementale (Bieber & Fuldner, 1979), même si cette hypothèse n'est pas complètement satisfaisante puisque certains insectes avec des comportements sociaux complexes, comme l'abeille ou la fourmi, ne présentent pas de neurogenèse adulte. Cayre *et al.* montrent que l'absence de neurogenèse chez le criquet induit un déficit d'apprentissage associatif olfactif et de rétention, suggérant que les nouveaux neurones participent à l'intégration de signaux olfactifs et à l'adaptation à l'environnement (Scotto-Lomassese *et al.*, 2003; Cayre *et al.*, 2007).

Chez les **crustacés**, la neurogenèse perdure à l'âge adulte à travers l'addition de différents types cellulaires dans la voie olfactive, suggérant une certaine plasticité de ce circuit cérébral (voir pour revue Cayre *et al.*, 2002; Sandeman *et al.*, 2011). Cet ajout de nouveaux neurones a été montré chez le crabe dans la voie centrale olfactive (Schmidt, 1997) et chez l'écrevisse où de nouveaux interneurones sont incorporés dans les deux noyaux bilatéraux contenant les neurones associés aux lobes olfactif et accessoire, structures qui reçoivent des signaux olfactifs mais également des signaux visuels et tactiles (Sandeman & Sandeman, 2000). Les auteurs montrent également que l'environnement dans lequel évoluent les écrevisses module le niveau de la neurogenèse. Ces données suggèrent un rôle des nouveaux neurones dans l'adaptation à l'évolution constante de leur environnement (olfaction, vision, stimulations tactiles, interactions sociales, *etc.*).

### 2. Chez les vertébrés non mammifères

Chez les **poissons** et notamment ceux de l'ordre des gymnotiformes dont le poisson zèbre le cerveau continue d'être modifié à l'âge adulte *via* l'addition de nouvelles cellules, que ce soient des neurones ou des cellules gliales (voir pour revue Cayre *et al.*, 2002; Zupanc, 2008;

Schmidt *et al.*, 2013). Les zones de forte prolifération sont localisées à la surface des régions ventriculaires du télencéphale, une dans la partie dorsale et une dans la partie ventrale. La zone ventrale de prolifération s'étend du BO à la commissure antérieure et la zone dorsale tout le long de la surface des ventricules (voir pour revue Kaslin *et al.*, 2008; Kizil *et al.*, 2012). A la surface du troisième ventricule, les noyaux bilatéraux de neurones impliqués dans le contrôle d'un organe électrique utilisé lors d'interactions sociales chez le « knifefish », montrent un fort taux de prolifération de cellules neuronales (Zupanc & Zupanc, 1992). Il a également été montré une prolifération cellulaire dans la couche moléculaire du cervelet à la surface du quatrième ventricule et une migration des nouveaux neurones produits dans la couche granulaire (Zupanc & Horschke, 1995; voir pour revue Kizil *et al.*, 2012). Il est intéressant de noter qu'en parallèle de la prolifération neuronale, il y a également un fort taux d'apoptose suggérant une régulation fine du nombre de nouveaux neurones formés (Zupanc, 1999, 2008). Chez le poisson rouge, il existe une neurogenèse dans le système visuel et plus particulièrement dans le tectum optique, les cellules produites dans l'aire germinale de la partie caudale du tectum migrant ensuite vers la partie rostrale du tectum (Raymond & Easter, 1983; voir pour revue Kizil *et al.*, 2012). Cette neurogenèse semble modulée par les fibres afférentes du nerf optique en provenance de la rétine suggérant ainsi une modulation par l'environnement (Raymond *et al.*, 1983). Plusieurs études montrent que le niveau de neurogenèse peut être régulé par la hiérarchie sociale au sein d'un groupe (voir pour revue Zupanc & Sîrbulescu, 2011).

Il existe très peu d'études de la neurogenèse adulte chez les **amphibiens**. Mais chez la grenouille adulte, des nouvelles cellules sont continuellement générées dans la cavité préoptique de la zone ventriculaire et sont ensuite recrutées par le noyau préoptique de l'hypothalamus (Chetverukhin & Polenov, 1993). Il existe également une neurogenèse dans le télencéphale, le thalamus, l'hypothalamus et le cervelet (Raucci *et al.* 2006; voir pour revue Kaslin *et al.*, 2008). Le taux de neurogenèse peut être modulé en fonction de la saison chez la grenouille et la salamandre suggérant un lien entre la neurogenèse et l'adaptation à l'environnement (voir pour revue Kaslin *et al.*, 2008).

Chez les **reptiles**, tortues et lézards, une neurogenèse adulte forte a été montrée dans le télencéphale et plus particulièrement dans la paroi des ventricules latéraux, le noyau sphérique, le BO, le cortex, le septum et le striatum (Pérez-Cañellas & García-Verdugo, 1996; Pérez-Cañellas *et al.*, 1997; voir pour revue Font *et al.*, 2001; García-Verdugo *et al.*, 2002; Kaslin *et al.*, 2008). Les nouveaux neurones naissent dans les parois des ventricules latéraux pour ensuite migrer vers les différentes régions du télencéphale où ils s'intègrent dans les réseaux neuronaux préexistants. Néanmoins, le rôle fonctionnel de la neurogenèse adulte chez les reptiles n'est pas clair même s'il semble qu'elle soit impliquée dans la plasticité olfactive, l'apprentissage et la mémoire (voir pour revue Font *et al.*, 2001). De plus, le taux de neurogenèse peut être modulé par la photopériode ou la température chez le lézard suggérant

également un lien entre la neurogenèse et l'adaptation à l'environnement (voir pour revue Kaslin *et al.*, 2008).

Chez les **oiseaux** (Canaris, diamants mandarins, mésange), il existe une neurogenèse adulte tout au long de la vie au niveau de la paroi des ventricules latéraux. Ces nouveaux neurones migrent sur une courte distance dans le télencéphale, notamment dans l'hippocampe aviaire et le HVC (acronyme utilisé comme nom propre), structure impliquée dans la production du chant (voir pour revue Alvarez-Buylla, 1992; García-Verdugo *et al.*, 2002; Nottebohm, 2002; Kaslin *et al.*, 2008). L'utilisation de la microscopie électronique a permis de montrer que les nouvelles cellules produites sont des neurones qui reçoivent des synapses au niveau du soma et des dendrites (Burd & Nottebohm, 1985) et sont capables de répondre à la présentation d'un son par l'émission de potentiels d'action (Paton & Nottebohm, 1984). Comme chez les poissons, la relation entre l'addition de nouveaux neurones dans le cerveau adulte des oiseaux et la mort d'autres neurones en fonction de la saison suggère une régulation de la neurogenèse en fonction des modifications environnementales (Barnea & Nottebohm, 1994; Kirn *et al.*, 1994; voir pour revue Nottebohm, 2002). Certains comportements des oiseaux ont été mis en relation avec la neurogenèse adulte. Par exemple, la complexité sociale d'un groupe d'individus ou la mémorisation du chant des oisillons augmentent le taux de neurogenèse (Barnea *et al.*, 2006; Barkan *et al.*, 2007). De même, le comportement de mise en réserve de nourriture à l'approche de l'hiver, qui implique un apprentissage spatial, induit une augmentation du volume de l'hippocampe aviaire par l'ajout de nouveaux neurones dans cette structure (Barnea & Nottebohm, 1994, 1996; Patel *et al.*, 1997; Hoshoooley & Sherry, 2007; voir pour revue Barnea, 2009; Sherry & Hoshoooley, 2010). Certains auteurs montrent également un lien entre la neurogenèse adulte dans le HVC et l'acquisition, la production et le maintien du chant chez les oiseaux chanteurs (Wang *et al.*, 1999; Scharff, 2000; voir pour revue Nottebohm, 2002). L'ensemble de ces données suggère comme chez les insectes, que la neurogenèse adulte pourrait jouer un rôle dans les processus d'adaptation à l'environnement chez l'oiseau ainsi que dans certains types d'apprentissage.

### 3. Chez les vertébrés mammifères

Comme nous l'avons vu précédemment, la neurogenèse adulte a été initialement mise en évidence chez le rat et le chat par Altman (Altman, 1962, 1963, 1969; Altman & Das, 1965, 1966), données ensuite confirmées chez le rat et le primate par Kaplan (voir I.A, page 30 ; Kaplan & Hinds, 1977; Kaplan, 1981; Kaplan & Bell, 1984). Depuis, la neurogenèse adulte a été démontrée dans le cerveau de nombreuses autres espèces de mammifères dont les rongeurs (souris, cochon d'inde, campagnol des prés, écureuil, rat taupe), le scandentia, un petit mammifère arboricole, le hérisson, la taupe, le renard, l'éléphant, la loutre, les chauve-souris, le lapin, la vache, le chien, le mouton (Cameron *et al.*, 1993; Gould *et al.*, 1997; Pérez-

Martín *et al.*, 2003; Amrein *et al.*, 2004a, 2004b, voir pour revue 2011, 2015; Ngwenya *et al.*, 2011; Patzke *et al.*, 2014; Lowe *et al.*, 2015), mais également chez le singe et chez l'Homme (Eriksson *et al.*, 1998; Gould *et al.*, 1998, 1999b, 2001; Kornack & Rakic, 1999, 2001; Pencea *et al.*, 2001; Bédard & Parent, 2004; Spalding *et al.*, 2013; voir pour revue Bergmann *et al.*, 2015; Ernst & Frisén, 2015).

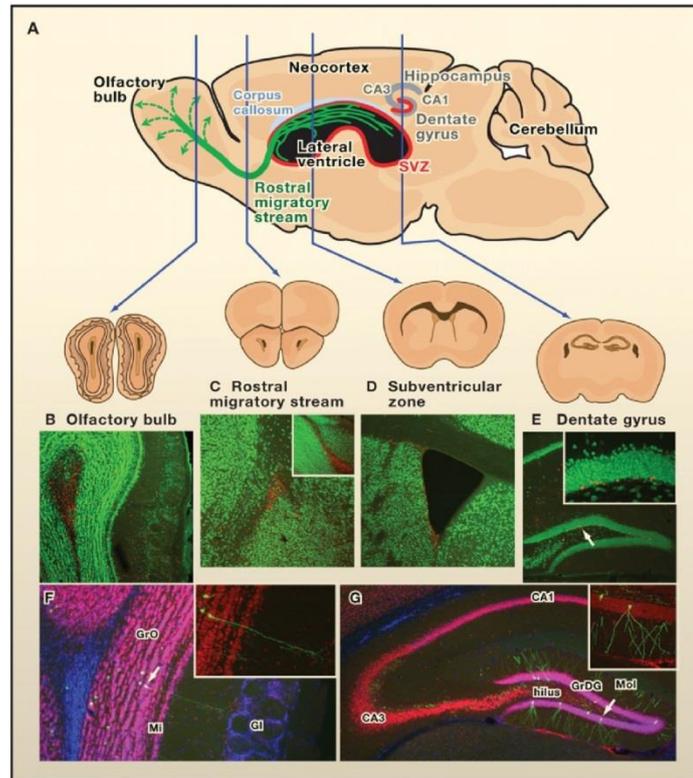
Nous centrerons la suite de l'exposé sur la neurogenèse chez les mammifères adultes.

### C. Foyers neurogéniques dans le cerveau adulte

Depuis sa découverte dans le cerveau adulte des mammifères, il a été montré que la neurogenèse est principalement confinée dans deux zones du cerveau, le **bulbe olfactif** et le **GD de l'hippocampe** (Figure 8).

Cependant, la production de nouvelles cellules a également été mise en évidence dans d'autres régions cérébrales telles que certaines aires néocorticales, le cortex piriforme, l'amygdale, le striatum, la substance noire, la moelle épinière, le complexe vagal dorsal ou encore l'hypothalamus (voir pour revue Migaud *et al.*, 2010). A l'heure actuelle, ces zones ne sont pas considérées comme étant neurogéniques : l'existence d'une neurogenèse dans ces régions en conditions basales reste controversée puisque des études n'ont détecté la génération de nouveaux neurones dans ces zones seulement qu'après un stress ou des manipulations pharmacologiques (Magavi *et al.*, 2000; Abrous *et al.*, 2005; voir pour revue Emsley *et al.*, 2005; Ming & Song, 2005; Li *et al.*, 2015). Par ailleurs, il reste à prouver que les cellules souches neurales de ces nouvelles zones de neurogenèse partagent in vivo les propriétés des cellules souches neurales présentes dans les deux niches neurogéniques du cerveau adulte et qu'elles donnent naissance à des nouveaux neurones fonctionnellement intégrés dans ces zones cérébrales.

Dans le cas de la neurogenèse olfactive et hippocampique, les nouvelles cellules sont produites dans des régions spécifiques appelées **niches neurogéniques** (Figure 8). Elles sont au nombre de deux dans le cerveau adulte des mammifères : la **zone sous-ventriculaire** (SVZ) bordant les ventricules latéraux qui alimente le BO en nouvelles cellules et la **zone sous-granulaire** (SGZ) du GD de l'hippocampe (Figure 8; Cameron *et al.*, 1993; Lois & Alvarez-buylla, 1994; Doetsch, 2003a; voir pour revue Ming & Song, 2011; Gheusi *et al.*, 2013; Aimone *et al.*, 2014).

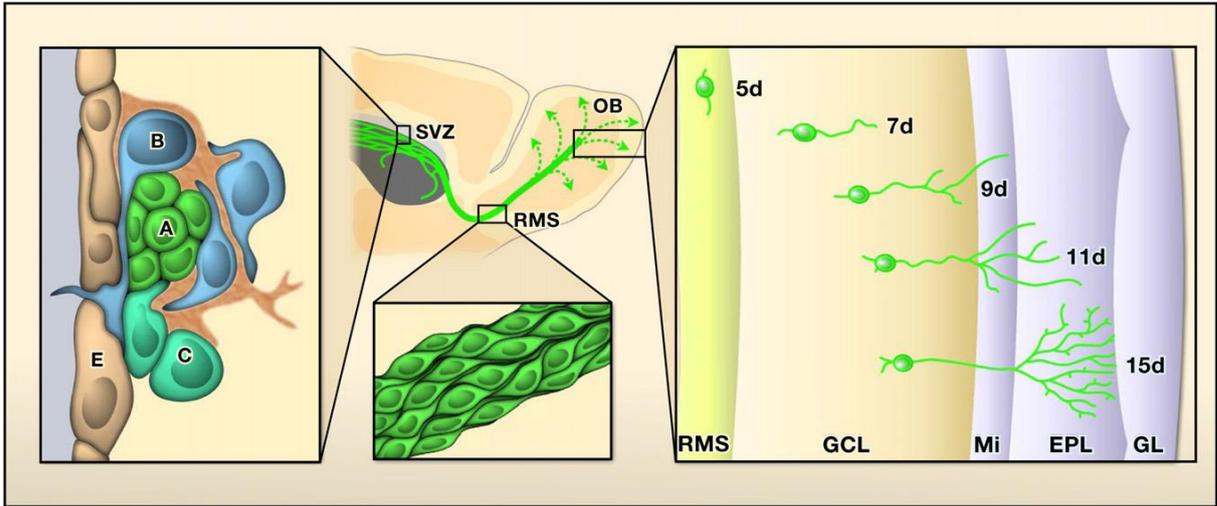


**Figure 8 : Principales zones neurogéniques dans le cerveau adulte des rongeurs**

A. Coupe sagittale de cerveau adulte de rongeur. B, C, D et F. SVZ et BO. Coupes frontales. E et G. GD de l'hippocampe. Coupes frontales. Extrait de Zhao *et al.* 2008.

Brièvement, dans les régions olfactives, les nouvelles cellules sont produites dans la SVZ à partir de cellules souches (cellules de type B ; Figure 9) situées dans la SVZ des ventricules latéraux où elles prolifèrent pour donner naissance à des cellules progénitrices transitoires (cellules de type C ; Figure 9), elles-mêmes capables de proliférer et de se différencier en neuroblastes (cellules de type A ; Figure 9). Ceux-ci migrent ensuite le long de la voie de migration rostrale (RMS) pour atteindre le BO où ils achèvent leur processus de maturation et deviennent des interneurons inhibiteurs de type granulaire ou périgloméculaire GABAergiques et s'intègrent dans les circuits préexistants (voir pour revue Lledo *et al.*, 2006; Gheusi *et al.*, 2009, 2013).

Les objectifs de cette thèse étant centrés sur le rôle des nouveaux neurones du GD de l'hippocampe dans la mémoire, je me limiterai dans cette introduction à la description de la neurogenèse hippocampique adulte.



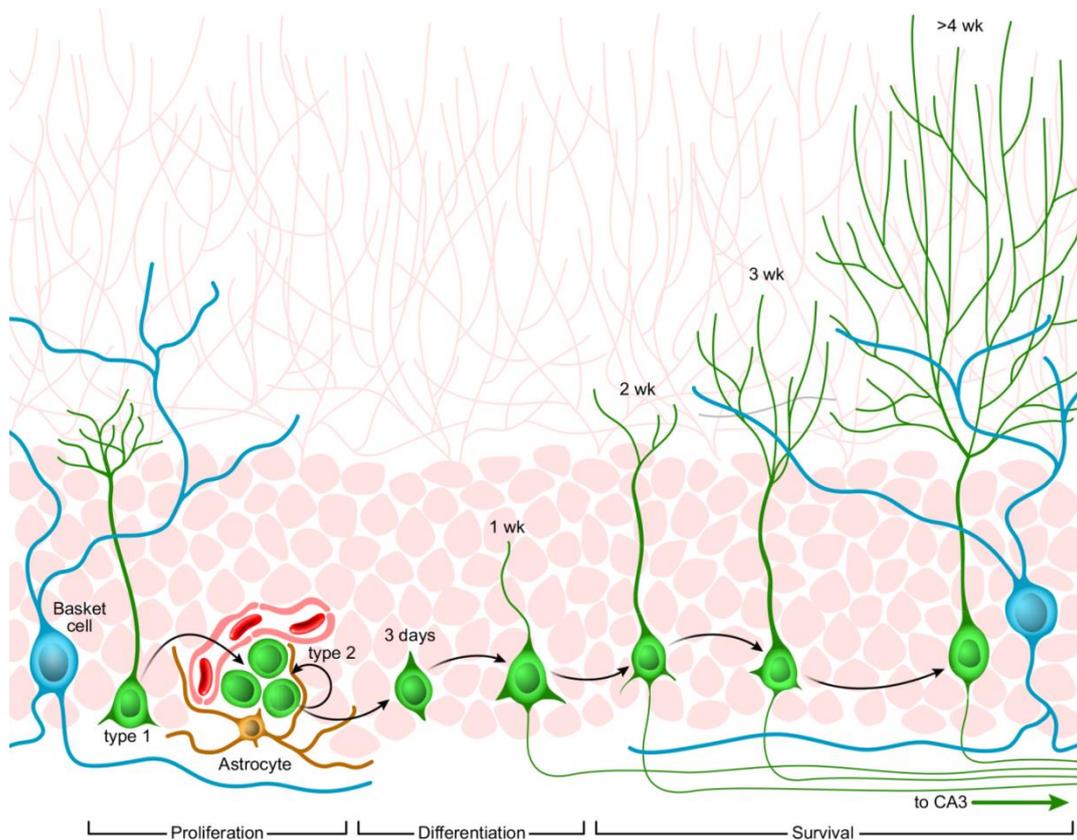
**Figure 9 : La neurogenèse adulte du bulbe olfactif**

Les nouvelles cellules sont produites dans la SVZ à partir des cellules souches de type B, puis migrent le long du RMS pour s'intégrer au sein des réseaux neuronaux du BO. Extrait de Zhao *et al.* 2008.

#### IV. Mécanismes de la neurogenèse hippocampique adulte

La neurogenèse désigne l'ensemble des processus qui, à partir de la prolifération de précurseurs, conduisent à l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones dans les circuits cérébraux.

Elle prend son origine dans la SGZ où des cellules souches/progénitrices (cellules dites de type 1) ont été observées (Figure 10). Après prolifération, elles donnent naissance à une population de cellules progénitrices transitoires (cellules dites de type 2) capables de proliférer abondamment et de se différencier en neuroblastes (Figure 10). Les cellules nouvellement formées migrent sur une courte distance (200  $\mu\text{m}$ ) dans la partie interne de la couche granulaire du GD où elles achèvent leur processus de maturation pour devenir majoritairement (60 à 80%) des cellules granulaires intégrées aux réseaux préexistants (Figure 10; Kempermann *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2006, voir pour revue 2008; Aimone *et al.*, 2014; Crowther & Song, 2014). Environ 15% des neurones nouvellement formés se différencient en cellules GABAergiques de type cellules en panier (Liu *et al.*, 2003). Et environ 10% se différencient en cellules gliales, majoritairement en astrocytes, mais également en cellules microgliales (Cameron *et al.*, 1993; Steiner *et al.*, 2004). Le nombre de cellules nouvellement formées dans le GD s'élève à environ 9000 cellules par jour chez le rat jeune adulte (Cameron & Mckay, 2001) ce qui représente quotidiennement moins de 1% de la population totale des cellules granulaires du GD. Néanmoins, des estimations chez le rat suggèrent qu'environ 6% de la couche granulaire est constituée de neurones nouvellement générés (Cameron & Mckay, 2001).



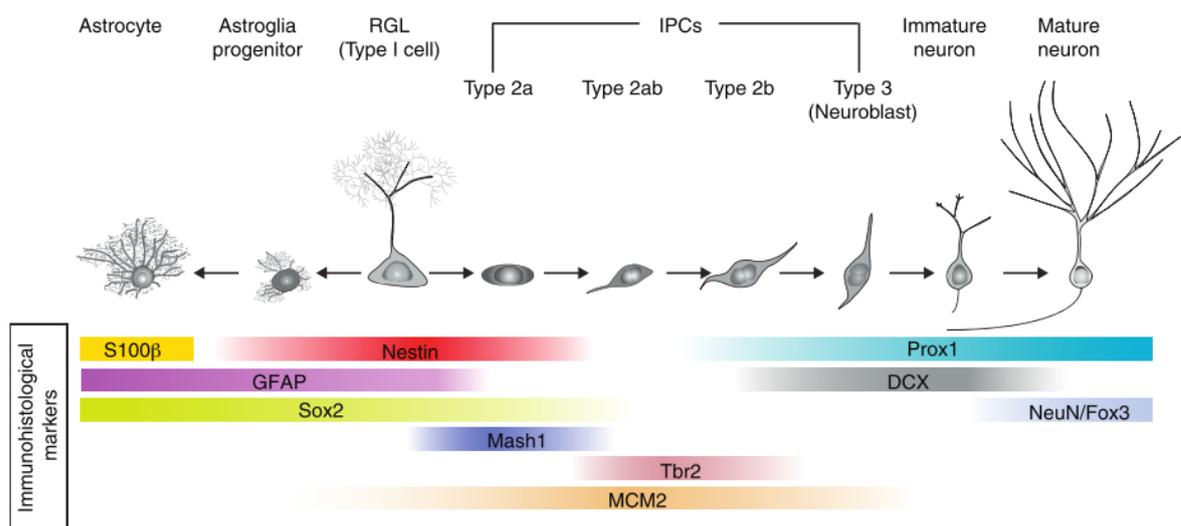
**Figure 10 : Neurogenèse du GD de l'hippocampe**

Les nouvelles cellules sont produites dans la SGZ à partir des cellules progénitrices de type 1. Les cellules deviennent matures et migrent au sein de la couche granulaire du GD puis sont sélectionnées pour s'intégrer au sein des réseaux neuronaux. Extrait de Aimone *et al.* 2014.

## A. Origine de la neurogenèse

Une cellule souche nerveuse se définit comme étant une cellule capable de proliférer indéfiniment (capacité d'auto-renouvellement) et de nature multipotente, c'est-à-dire capable de donner naissance à la fois à des cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes) et à des neurones. En revanche, une cellule progénitrice se caractérise par sa capacité de prolifération limitée dans le temps et elle peut être ou non multipotente (Gage, 1998, 2000; Gage & Kempermann, 1998). L'identification et l'isolement des cellules souches/progénitrices dans la SGZ sont difficiles à réaliser puisque ces cellules sont rares et la nature (souche ou progénitrice) de ces cellules fait l'objet de nombreux débats, notamment du point de vue du critère de l'auto-renouvellement (voir pour revue Bonaguidi *et al.*, 2012). Les données actuelles montrent une hétérogénéité de la nature des cellules à l'origine de la neurogenèse adulte dans le GD de l'hippocampe (voir pour revue Bonaguidi *et al.*, 2012). Dans le modèle prédominant de la neurogenèse adulte hippocampique, les cellules de type astrocytaire (cellule de type 1) produisent des cellules progénitrices (cellule de type 2), qui produisent à leur tour des neuroblastes (cellule de type 3) (Figure 11).

Les **cellules astrocytaires de type 1** sont de type glie radiaire avec un soma triangulaire associé à une longue et unique dendrite apicale qui s'étend dans toute la largeur de la couche granulaire du GD de l'hippocampe (Figures 11 et 12; Seri *et al.*, 2001; Filippov *et al.*, 2003; Fukuda *et al.*, 2003; Kronenberg *et al.*, 2003). Elles expriment la nestin, une protéine du cytosquelette, ainsi que la *glial fibrillary acidic protein* (GFAP), protéine typique des astrocytes et de la glie radiaire, et présentent des propriétés morphologiques et électrophysiologiques comparables à celles des astrocytes (Figure 11; Filippov *et al.*, 2003; Fukuda *et al.*, 2003; Encinas *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2006). L'analyse *in vivo* de ces cellules montrent qu'elles présentent les caractéristiques de cellules souches, puisqu'elles sont capables de s'auto-renouveler et de produire des neurones et des cellules gliales (Bonaguidi *et al.*, 2011). Néanmoins, certains auteurs montrent que ces cellules présentent une capacité d'auto-renouvellement réduite (Encinas *et al.*, 2011; Dranovsky *et al.*, 2012). Ces données suggèrent qu'il existerait des sous-types de cellules de type 1 présentant des capacités d'auto-renouvellement et de différenciation plus ou moins prononcées (voir pour revue Bonaguidi *et al.* 2012).



**Figure 11 : Modèle du lignage cellulaire permettant la genèse des nouveaux neurones dans la SGZ du GD de l'hippocampe**

Les cellules de type 1 se divisent pour donner soit des progéniteurs astrocytaires à l'origine des nouveaux astrocytes matures, soit des progéniteurs de type 2 qui se divisent en neuroblastes à l'origine des nouveaux neurones matures. Les cellules expriment différents marqueurs en fonction de leur type. Extrait de Bonaguidi *et al.* 2012.

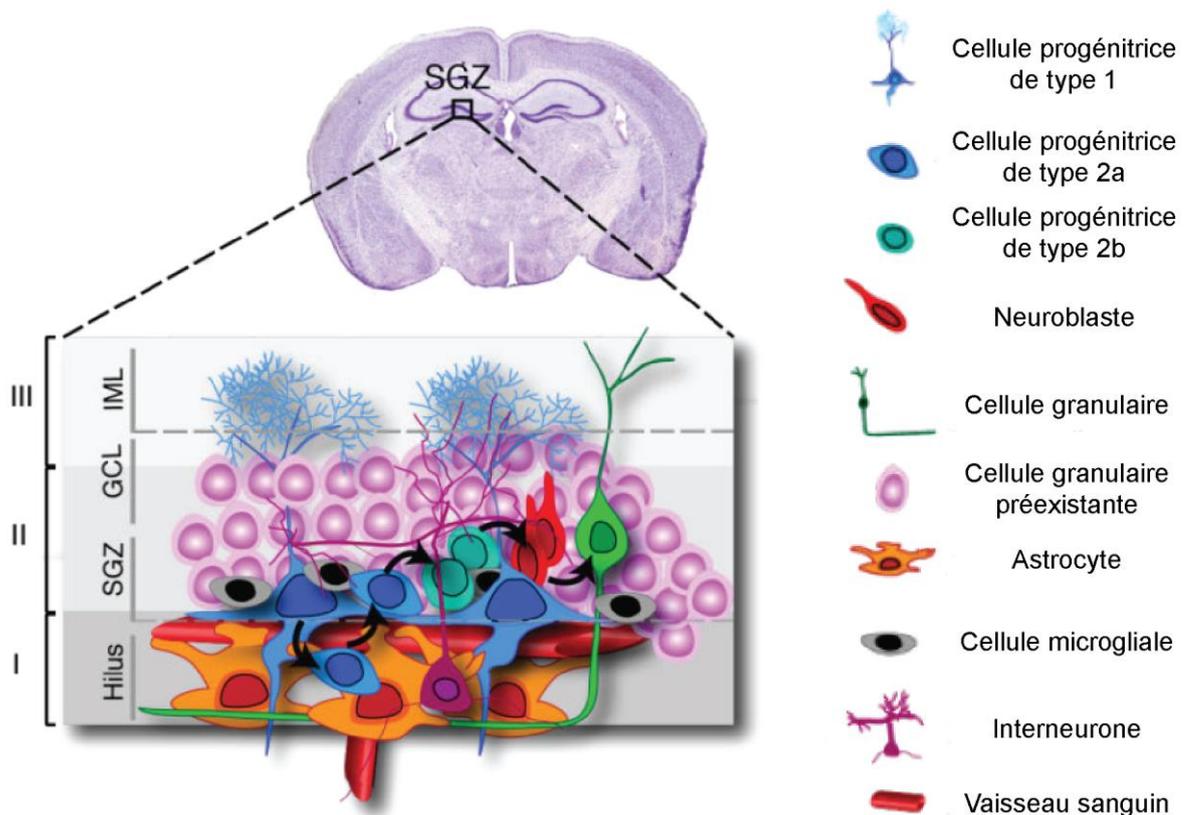
Les cellules de type 1 donnent naissance, par division asymétrique, à une cellule de même type, permettant de maintenir la stabilité de la population des cellules de type 1 dans le GD, et à une cellule, dite de type 2 (Figure 11). Ces **cellules de type 2** étaient décrites à l'origine comme étant des progéniteurs neuronaux (Altman & Das, 1965; Kaplan & Hinds, 1977; Kaplan & Bell, 1984; Doetsch, 2003b). Ce sont des petites cellules progénitrices immatures,

transitoires, avec un noyau dense irrégulier, qui commencent à migrer tangentiellement dans la couche granulaire et qui présentent un taux de division plus rapide et important que les cellules de type 1 aboutissant à la formation de clusters (Parent, 2007). Ces cellules expriment toujours la nestin mais plus la GFAP et peuvent être divisées en plusieurs sous-types selon qu'elles expriment ou non la protéine *T-domain transcription factor* (Tbr2) et/ou la *Doublecortin* (DCX), une protéine associée aux microtubules et impliquée dans la migration des neuroblastes (Nacher *et al.*, 2001a; Brown *et al.*, 2003b), ainsi que la PSA-NCAM, une molécule d'adhésion (Seki & Arai, 1991). Cette population de cellules de type 2 est la plus hétéroclite puisque certaines cellules de cette population sont engagées dans la voie de différenciation neuronale (Kempermann *et al.*, 2004; Steiner *et al.*, 2004, 2006; voir pour revue Bonaguidi *et al.*, 2012). De plus, les cellules de type 2 expriment les récepteurs du GABA de type A, indiquant qu'en fonction de leur âge elles reçoivent déjà des afférences GABAergiques. Par ailleurs, l'activation de ces récepteurs induit l'expression du facteur de transcription *Neurogenic differentiation* (NeuroD) favorisant la différenciation neuronale (Tozuka *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005b). Ces résultats indiquent que les cellules de type 2 montrent déjà des signes de différenciation neuronale, tant électrophysiologiques que morphologiques (Filippov *et al.*, 2003; Fukuda *et al.*, 2003; Kronenberg *et al.*, 2003).

La division asymétrique ou la maturation des cellules de type 2 aboutit aux cellules de type 3, aussi appelées **neuroblastes** (Figures 11 et 12; Doetsch, 2003b). Ce sont des cellules présentant un noyau rond ou légèrement triangulaire et qui sont encore capables de proliférer tout en étant engagées dans la voie de différenciation neuronale puisque toutes les cellules expriment la DCX et la PSA-NCAM (Seki, 2002). Par ailleurs, la partie dorsale du GD de l'hippocampe contient un plus grand nombre de cellules progénitrices que la partie ventrale (Jinno, 2011a; Bekiari *et al.*, 2014).

## B. Niche neurogénique

Les cellules progénitrices se situent dans la **niche neurogénique** qui constitue un micro-environnement composé de cellules et de facteurs spécifiques nécessaires à leur prolifération, différenciation et intégration au sein des réseaux neuronaux (Figure 12).



**Figure 12 : Architecture de la niche neurogénique du GD de l'hippocampe**

La niche neurogénique est constituée d'astrocytes, de cellules microgliales, d'interneurones et de vaisseaux sanguins fournissant l'environnement nécessaire au maintien, à la prolifération et à la différenciation des cellules progénitrices. Modifié d'après Doneda *et al.* 2013.

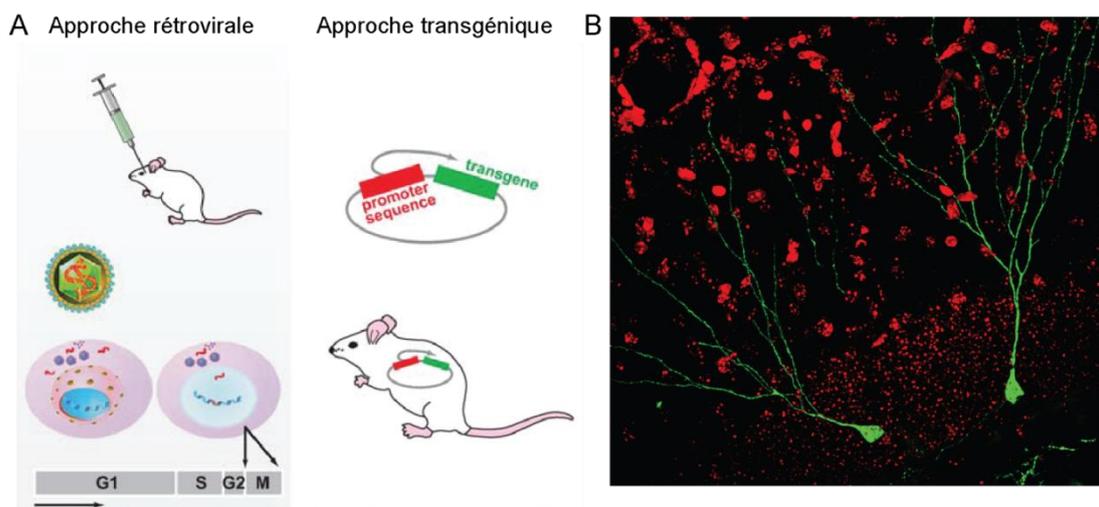
Dans le GD de l'hippocampe, la niche est constituée de cellules endothéliales, d'oligodendrocytes, de différents types de neurones et d'astrocytes (Figure 12; Wurmser *et al.*, 2004; voir pour revue Ehninger & Kempermann, 2008; Benarroch, 2013; Donegà *et al.*, 2013; Aimone *et al.*, 2014). Ces derniers jouent un rôle essentiel dans la différenciation neuronale des progéniteurs ainsi que dans l'intégration des nouveaux neurones (Song *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2005). Par ailleurs, les cellules progénitrices expriment des marqueurs identiques à ceux des cellules endothéliales et se situent à proximité des vaisseaux sanguins (Palmer *et al.*, 2000; Alvarez-Buylla & Lim, 2004). Ceci suggère une relation étroite entre les cellules progénitrices et la vascularisation, notamment *via* le *vascular endothelial growth factor* (VEGF) qui favorise leur prolifération (Jin *et al.*, 2002b; Cao *et al.*, 2004; Schänzer *et al.*, 2004; voir pour revue Fournier & Duman, 2012; Aimone *et al.*, 2014; Kirby *et al.*, 2015).

Le maintien de la niche neurogénique et de la prolifération des cellules progénitrices au sein de cette niche sont favorisés par de nombreux facteurs (voir pour revue Benarroch, 2013). Les gènes *Prospero homeobox protein 1* (Prox1) et *SRY box-containing gene-2* (Sox2) sont importants pour le maintien des cellules progénitrices au sein de la niche neurogénique

(Lavado *et al.*, 2010; voir pour revue Mu *et al.*, 2010) et différents facteurs sont nécessaires à leur prolifération, parmi lesquelles on peut citer *Sonic hedgehog* (Shh), le *Brain derived neurotrophic factor* (BDNF), l'*Insulin-like growth factor 2* (IGF2), la protéine disrupted-in-schizophrenia 1 (DISC1) ou encore le régulateur épigénétique *Growth arrest and DNA damage* (Gadd45b) (voir pour revue Mu *et al.*, 2010; Benarroch, 2013). De même, le GABA joue un rôle essentiel dans le taux de prolifération des cellules progénitrices de type 1 (Duveau *et al.*, 2011; Felice *et al.*, 2012; Gassmann & Bettler, 2012; Song *et al.*, 2012; Giachino *et al.*, 2014). Tous ces composants de la niche neurogénique sont déterminants pour le maintien de la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices et peuvent influencer leur devenir en lien avec l'activité neuronale (voir pour revue Zhao *et al.*, 2008).

### C. Maturation des nouveaux neurones

Les cellules de type 3 se différencient majoritairement en cellules granulaires immatures qui deviennent par la suite matures. Ce processus de maturation se traduit par la croissance de leurs prolongements neuritiques ainsi que par l'intégration synaptique des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux préexistants (Figure 13). L'étude détaillée de la maturation de ces cellules nouvellement formées dans le GD a été facilitée par l'utilisation de modèle de souris transgéniques ou de vecteurs rétroviraux qui permettent la visualisation de la morphologie complète de ces cellules (Figure 13; Van Praag *et al.*, 2002; voir pour revue Ming & Song, 2005; Imayoshi *et al.*, 2011).



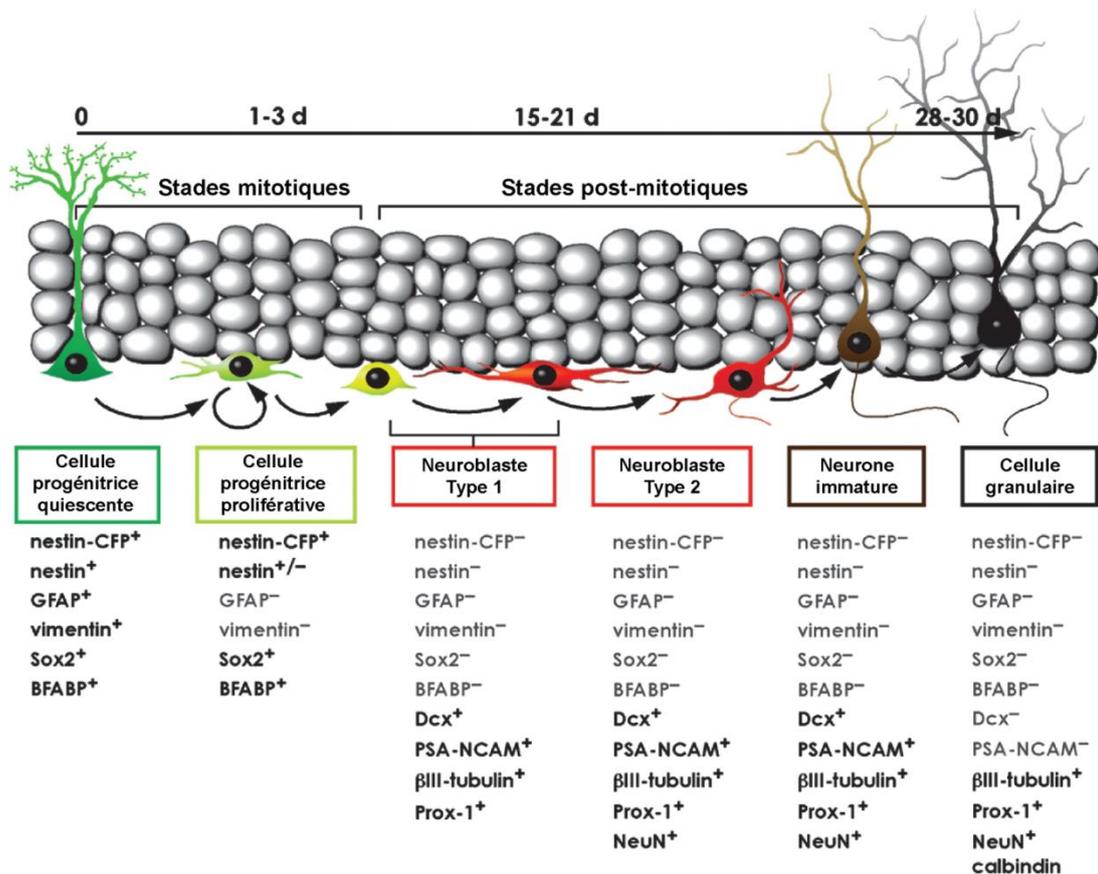
**Figure 13 : Marquage de cellules nouvellement formées par l'approche rétrovirale et transgénique**

**A.** L'approche rétrovirale repose sur l'expression spécifique de la GFP dans les cellules en cours de division alors que l'approche transgénique repose sur l'expression spécifique de la GFP en aval d'un promoteur particulier (Nestin, POMC, GFAP, *etc.*). Modifié de Ming & Song 2005. **B.** Exemple de nouveaux neurones âgés de 4 semaines marqués à la GFP suite à l'injection d'un vecteur rétroviral. Extrait de Veyrac *et al.* 2014.

Concernant les modèles de souris transgéniques, les plus utilisés sont les souris Nestin-Cre qui permettent l'expression de la *Green Fluorescent Protein* (GFP) en présence de Tamoxifen dans les cellules exprimant la nestin c'est-à-dire dans les cellules souches et les cellules progénitrices neuronales. On trouve également des modèles de souris transgéniques dont l'expression de la GFP est sous la dépendance de promoteur de gènes s'exprimant dans les cellules astocytaires. Les vecteurs rétroviraux contiennent la séquence d'un gène rapporteur, en général la GFP, mais ne contiennent pas les séquences d'adressage nucléaire, de telle sorte que l'intégration du vecteur rétroviral dans le génome des cellules hôtes se fait uniquement dans les cellules en cours de division, au moment de la rupture de la membrane nucléaire. La visualisation et l'analyse des cellules marquées peuvent être effectuées à différents temps après l'injection du vecteur, permettant ainsi la caractérisation des différents stades de maturations morphologique et électrophysiologique des nouveaux neurones. Ces études peuvent également être réalisées chez des lignées de souris génétiquement modifiées exprimant la GFP soit en aval du promoteur du gène nestin, ce qui permet de marquer les cellules progénitrices (Figure 13; Yamaguchi *et al.*, 2000; Kempermann *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005b; Lagace *et al.*, 2007b), soit en aval du promoteur du gène proopiomelanocortin (pomc) permettant de marquer spécifiquement les neurones immatures (Overstreet *et al.*, 2004; Overstreet-Wadiche *et al.*, 2005; Overstreet-Wadiche & Westbrook, 2006).

## 1. Expression des marqueurs de maturation neuronale

Environ 3 jours après la division initiale, près des deux tiers des cellules ont atteint le premier stade post-mitotique (Kempermann *et al.*, 2004), ce qui correspond à une population de neurones immatures exprimant de façon transitoire des marqueurs précoces de différenciation neuronale parmi lesquelles DCX, PSA-NCAM, ou Prox-1, un facteur de transcription exprimé précocement (Kronenberg *et al.*, 2003), ainsi que la *calretinin* (CR), une protéine de liaison au calcium exprimée majoritairement vers 1 semaine après la naissance des nouveaux neurones (Figure 14; Brandt *et al.*, 2003). L'expression de la CR et de DCX est ensuite remplacée par celle de la *calbindin* (CB) et de la protéine *Neuronal nuclei* (NeuN), deux protéines exprimées exclusivement dans les neurones matures (Figure 14; Kempermann *et al.*, 1997a; Brandt *et al.*, 2003; McDonald & Wojtowicz, 2005; Encinas *et al.*, 2006; Snyder *et al.*, 2009a). Bien que la CB soit exprimée dans toutes les cellules granulaires matures, elle ne constitue pas à elle seule un marqueur de maturation.



**Figure 14 : Expression de différents marqueurs au cours de la maturation des nouveaux neurones dans le GD**

En noir, marqueur exprimé ; en gris, marqueur précédemment exprimé qui ne s'exprime plus. Modifié d'après Encinas *et al.* 2006.

Globalement, l'expression des marqueurs d'immaturité neuronale comme DCX et PSA-NCAM est présente très tôt dans le soma et les dendrites des nouveaux neurones, puis elle diminue progressivement au profit de l'expression de marqueurs de maturité neuronale comme NeuN et CB avec une possible co-expression des marqueurs d'immaturité neuronale en même temps que des marqueurs de maturité neuronale (Figure 14; Cameron *et al.*, 1993; Brown *et al.*, 2003b; Kempermann *et al.*, 2003; Espósito *et al.*, 2005; McDonald & Wojtowicz, 2005; Encinas *et al.*, 2006; Snyder *et al.*, 2009a). A l'âge de 4 semaines, la majorité des nouveaux neurones expriment la CB (Kempermann *et al.*, 1997a). Néanmoins, des différences de maturation neuronale sur la base de l'expression de ces différents marqueurs ont été mises en évidence chez le rat et chez la souris (Snyder *et al.*, 2009a)

## 2. Migration au sein de la couche granulaire

Dans le GD de l'hippocampe, les nouveaux neurones migrent sur une courte distance, environ 200 µm, de la SGZ vers la couche granulaire du GD, durant les 4 semaines de leur maturation

(Miller & Nowakowski, 1988; Altman & Bayer, 1990; Cameron *et al.*, 1993; Kempermann *et al.*, 2003; voir pour revue Ming & Song, 2005). Plusieurs auteurs montrent que les nouveaux neurones âgés de 3 à 7 jours se retrouvent la plupart du temps sous forme de « clusters » dans la SGZ et pour une plus faible partie isolés dans le premier tiers de la couche granulaire (Cameron *et al.*, 1993; Kempermann *et al.*, 2003; Espósito *et al.*, 2005; Piatti *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2006; voir pour revue Mongiat & Schinder, 2011). A l'âge de 14 jours, les nouveaux neurones immatures et matures se situent principalement dans le premier tiers de la couche granulaire du GD (Cameron *et al.* 1993; Espósito *et al.* 2005; Gu, Janoschka, *et al.* 2012), indiquant une migration préférentielle des nouveaux neurones entre 7 et 14 jours, lorsque l'expression de DCX est la plus forte (Brown *et al.*, 2003b). A partir de l'âge de 1 mois, les nouveaux neurones migrent moins et sont majoritairement présents dans les deux premiers tiers de la couche granulaire du GD (Cameron *et al.*, 1993; Kempermann *et al.*, 2003; Espósito *et al.*, 2005; Spampanato *et al.*, 2012). La présence d'une migration des nouveaux neurones au sein de la couche granulaire indique que le GD de l'hippocampe conserve des conditions propices à la migration des nouvelles cellules au sein de la couche granulaire. On retrouve notamment dans cette structure la présence de glie radiaire qui permet la migration des cellules nouvellement formées durant le développement (Rickmann *et al.*, 1987; Gould *et al.*, 1992; Cameron *et al.*, 1993).

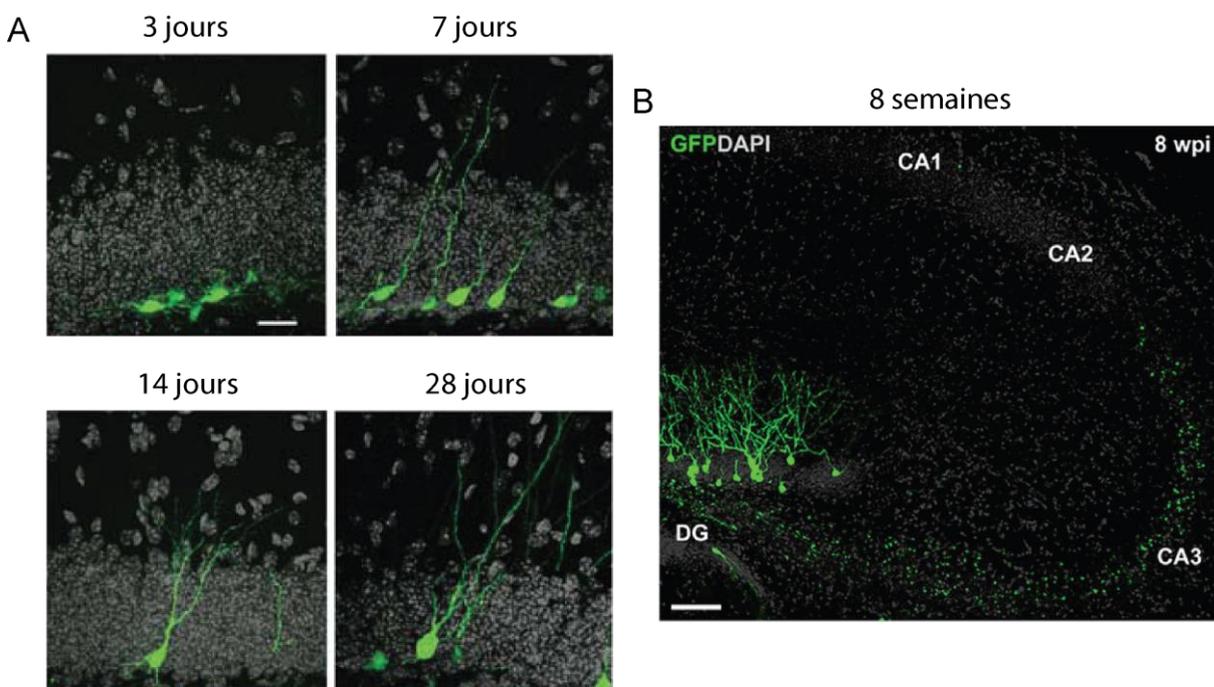
### 3. Sélection des nouveaux neurones

La neurogenèse adulte apparaît comme un processus peu économe puisque seule une faible proportion des cellules nouvellement formées survit à long terme. En effet, au cours des 4 premières semaines après leur naissance, les cellules nouvellement formées sont soumises à un processus de sélection au cours duquel elles sont soit intégrées au sein des réseaux neuronaux préexistants, soit éliminées par apoptose (Altman & Das, 1965; Cameron *et al.*, 1993; Kempermann *et al.*, 1997b; Hastings & Gould, 1999; Dayer *et al.*, 2003; voir pour revue Zhao *et al.*, 2008; Aasebø *et al.*, 2011). En condition basale, seule une certaine proportion des nouvelles cellules produites survit : environ 30% de la population de départ chez la souris et 60% chez le rat (Kempermann *et al.*, 2003; Snyder *et al.*, 2009a), alors que les autres cellules meurent par apoptose (Biebl *et al.*, 2000; Sun *et al.*, 2004; Kuhn *et al.*, 2005). Par ailleurs, la sélection des nouveaux neurones est plus forte dans la partie dorsale du GD que dans la partie ventrale où le niveau de neurogenèse est plus stable (Bekiari *et al.*, 2014).

### 4. Maturation morphologique

Parallèlement à l'expression de certains marqueurs de maturité neuronale, les nouveaux neurones entament un processus de développement de leur arborisation dendritique.

L'utilisation de vecteurs rétroviraux a permis de montrer que celle-ci commence à se développer lors des 2 premières semaines après la naissance des nouveaux neurones (Figure 15; Van Praag *et al.*, 2002; Espósito *et al.*, 2005; Ge *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2006; voir pour revue Toni & Sultan, 2011).



**Figure 15 : Maturation morphologique des nouveaux neurones du GD**

Les nouveaux neurones sont marqués grâce à l'injection d'un vecteur rétroviral GFP. **A.** Maturation morphologique de l'arborisation dendritique des nouveaux neurones à différents temps après leur naissance. Extrait de Ge *et al.* 2006. **B.** Connexion axonique des nouveaux neurones âgés de 8 semaines sur les cellules pyramidales de l'aire CA3 de l'hippocampe. Extrait de Faulkner *et al.* 2008.

Dès le début de leur maturation, les cellules granulaires immatures présentent une courte dendrite apicale dépourvue d'épines dendritiques, n'atteignant que le deuxième tiers de la couche moléculaire (Wang *et al.*, 2000; Ambrogini *et al.*, 2004a; Espósito *et al.*, 2005; Ming & Song, 2005; Zhao *et al.*, 2006). L'axone commence à se développer en direction de l'aire CA3 entre 3 et 10 jours après la naissance des nouveaux neurones et les premiers contacts synaptiques avec leurs neurones cibles apparaissent dès la deuxième semaine (Hastings & Gould, 1999; Markakis & Gage, 1999; Ribak *et al.*, 2004; Piatti *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2006; Faulkner *et al.*, 2008; Toni *et al.*, 2008; voir pour revue Mongiat & Schinder, 2011; Gu *et al.*, 2012a, 2012b). Plus récemment, Llorens-Martín et coll. montrent que certains nouveaux neurones sont également connectés aux neurones pyramidaux de l'aire CA2 (Llorens-martín *et al.*, 2015). En parallèle, les prolongements dendritiques augmentent dans la couche moléculaire (Markakis & Gage, 1999; Zhao *et al.*, 2006; voir pour revue Gu *et al.*, 2012b; Aimone *et al.*, 2014) et vers le 10<sup>ème</sup> jour, l'arborisation dendritique atteint le premier tiers de la

couche moléculaire, le deuxième tiers vers le 14<sup>ème</sup> jour et le tiers externe vers le 21<sup>ème</sup> jour (Zhao *et al.*, 2006). Lorsque l'arborisation dendritique atteint un certain degré de complexité, environ 2 semaines après la naissance des nouveaux neurones, les premières épines dendritiques apparaissent (Wang *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2006; Spampinato *et al.*, 2012). A partir de la troisième semaine, l'arborisation dendritique subit d'importantes modifications structurales notamment en termes de type, densité et de motilité des épines dendritiques (Ambrogini *et al.*, 2004a; Zhao *et al.*, 2006; Toni *et al.*, 2007, 2008; voir pour revue Toni & Sultan, 2011).

Durant cette période de maturation, les nouveaux neurones deviennent plus vite matures dans la partie dorsale du GD que dans la partie ventrale, que ce soit en termes d'expression des marqueurs de maturité neuronale, de croissance dendritique ou de formation des épines dendritiques (Piatti *et al.*, 2011; Bekiari *et al.*, 2014).

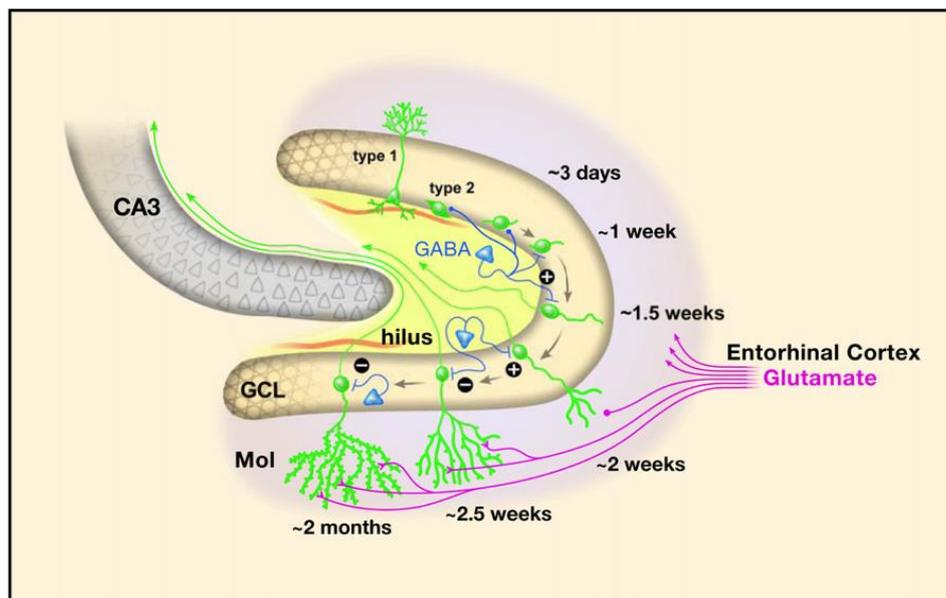
Un mois après leur naissance, les cellules granulaires néoformées possèdent des caractéristiques morphologiques comparables à celles des neurones matures préexistants. Néanmoins, l'arborisation dendritique des nouveaux neurones ainsi que la densité des épines dendritiques continuent à se complexifier au cours des mois suivants jusqu'à 4 mois, âge auquel les cellules granulaires néoformées présentent une morphologie identique à celle des neurones préexistants (Van Praag *et al.*, 2002; Laplagne *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2006; Toni *et al.*, 2007, 2008; Faulkner *et al.*, 2008; voir pour revue Mongiat & Schinder, 2011; Gu *et al.*, 2012b; Aimone *et al.*, 2014; Aguilar-Arredondo *et al.*, 2015).

## 5. Maturation et intégration fonctionnelle

Dès la première semaine, malgré l'absence d'afférences, les progéniteurs tardifs et les nouveaux neurones immatures sont capables d'émettre des potentiels d'action (PA) de faible amplitude, même si la forte résistance d'entrée et la faible capacitance membranaire des nouveaux neurones ainsi que leur faibles courants sodiques entrants et potassiques sortants montrent qu'ils possèdent des caractéristiques électrophysiologiques immatures à cet âge (Liu *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000, 2005b; Van Praag *et al.*, 2002; Filippov *et al.*, 2003; Fukuda *et al.*, 2003; Ambrogini *et al.*, 2004a; Espósito *et al.*, 2005; Overstreet-Wadiche *et al.*, 2005; Mongiat *et al.*, 2009).

Au cours des 2 premières semaines après leur naissance, les nouveaux neurones reçoivent les premières afférences fonctionnelles depuis les cellules pyramidales du cortex entorhinal (Figure 16; De La Rosa-Prieto *et al.*, 2015). Bien qu'à ce stade les nouveaux neurones expriment à la fois des récepteurs glutamatergiques et GABAergiques, ces premières afférences au niveau des dendrites sont exclusivement GABAergiques et sont essentielles à la maturation correcte des nouveaux neurones (Espósito *et al.*, 2005; Overstreet-Wadiche *et*

*al.*, 2005; Tozuka *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005b; Ge *et al.*, 2006; voir pour revue Mongiat & Schinder, 2011; Gu *et al.*, 2012b). A ce stade, la transmission GABAergique est dépolarisante (Figure 16; Ambrogini *et al.*, 2004a; Overstreet-Wadiche *et al.*, 2005; Ge *et al.*, 2006; voir pour revue Piatti *et al.*, 2006; Aasebø *et al.*, 2011; Gu *et al.*, 2012b). En effet, durant cette période, les nouveaux neurones expriment le co-transporteur du chlore *Na-K-Cl-cotransporter 1* (NKCC1) qui favorise la sortie du chlore de la cellule entraînant ainsi une dépolarisation post-synaptique lors d'une libération de GABA (Tozuka *et al.*, 2005). Cette action dépolarisante du GABA est essentielle pour l'établissement des afférences synaptiques fonctionnelles, la croissance dendritique, la maturation et l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones (Tozuka *et al.*, 2005; Ge *et al.*, 2006; voir pour revue Aimone *et al.*, 2014; Pallotto & Deprez, 2014), ainsi que pour l'incorporation synaptique des récepteurs glutamatergiques AMPA (Chancey *et al.*, 2013).



**Figure 16 : Intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe**

Dès la première semaine les nouveaux neurones reçoivent des afférences dépolarisantes GABAergiques (bleu) qui deviennent hyperpolarisantes au cours de la troisième semaine. A partir de la deuxième semaine, les nouveaux neurones reçoivent les premières afférences glutamatergiques (en violet) en parallèle de la formation des afférences vers l'aire CA3 (en vert). Extrait de Zhao *et al.* 2008.

A la fin de la deuxième semaine, les cellules granulaires nouvellement formées ont des contacts synaptiques fonctionnels avec des interneurones, des cellules mossues et pyramidales de l'aire CA3 (Toni *et al.*, 2008). Parallèlement au développement des afférences synaptiques glutamatergiques au cours de la troisième semaine, les afférences GABAergiques deviennent hyperpolarisantes (Figure 16; Ambrogini *et al.*, 2004a; Ge *et al.*, 2006). A ce stade, l'expression du co-transporteur du chlore, le *K-Cl-cotransporter 2* (KCC2), augmente graduellement tandis que celle de NKCC1 diminue (Ge *et al.*, 2006). KCC2 étant un exportateur de chlore, la concentration intracellulaire de chlore diminue dans la cellule

entraînant ainsi une hyperpolarisation des nouveaux neurones lors d'une libération de GABA. Le passage de l'action dépolarisante à hyperpolarisante du GABA au niveau des nouveaux neurones est appelé « *switch* » GABAergique (Ge *et al.*, 2006).

Environ 4 semaines après leur naissance, les nouvelles cellules granulaires reçoivent des afférences glutamatergiques fonctionnelles et émettent des PA comme les neurones matures (Van Praag *et al.*, 2002; Mongiat *et al.*, 2009; Gu *et al.*, 2012a), ainsi que des trains de PA associés à un phénomène d'adaptation à la haute fréquence (Espósito *et al.*, 2005).

La dernière étape de l'intégration synaptique des nouveaux neurones, entre 3 et 6 semaines après leur naissance, consiste en la formation des connexions synaptiques GABAergiques au niveau de leur soma et des dernières connexions des afférences glutamatergiques au niveau de leurs dendrites (Van Praag *et al.*, 2002; Espósito *et al.*, 2005). Carlén et coll. en 2002 montrent que les nouveaux neurones âgés de 3 à 7 semaines sont effectivement intégrés fonctionnellement dans les réseaux neuronaux de l'hippocampe (Carlén *et al.*, 2002). Pour cela, les auteurs ont utilisé un vecteur viral GFP PRV GS518 comme traceur trans-synaptique rétrograde pour marquer les neurones connectés au sein d'un même réseau. L'injection de ce vecteur dans l'aire CA1 de l'hippocampe couplée à l'injection et au marquage de BrdU a permis de montrer que les nouveaux neurones infectés, donc synaptiquement connectés sont âgés de 3 à 7 semaines (Carlén *et al.*, 2002). Bien qu'intégrés au réseau hippocampique, les nouveaux neurones présentent néanmoins à ce stade une activité évoquée différente de celle des neurones matures. En effet, en réponse à un protocole de stimulation en double chocs de la voie perforante, les nouveaux neurones âgés de 4 semaines expriment une dépression et non une facilitation comme observée sur des neurones matures (Van Praag *et al.*, 2002), indiquant que l'élément présynaptique n'a pas complètement achevé sa maturité.

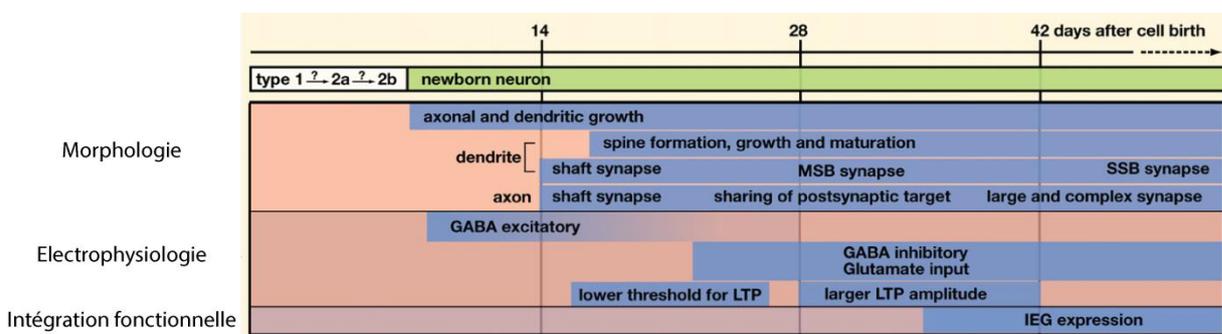
L'induction pharmacologique ou comportementale de l'expression des gènes immédiats précoces (IEGs) dans les nouveaux neurones est également un indice de leur intégration au sein des réseaux puisqu'ils sont induits en réponse à une activité synaptique (Jessberger & Kempermann, 2003; Aguilar-Arredondo *et al.*, 2015). Les IEGs sont des gènes dont l'expression est induite rapidement et transitoirement en réponse à des signaux extracellulaires et dont l'induction ne nécessite pas de synthèse protéique (voir partie 2, page 151). L'injection de kaïnate chez la souris n'induit pas d'expression des IEGs (*c-Fos*, *Zif268*) dans des nouveaux neurones âgés de 2 semaines mais induit une expression dans 25% des nouveaux neurones âgés de 3 semaines, dans 50% de ceux âgés de 4 semaines et dans 80% de ceux âgés de 7 semaines, proportion équivalente à l'induction de l'expression des IEGs dans les neurones préexistants (Jessberger & Kempermann, 2003; Snyder *et al.*, 2009a). Ces résultats suggèrent que chez la souris, les nouveaux neurones de 2 semaines ne peuvent être recrutés par l'activité des réseaux contrairement à ceux âgés de 3 semaines. Chez le rat, l'induction d'une PLT dans le GD de l'hippocampe par stimulation de la voie

perforante stimule l'expression du facteur de transcription Zif268 dans les nouveaux neurones âgés de 2 semaines mais pas de ceux âgés de 1 semaine (Bruehl-Jungerman *et al.*, 2006). De même, Snyder et coll. montrent que l'injection de kaïnate chez le rat induit l'expression d'IEGs à partir de la deuxième semaine équivalente à celle observée dans des neurones matures préexistants âgés de 4 semaines (Snyder *et al.*, 2009a).

L'ensemble de ces résultats montre que les nouveaux neurones présentent des caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques fonctionnelles dès l'âge de 2 semaines chez le rat et à l'âge de 3 semaines chez la souris. L'expression des IEGs (c-Fos et Zif268) semble être un bon indicateur de l'intégration des nouveaux neurones puisque leur cinétique d'expression est cohérente avec leur maturation morphologique et électrophysiologique. Ces résultats suggèrent que les nouveaux neurones peuvent être recrutés par l'activité synaptique avant même qu'ils ne soient complètement matures.

## 6. Des propriétés électrophysiologiques particulières

Bien que les nouveaux neurones formés à un moment donné ne représentent qu'une faible proportion des neurones du GD de l'hippocampe, plusieurs études montrent que, durant une période dite critique, les cellules granulaires nouvellement formées ont des **propriétés électrophysiologiques particulières** par rapport aux cellules granulaires matures (Figure 17).



**Figure 17 : Les nouveaux neurones présentent des propriétés électrophysiologiques particulières**

Le développement des nouveaux neurones dans le GD de l'hippocampe est caractérisé par une maturation morphologique, des propriétés électrophysiologiques particulières et une intégration fonctionnelle au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe. Modifié de Zhao *et al.* 2008.

Tout d'abord, les nouveaux neurones présentent une forte résistance membranaire et, contrairement aux neurones matures qui sont capables d'émettre des trains de PA suite à une stimulation, les nouveaux neurones âgés de 1 à 3 semaines présentent des propriétés membranaires qui leur permettent de générer des PA plus facilement que des neurones plus matures, même s'ils n'émettent qu'un ou que quelques PA (Schmidt-Hieber *et al.*, 2004;

Mongiat *et al.*, 2009; Spampanato *et al.*, 2012). Ces données suggèrent que lors de l'activation des réseaux neuronaux dans lesquels ils sont intégrés, il serait donc plus facile de recruter les nouveaux neurones d'un âge critique que des neurones plus matures. Ce seuil plus bas de génération de PA est dû à la présence de canaux calcium de type T capables de générer des courants lents favorisant ainsi l'initiation rapide de PA (Ambrogini *et al.*, 2004a; Schmidt-Hieber *et al.*, 2004; Gu *et al.*, 2012a, voir pour revue 2012b). Par ailleurs, cette période temporelle d'hyperexcitabilité des nouveaux neurones est plus courte dans la partie dorsale du GD de l'hippocampe que dans la partie ventrale (Piatti *et al.*, 2011).

Comme exposé ci-dessus (voir IV.C.5, page 49), les afférences GABAergiques sont dépolarisantes jusqu'à la troisième semaine de maturation des nouveaux neurones (Espósito *et al.*, 2005; Overstreet-Wadiche *et al.*, 2005, 2006; Tozuka *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005b; Ge *et al.*, 2006), favorisant ainsi leur dépolarisation lors d'une activation, même faible, des réseaux neuronaux hippocampiques (Mongiat *et al.*, 2009). De plus, les nouveaux neurones immatures présentent une dendrite basale qui s'étend de façon transitoire dans le hile et qui se rétracte lorsque les nouveaux neurones deviennent matures (Ribak *et al.*, 2004). Cette dendrite basale pourrait être une autre source d'influx excitateurs lors d'une stimulation, favorisant la participation des nouveaux neurones à l'activité des réseaux hippocampiques.

Deux formes de PLT sont présentes dans le GD de l'hippocampe : une forme inductible uniquement en présence d'inhibiteur de la transmission GABAergique et une inductible sans inhibiteur GABAergique (Snyder *et al.*, 2001). En effet, il existe une forte inhibition GABAergique dans le GD (Wigstrom & Gustafsson, 1983) et l'utilisation d'inhibiteurs de la transmission GABAergique permet d'augmenter l'amplitude de la PLT. Wang et coll. montrent *in vitro* que les cellules granulaires localisées dans la partie inférieure de la couche granulaire, riche en cellules nouvellement formées, présentent un seuil d'induction de la PLT plus bas que celles localisées dans la partie externe de la couche et cette PLT est inductible même si la transmission GABAergique est intacte (Wang *et al.*, 2000). De plus, le blocage de la neurogenèse hippocampique adulte par irradiation ou dans des modèles de souris transgéniques entraîne une perte de la PLT mais uniquement de celle inductible en présence d'une transmission GABAergique intacte (Snyder *et al.*, 2001; Saxe *et al.*, 2006). En l'absence de neurogenèse adulte, la PLT inductible en présence d'inhibiteurs GABAergique reste intacte (Snyder *et al.*, 2001; Saxe *et al.*, 2006). Ces résultats montrent donc que les cellules nouvellement formées ont des propriétés électrophysiologiques différentes de celles des neurones matures et que l'induction de la PLT en présence d'une transmission GABAergique intacte nécessite la neurogenèse adulte. Par ailleurs, alors que l'induction d'une PLT des neurones matures nécessite une forte stimulation, une stimulation plus faible est suffisante pour induire une PLT des nouveaux neurones (Wang *et al.*, 2000; Schmidt-Hieber *et al.*, 2004; Espósito *et al.*, 2005; Ge *et al.*, 2007; voir pour revue Mongiat & Schinder, 2011; Gu *et al.*, 2012b), indiquant que le seuil d'induction de la PLT est plus faible pour les nouveaux

neurones. L'amplitude de la PLT des nouveaux neurones en réponse à une stimulation tétanique est par ailleurs plus importante que celle des neurones matures (Ge *et al.*, 2007). Cette période de facilitation de la plasticité synaptique est transitoire, entre 4 et 6 semaines après la naissance des nouveaux neurones chez la souris (Schmidt-Hieber *et al.*, 2004; Espósito *et al.*, 2005; Ge *et al.*, 2007; Gu *et al.*, 2012a, voir pour revue 2012b; Pallotto & Deprez, 2014). Cette potentialisation dépend de l'expression de la sous-unité NR2B des récepteurs NMDA du glutamate dans les nouveaux neurones au cours de leur maturation (Ge *et al.*, 2007). En effet, les récepteurs NR2B sont impliqués dans la régulation de la plasticité synaptique en favorisant notamment la PLT (Tang *et al.*, 1999; Barth & Malenka, 2001; Liu *et al.*, 2004; Barria & Malinow, 2005; Kim *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2005; voir pour revue Gu *et al.*, 2012b; Spampanato *et al.*, 2012). C'est également durant cette période comprise entre 4 et 6 semaines après leur naissance que les nouveaux neurones montrent le plus de modifications morphologiques au niveau du nombre et de la morphologie des épines dendritiques (voir pour revue Toni & Sultan, 2011).

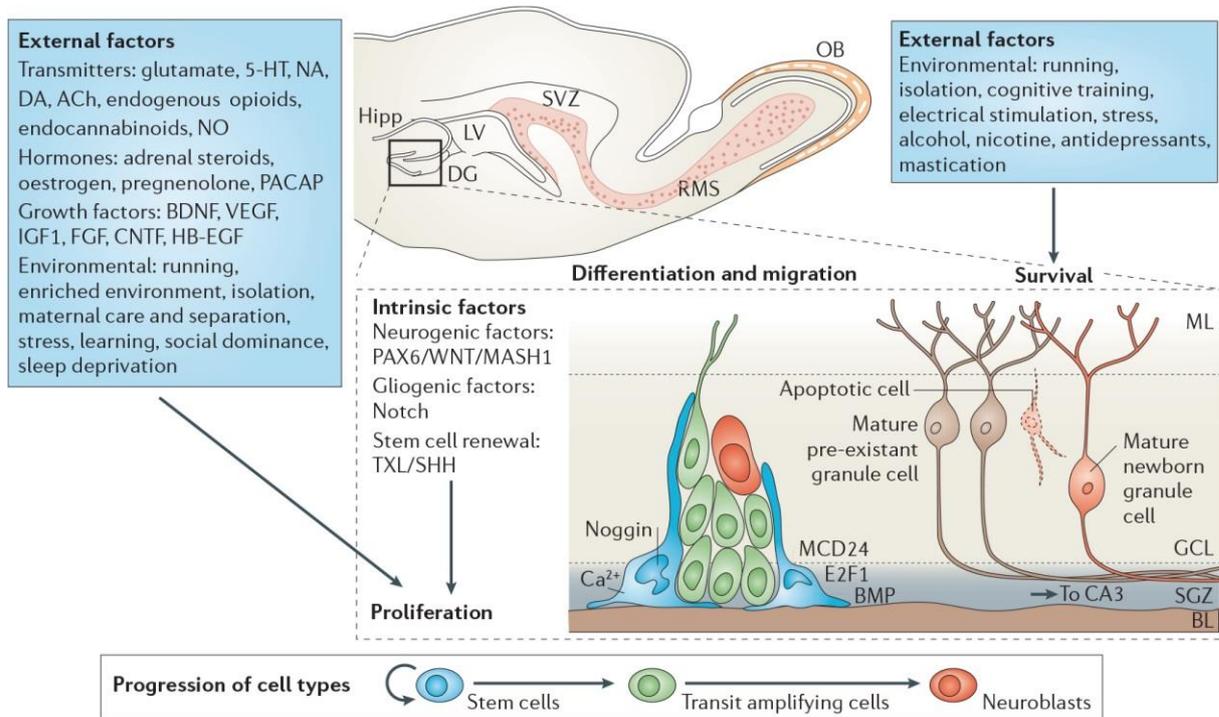
L'ensemble de ces données montre donc que les cellules granulaires nouvellement formées dans le GD de l'hippocampe présentent des propriétés particulières d'excitabilité et de plasticité durant une période critique dont la durée peut varier en fonction de l'activité des réseaux neuronaux du GD (Figure 17; Piatti *et al.*, 2011). Cette hyperexcitabilité des nouveaux neurones pourrait leur conférer un rôle spécifique et essentiel dans les fonctions hippocampiques (voir Chapitre 3, page 69).

## D. Cellules granulaires matures

Comme nous l'avons vu, les cellules néoformées poursuivent leur maturation jusqu'à l'âge de 4 mois, âge auquel elles présentent une morphologie similaire à celle des cellules préexistantes. Le soma des cellules est rond, l'axone est connecté aux cellules pyramidales de l'aire CA3 et CA2 et les dendrites épineuses se ramifient dans la couche moléculaire et reçoivent des afférences GABAergiques et glutamatergiques fonctionnelles (Van Praag *et al.*, 2002; Espósito *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2006). Les cellules granulaires matures expriment NeuN et la CB (Brandt *et al.*, 2003; Snyder *et al.*, 2009a). D'un point de vue électrophysiologique, les nouveaux neurones matures présentent une faible résistance d'entrée membranaire et une haute capacitance membranaire, caractéristiques des neurones matures (Espósito *et al.*, 2005). Le passage d'un neurone immature à un nouveau neurone mature complètement fonctionnel, indissociable d'un autre neurone mature du GD, est, on l'a vu, un mécanisme complexe comprenant de nombreuses étapes essentielles à la maturation et à l'intégration adéquates des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe.

## V. Régulation de la neurogenèse hippocampique adulte

Les différentes étapes de la neurogenèse adulte, depuis la prolifération des cellules progénitrices jusqu'à la maturation et l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein des réseaux hippocampiques sont très finement régulées (Figure 18).



**Figure 18 : Régulation des différentes étapes de la neurogenèse hippocampique adulte**

Les différentes étapes de la neurogenèse adulte peuvent être modulées par des facteurs intrinsèques et extrinsèques à différents niveaux, depuis la prolifération des cellules progénitrices jusqu'à l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones. Extrait de Lledo *et al.* 2006.

De nombreux facteurs régulent positivement ou négativement la neurogenèse adulte (voir pour revue Abrous *et al.*, 2005; Ming & Song, 2005; Lledo *et al.*, 2006; Parent, 2007; Aimone *et al.*, 2014). Il est courant de distinguer les facteurs intrinsèques, produits directement par les cellules progénitrices et/ou néoformées tels que les facteurs génétiques, épigénétiques et les facteurs de transcriptions, des facteurs extrinsèques présents dans le milieu extracellulaire de la niche neurogénique. La régulation de la neurogenèse par un grand nombre de facteurs montre qu'il s'agit d'un mécanisme adaptatif capable de répondre aux modifications de l'environnement.

## A. Facteurs intrinsèques

### 1. Influence du fond génétique

La neurogenèse adulte concerne plusieurs espèces mammifères (voir III.B, page 34) avec cependant des différences des taux de neurogenèse, suggérant une importance des **facteurs génétiques** dans sa régulation (voir pour revue Amrein *et al.*, 2011). En effet, chez la souris, plusieurs études montrent que la prolifération et la survie des nouvelles cellules sont fortement influencées par le fond génétique (Kempermann *et al.*, 1997a; Kempermann & Gage, 2002a; Kim *et al.*, 2009a; Snyder *et al.*, 2009a). Kempermann et coll. ont réalisé une étude génétique comparative de 52 souches recombinantes de souris comprises dans deux panels différents de référence (AXB/BXA et BXD) et montrent qu'ils existent des différences d'expression de gènes impliqués dans les processus de régulation des différentes étapes de la neurogenèse (Kempermann *et al.*, 2006), suggérant un contrôle génétique de la régulation de la neurogenèse. Chez le rat, les nouvelles cellules formées meurent plus rapidement chez la souche Long Evans (LE) par rapport à la souche Sprague-Dawley (SD) et la population des nouvelles cellules est stabilisée dès la deuxième semaine chez les LE (Snyder *et al.*, 2009a). De même, les rats « *Spontaneously Hypertensive* » (SHR) montrent un taux de prolifération et de survie des nouvelles cellules produites supérieur à celui des rats SD (Perfilieva *et al.*, 2001). Par ailleurs, on notera également que quelque soient les souches étudiées, le taux de survie des nouveaux neurones à 4 semaines est toujours plus élevé chez le rat que chez la souris (Snyder *et al.*, 2009a). Ces données indiquent que la formation, la différenciation et la survie des cellules nouvellement formées dans le GD sont régulées par des facteurs génétiques et que le fond génétique est un paramètre important pour le choix de son modèle d'étude et la comparaison des résultats obtenus avec différents modèles.

### 2. Programmes cellulaires intrinsèques

Il existe un grand nombre de **programmes cellulaires intrinsèques** qui influencent les différentes étapes de la neurogenèse adulte, depuis la prolifération et la différenciation des nouvelles cellules jusqu'à leur intégration (voir pour revue Abrous *et al.* 2005; Mu *et al.* 2010). De nombreux gènes sont impliqués dans les processus de développement du système nerveux central et, au vu des similitudes entre les étapes développementales et les étapes de la neurogenèse adulte, il devient de plus en plus évident que ces deux processus partagent des mécanismes de régulation communs. Sonic hedgehog par exemple, régulateur clé de la prolifération cellulaire et de la différenciation neuronale pendant le développement, est également impliqué dans ces mêmes processus au cours de la régulation de la neurogenèse adulte (Lai *et al.*, 2003; Machold *et al.*, 2003). D'autres exemples concernent la voie de signalisation Wnt/ $\beta$ Catenin qui joue un rôle important dans la balance entre prolifération et

différenciation des cellules progénitrices chez le rat adulte (Lie *et al.*, 2005; Jagasia *et al.*, 2006; Kuwabara *et al.*, 2009), la protéine transmembranaire Notch1 qui intervient dans le maintien des cellules progénitrices en facilitant leur prolifération (Ables *et al.*, 2010; voir pour revue Crowther & Song, 2014), la protéine *Collapsin response mediator protein 5* (CRMP5), une protéine exprimée dans une fraction de neuroblastes encore en division et dans la totalité des neuroblastes post-mitotiques et qui participe à la régulation négative de la prolifération des cellules progénitrices et de la survie de nouveaux neurones (Veyrac *et al.*, 2011).

La maturation dendritique et synaptique des nouveaux neurones implique un certain nombre de facteurs dont la *cyclin-dependent kinase 5* (Cdk5), une kinase associée au régulateur p35. L'absence de Cdk5 chez la souris entraîne des altérations de la morphologie des arborisations et des épines dendritiques des neurones néoformés mais également des déficits de migration et de survie à long terme (Jessberger *et al.*, 2008; Lagace *et al.*, 2008; voir pour revue Mu *et al.*, 2010). La protéine DISC1 est également impliquée dans la morphologie des nouvelles cellules, notamment dans la taille du soma, la croissance axonale, l'initiation et le développement de l'arborisation dendritique, et la formation des épines dendritiques (Duan *et al.*, 2007; Faulkner *et al.*, 2008; Kvajo *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009b; Lee *et al.*, 2015). De plus, DISC1 régule la migration des nouveaux neurones au sein de la couche granulaire ainsi que le « *switch* » GABAergique (Duan *et al.*, 2007; Kvajo *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009b; Pontes *et al.*, 2013). Le cil primaire qui est formé lorsque les nouveaux neurones s'installent définitivement dans la couche granulaire du GD, entre la deuxième et troisième semaine après leur naissance, joue un rôle critique dans la complexification de l'arborisation dendritique *via* la voie de signalisation *Wnt/βCatenin* (Kumamoto *et al.*, 2012). De même, le *nuclear factor-kappa b p50* (NF-κB p50) est nécessaire à la survie à long terme des nouveaux neurones (Denis-Donini *et al.*, 2008).

### 3. Programmes épigénétiques

Les processus épigénétiques sont caractérisés par des modifications d'expression génique avec des effets biologiques à long terme sans induire d'altération de séquences d'ADN. Les principaux mécanismes épigénétiques concernent la méthylation de l'ADN, les modifications post-translacionnelles des histones et la régulation/expression d'ARN non codants, dont les microARN (miRNA) (voir pour revue Ma *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011). Ces mécanismes épigénétiques sont des facteurs puissants qui régulent la neurogenèse adulte, notamment dans les cellules progénitrices où ces mécanismes influencent durablement leur devenir (voir pour revue Ma *et al.*, 2010; Crowther & Song, 2014).

La **méthylation de l'ADN** est la modification épigénétique la plus stable et la plus étudiée dans le génome des mammifères depuis les années 1950 (voir pour revue Covic *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011). Elle intervient au niveau des paires de nucléotides CpG par les DNA

methyltransférase. Les *methyl-CpG binding proteins* (MBD) sont les principaux médiateurs de la méthylation de l'ADN impliquées dans la régulation de l'expression des gènes. Plusieurs auteurs ont montré que la protéine MBD1 joue un rôle crucial dans le maintien de la stabilité génomique et la neurogenèse hippocampique basale, au niveau de la prolifération des cellules progénitrices ainsi que dans la différenciation neuronale des cellules filles (Zhao *et al.*, 2003; voir pour revue Mu *et al.*, 2010). MBD1 se lie directement sur la région du promoteur du facteur de croissance *fibroblast growth factor 2* (FGF2), un mitogène important pour la neurogenèse adulte (Zhao *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2009b), régulant ainsi son expression dans les cellules progénitrices. Une autre étude a montré un rôle plus complexe de MBD1 puisqu'elle régule la balance entre prolifération et différenciation des cellules progénitrices en contrôlant l'expression de plusieurs miRNA dont miR-184 (Liu *et al.*, 2010). La *methyl-CpG-binding protein* (MeCP2), qui régule négativement l'expression du facteur de croissance BDNF, essentiel à la prolifération, la maturation neuronale et morphologique des nouveaux neurones, joue un rôle important dans la maturation neuronale et la formation des épines dendritiques des nouveaux neurones (Schmidt & Duman, 2007; Smrt *et al.*, 2010). De la même façon que MBD1, MeCP2 régule la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices en modulant l'expression du *miR-137* (Szulwach *et al.*, 2010). *Gadd45b*, gène immédiat précoce inductible impliqué dans la déméthylation de l'ADN, joue un rôle dans la prolifération des cellules progénitrices induite par l'activité des réseaux neuronaux et la croissance dendritique des nouveaux neurones, *via* la régulation de l'expression de facteurs de croissance tel que le BDNF ou encore le FGF (Ma *et al.*, 2009a; voir pour revue Mu *et al.*, 2010).

Les **modifications des histones** peuvent être de différents types : acétylation, méthylation, phosphorylation, ubiquitination, ribosylation et sumoylation. L'acétylation se produit au niveau des résidus de lysine par les histones acétyltransférases (HAT) et peut être annulée par les histones désacétylases (HDAC). Les HAT et HDAC sont impliquées dans la maturation et la survie des nouveaux neurones *via* la régulation des facteurs de transcription Sox2 (Jawerka *et al.*, 2010), NeuroD1 et *T-cell leukemia homeobox 1* (Tlx1) (Hsieh *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2007, voir pour revue 2011).

Plus récemment, il a été montré que les **miRNA** représentent une importante classe de molécules capables d'interagir avec des modificateurs de la chromatine et des facteurs de transcription. Plusieurs *miRNA*, tels que *miR-9*, *miR-124*, *miR-125b*, *miR-132*, *miR-134*, *miR-137*, *miR-138* et *miR-184* régulent le développement synaptique et dendritique des nouveaux neurones (voir pour revue Ma *et al.*, 2010; Mu *et al.*, 2010; Wakabayashi *et al.*, 2014). Le *miR-184*, dont l'expression est régulée négativement par MBD1, favorise la prolifération et inhibe la différenciation des cellules progénitrices en réprimant la transcription de la protéine Numblike (Liu *et al.*, 2010). Le *miR-137* joue également un rôle important dans le maintien et la prolifération des cellules progénitrices. Il est régulé par Sox2 et par MeCP2, protéine qui,

comme nous l'avons vu, contrôle l'expression de BDNF (Smrt *et al.*, 2010; voir pour revue Szulwach *et al.*, 2010; Wakabayashi *et al.*, 2014). Le *miR-9*, un des miRNA le plus exprimé dans le cerveau, est essentiel à la différenciation neuronale (voir pour revue Wakabayashi *et al.*, 2014). Il inhibe la prolifération des cellules progénitrices et favorise leur différenciation en régulant l'expression du facteur de transcription *hairy and enhancer of split-1* (Hes1) impliqué dans la capacité d'auto-renouvellement des cellules progénitrices (Zhao *et al.*, 2009; Bonev *et al.*, 2012).

#### 4. Facteurs de transcription

Les boucles d'autorégulation de l'expression de certains gènes, principalement par les facteurs de transcription, jouent également un rôle important dans la régulation de la neurogenèse (voir pour revue Ma *et al.*, 2010). Les **facteurs de transcription** sont des protéines qui régulent l'expression de gènes. Ils se fixent directement sur l'ADN au niveau des séquences régulatrices dans les régions promotrices de certains gènes afin d'activer ou d'inhiber leur transcription. Plusieurs facteurs de transcription ont déjà été cités dans ce manuscrit comme régulateur de la neurogenèse parmi lesquels Sox2, essentiel au maintien de l'auto-renouvellement des cellules progénitrices et à leur prolifération (Ferri *et al.*, 2004; Episkopou, 2005; Suh *et al.*, 2007; voir pour revue Crowther & Song, 2014). Sox2 régule l'expression du récepteur du facteur de croissance *epidermal growth factor* (EGF), qui lui-même régule l'expression de Sox2 de façon positive dans les cellules progénitrices (Hu *et al.*, 2010), induisant ainsi des effets sur la balance entre auto-renouvellement et production des cellules progénitrices. Sox2 régule également l'expression d'un autre facteur de transcription, NeuroD1, *via* la voie Wnt/ $\beta$ catenin (Jagasia *et al.*, 2006; Kuwabara *et al.*, 2009). NeuroD1 joue un rôle essentiel dans la différenciation neuronale, la survie et la maturation dendritique des nouveaux neurones (Hsieh *et al.*, 2004; Gao *et al.*, 2009; Kuwabara *et al.*, 2009; Roybon *et al.*, 2009; Aimone *et al.*, 2014; Richetin *et al.*, 2014). Le facteur de transcription *Neurogenin-2* (Ngn2), exprimé dans les cellules progénitrices (Ozen *et al.*, 2007), est nécessaire à leur prolifération (Roybon *et al.*, 2009). *Paired box 6* (Pax6) est un facteur de transcription qui s'exprime principalement dans la glie radiaire et qui joue un rôle important dans la balance entre prolifération et différenciation des cellules progénitrices du GD (Maekawa *et al.*, 2005; Nacher *et al.*, 2005). Le facteur de transcription *kruppel-like factor 9* (Klf-9) est impliqué dans la survie à long terme et la croissance dendritique des neurones nouvellement formés notamment dans la croissance des dendrites tertiaires (Scobie *et al.*, 2009; voir pour revue Mu *et al.*, 2010; Crowther & Song, 2014) et son absence réduit l'amplitude de la PLT dépendante de la neurogenèse (Scobie *et al.*, 2009). Ces données suggèrent que le facteur Klf-9 pourrait être nécessaire à l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones. Pour finir, le facteur de transcription CREB, impliqué notamment dans la PLT, est essentiel à la prolifération des

cellules progénitrices, à la survie et à la maturation morphologique et dendritique des nouveaux neurones (Nakagawa *et al.*, 2002; Fujioka *et al.*, 2004; Jagasia *et al.*, 2009; Mu *et al.*, 2010; Wei *et al.*, 2012).

## B. Facteurs extrinsèques

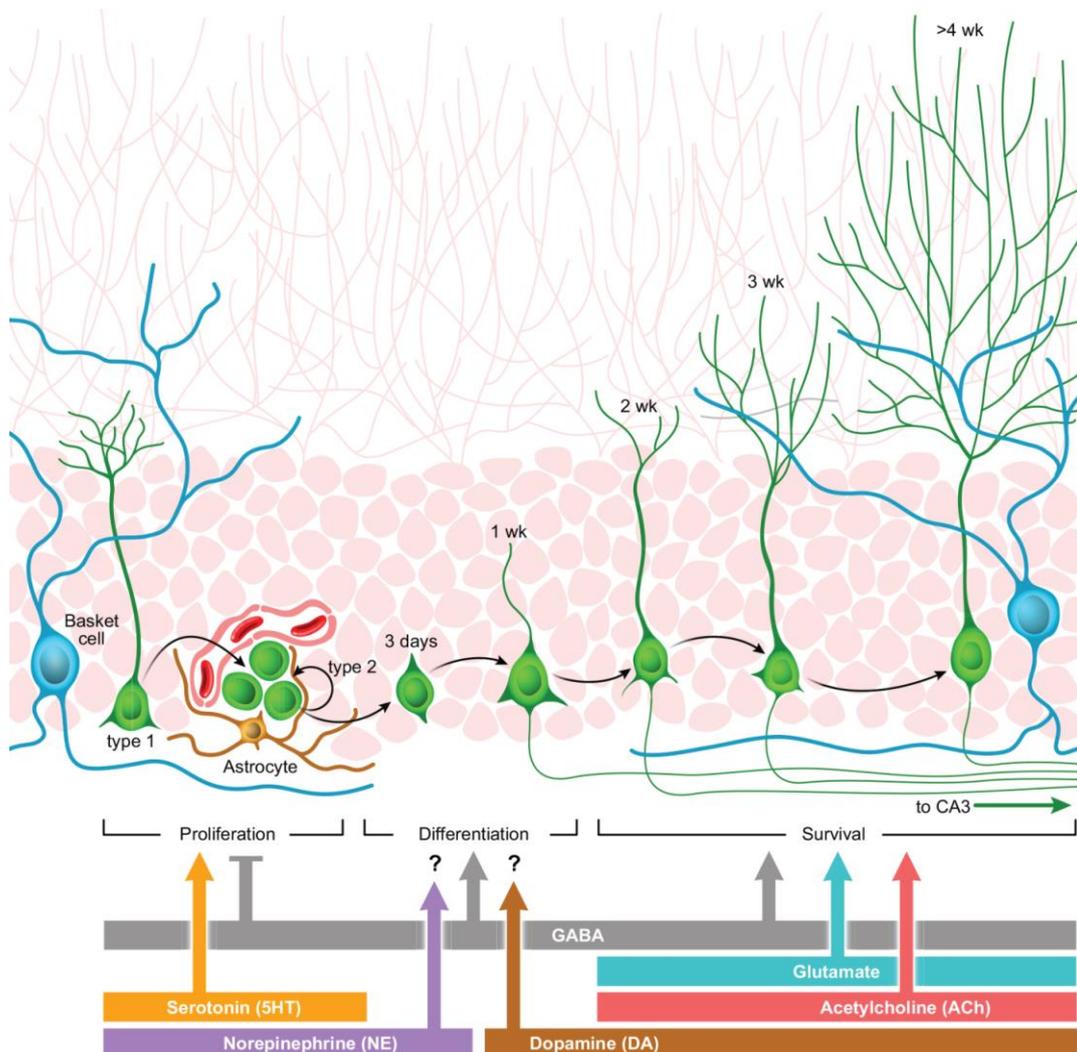
### 1. Les neuromédiateurs

L'activité électrique au sein des réseaux de l'hippocampe semble influencer l'intégration des nouveaux neurones dans les réseaux préexistants (Figure 19; Deisseroth *et al.*, 2004; voir pour revue Abrous *et al.*, 2005; Tozuka *et al.*, 2005; Aimone *et al.*, 2014; Crowther & Song, 2014) et ce processus pourrait en partie reposer sur l'action de neuromédiateurs (Kempermann *et al.*, 1997a; Gould *et al.*, 1999a; Van Praag *et al.*, 1999a; Overstreet-Wadiche *et al.*, 2006; voir pour revue Zhao *et al.*, 2008; Mongiat & Schinder, 2011; Gu *et al.*, 2012b; Platel & Kelsch, 2013).

L'activation des récepteurs NMDA joue un rôle essentiel dans la régulation de la prolifération des cellules progénitrices et la survie des nouveaux neurones puisque leur survie dépend en partie de l'expression de la sous-unité GluN2 des récepteurs glutamatergiques NMDA (Cameron *et al.*, 1995, 1998; Gould *et al.*, 1997; Nacher *et al.*, 2001b, 2003; Kitayama *et al.*, 2004; Tashiro *et al.*, 2006; Petrus *et al.*, 2009). Plus spécifiquement, la sous-unité GluN2A des récepteurs NMDA joue un rôle dans la maturation morphologique de l'arborisation et des épines dendritiques (Kannangara *et al.*, 2014). Les récepteurs NMDA influencent la migration des nouveaux neurones au sein de la couche granulaire *via* l'expression de DISC1, protéine par ailleurs connue comme étant directement impliquée dans la migration des nouveaux neurones (Nacher & McEwen, 2006; Kvajo *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009b; Namba *et al.*, 2011). On notera également que les récepteurs AMPA du glutamate, présents au niveau de la glie radiaire, jouent un rôle dans la prolifération des cellules progénitrices et la survie des cellules nouvellement formées (Bai *et al.*, 2003; Su *et al.*, 2009; Renzel *et al.*, 2013). L'ensemble de ces résultats montre que la régulation de la neurogenèse adulte par l'**activité glutamatergique** implique de nombreuses voies de signalisation.

Le **GABA** joue également un rôle essentiel dans les différentes étapes de la neurogenèse adulte (Figure 19), comme lors du développement (Laplagne *et al.*, 2006), principalement lorsque celui-ci est dépolarisant pour les cellules (voir IV.C.3, page 47). En effet, le GABA *via* l'activation des récepteurs GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>B</sub> joue un rôle important dans la balance entre le maintien de la quiescence et la prolifération des cellules progénitrices régulant ainsi le nombre de nouvelles cellules progénitrices produites (Tozuka *et al.*, 2005; Duveau *et al.*, 2011; Felice *et al.*, 2012; Gassmann & Bettler, 2012; Song *et al.*, 2012; Crowther & Song, 2014; Giachino *et al.*, 2014). Le GABA est nécessaire à la différenciation neuronale des cellules nouvellement

produites (Tozuka *et al.*, 2005; voir pour revue Pallotto & Deprez, 2014) ainsi qu'à la migration des nouveaux neurones au sein de la couche granulaire. En effet, l'inactivation des récepteurs GABA<sub>A</sub> peut entraîner une migration des nouveaux neurones sur une plus courte ou plus longue distance au sein de la couche granulaire en fonction de la sous-unité inactivée (Duveau *et al.*, 2011). De même, la perturbation de la transmission GABAergique *via* les récepteurs GABA<sub>A</sub> entraîne des changements dès les premières étapes de la différenciation des neurones formés à l'âge adulte (Tozuka *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005b; Song *et al.*, 2012). Duveau et coll. montrent également que le GABA est essentiel à la maturation, à la complexification de l'arborisation dendritique et à l'intégration synaptique des nouveaux neurones (Ge *et al.*, 2006; Duveau *et al.*, 2011; voir pour revue Pallotto & Deprez, 2014). La régulation de la neurogenèse adulte par le GABA est en partie dépendante de la voie de signalisation du facteur de transcription CREB (Jagasia *et al.*, 2009; voir pour revue Pallotto & Deprez, 2014).



**Figure 19 : Régulation des différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique par les neurotransmetteurs**

Les neuromédiateurs peuvent influencer les différentes étapes de la neurogenèse adulte. Extrait de Aimone *et al.* 2014.

De même, les **neuromodulateurs** jouent un rôle dans la régulation de la neurogenèse adulte (Figure 19). La sérotonine, qui favorise le développement neuronal et qui est impliquée dans la dépression, influence la prolifération des cellules progénitrices et la survie des cellules nouvellement formées (Gould *et al.*, 1999a; Abrous *et al.*, 2005; Emsley *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2008; David *et al.*, 2009; Revest *et al.*, 2009; voir pour revue Petrik *et al.*, 2012; Crowther & Song, 2014; Alenina & Klempin, 2015). Néanmoins, l'inhibition de la transmission sérotoninergique induit des effets contradictoires sur la neurogenèse adulte. Les traitements aux antidépresseurs utilisés de façon chronique, *via* l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et 5-HT<sub>2A</sub>, induisent une augmentation de la division symétrique des cellules progénitrices, du nombre de nouveaux neurones formés dans le GD ainsi qu'une accélération de leur maturation dendritique (Malberg *et al.*, 2000; Radley & Jacobs, 2002; Santarelli *et al.*, 2003; Banasr *et al.*, 2004; Sairanen *et al.*, 2005; Encinas *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2008; Klempin *et al.*, 2010; Diaz *et al.*, 2012; voir pour revue Petrik *et al.*, 2012). Plus récemment, Diaz et coll. montrent une augmentation de la neurogenèse adulte chez des modèles génétiques d'inhibition de la transmission sérotoninergique (Diaz *et al.*, 2013). A contrario, l'inhibition de la synthèse de la sérotonine ou des lésions sélectives des neurones sérotoninergiques induisent une diminution du nombre de nouveaux neurones formés dans le GD (Brezun & Daszuta, 1999, 2000). La sérotonine, en régulant la neurogenèse adulte du GD, pourrait ainsi avoir un impact sur les mécanismes de la dépression. Les transmissions cholinergique (Mohapel *et al.*, 2005; voir pour revue Sahay & Hen, 2007; Crowther & Song, 2014) et noradrénergique (Kulkarni *et al.*, 2002; Rizk *et al.*, 2006) influencent également la neurogenèse adulte chez les rongeurs, tout comme la dopamine (Höglinger *et al.*, 2004; Yamaguchi *et al.*, 2004; Kippin *et al.*, 2005; voir pour revue Crowther & Song, 2014) ou encore la molécule gazeuse NO (Oxyde nitrique) (Packer *et al.*, 2003; voir pour revue Abrous *et al.*, 2005; Gray & Cheung, 2014).

## 2. Les hormones

Chez les souches de rats SD et SHR et chez le campagnol des prés, il a été montré que les mâles présentent un taux supérieur de prolifération des cellules progénitrices dans le GD de l'hippocampe par rapport aux femelles (Galea & Mcewen, 1999; Tanapat *et al.*, 1999; Perfilieva *et al.*, 2001; Galea *et al.*, 2013; Difeo *et al.*, 2015) ainsi qu'un taux plus important de survie des nouvelles cellules formées (Perfilieva *et al.*, 2001). Chez les campagnols des prés femelles en laboratoire ou à l'état sauvage, le taux de prolifération des cellules progénitrices varie durant la saison de reproduction ; il est au plus bas lors de l'élevage des petits et au plus haut lors de la période de reproduction (Galea & Mcewen, 1999; Ormerod & Galea, 2001). De plus, chez la ratte, le taux de prolifération des cellules progénitrices fluctue naturellement au cours du cycle menstruel puisqu'en proestrus, lorsque la concentration sanguine en œstrogènes est la plus élevée, les femelles présentent plus de nouvelles cellules formées que

durant les phases d'oestrus et de diestrus (Tanapat *et al.*, 1999). Ces données suggèrent donc un rôle des **hormones stéroïdes sexuelles** sur la neurogenèse adulte. En effet, les hormones ovariennes, et notamment les œstrogènes, sont impliquées dans la régulation de la neurogenèse adulte hippocampique (Galea & Mcewen, 1999; Tanapat *et al.*, 1999, 2005; Gould *et al.*, 2000; Banasr *et al.*, 2001; Ormerod & Galea, 2001; Ormerod *et al.*, 2003; Abrous *et al.*, 2005; Barha *et al.*, 2009; McClure *et al.*, 2013). L'ablation des ovaires chez la ratte entraîne une diminution de la neurogenèse adulte, effet abolit par l'injection d'œstrogènes (Tanapat *et al.*, 1999). Chez les mâles, la testostérone et la progestérone régulent la survie des cellules nouvellement formées (Spritzer & Galea, 2007; Zhang *et al.*, 2010). Les hormones stéroïdes sexuelles influencent la neurogenèse du GD en modulant la prolifération des cellules progénitrices et la survie des nouvelles cellules en fonction du sexe, de l'âge, de la concentration hormonale et selon une cinétique précise (Tanapat *et al.*, 1999, 2005; Banasr *et al.*, 2001; Ormerod & Galea, 2001; Ormerod *et al.*, 2003; Perez-Martin *et al.*, 2003; Spritzer & Galea, 2007; Barker & Galea, 2008; Barha *et al.*, 2009; voir pour revue Galea *et al.*, 2013). Néanmoins, certaines espèces de mammifères comme l'écureuil, ou encore les souris C57Bl/6 et B6SJL de laboratoire, ne présentent pas de différence de neurogenèse adulte hippocampique entre les mâles et les femelles (Lavenex *et al.*, 2000; Lagace *et al.*, 2007a; Ben Abdallah *et al.*, 2010; Klaus *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2012).

Dans la famille des stéroïdes, les **corticostéroïdes**, hormones circulantes du stress, régulent négativement la neurogenèse adulte. En effet, une adrénalectomie, conduisant à une diminution du niveau des corticostéroïdes dans le sang, provoque une augmentation du nombre de cellules produites, notamment en augmentant la prolifération des cellules progénitrices, et la différenciation neuronale, et ces effets sont annulés par l'administration de corticostérone (Gould *et al.*, 1991, 1992, 1997; Cameron & Gould, 1994; Cameron *et al.*, 1998; Brunson *et al.*, 2005; Wong & Herbert, 2005, 2006; Lee *et al.*, 2011; Spanswick *et al.*, 2011). L'effet des corticostéroïdes sur la prolifération des cellules progénitrices et la différenciation est rapide mais reste transitoire (Brunson *et al.*, 2005; Wong & Herbert, 2006; Lee *et al.*, 2011; Spanswick *et al.*, 2011), suggérant une modulation différente de la neurogenèse adulte hippocampique en fonction du temps d'exposition au stress (chronique ou aigu).

Il a également été montré que les **hormones thyroïdiennes** sont impliquées dans la régulation de la neurogenèse adulte hippocampique, probablement en lien avec la dépression (Montero-Pedrazuela *et al.*, 2006; Kapoor *et al.*, 2012, 2015; voir pour revue Remaud *et al.*, 2014). En effet, une hypothyroïdie entraîne une diminution des clusters de cellules progénitrices en prolifération (Montero-Pedrazuela *et al.*, 2006), et une diminution de la survie et de la différenciation des cellules nouvellement formées qui peuvent être restaurées par injection d'hormones thyroïdiennes (Ambrogini *et al.*, 2005; Desouza *et al.*, 2005; Montero-Pedrazuela *et al.*, 2006; Kapoor *et al.*, 2010). Kapoor et coll. en 2012 montrent que les

hormones thyroïdiennes régulent la neurogenèse adulte hippocampique en influençant la prolifération des cellules progénitrices de type 2b et 3 ainsi que la différenciation des neurones (Kapoor *et al.*, 2012). Néanmoins, l'hyperthyroïdie ne semble pas modifier la neurogenèse hippocampique adulte (Desouza *et al.*, 2005).

### 3. Les facteurs de croissance

Le rôle mitogène de nombreux **facteurs de croissance** sur la neurogenèse adulte a été montré dans le GD de l'hippocampe (voir pour revue Abrous *et al.*, 2005; Lledo *et al.*, 2006). Plusieurs auteurs montrent que FGF-1, FGF-2, EGF, VEGF, l'*Heparin-binding epidermal growth factor* (HB-EGF), l'*Insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ainsi que le *ciliary neurotrophic factor* (CNTF) sont des facteurs de croissance qui stimulent la production, la survie et la maturation des nouveaux neurones dans le GD chez la souris et le rat, jeunes ou âgés (Kuhn *et al.*, 1997; Wagner *et al.*, 1999; Åberg *et al.*, 2000; Lichtenwalner *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2002; Jin *et al.*, 2002a, 2003; Emsley & Hagg, 2003; Rai *et al.*, 2007; voir pour revue Zhao *et al.*, 2008; Mudò *et al.*, 2009; Fournier & Duman, 2012; Yuan *et al.*, 2015). Le BDNF, fortement exprimé dans les neurones matures du GD de l'hippocampe et localisé dans l'axone (Conner *et al.*, 1997; Binder & Scharfman, 2004; Scharfman, 2004), est essentiel à la prolifération des cellules progénitrices, la survie, la maturation dendritique et l'intégration (épines dendritiques, synapses et croissance axonale) des neurones nouvellement formés (Kato-Semba *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002; Binder & Scharfman, 2004; Sairanen *et al.*, 2005; Bergami *et al.*, 2008; Lubin *et al.*, 2008). Plus récemment, Pontes et coll. ont montré que le BDNF régule le « *switch* » GABAergique (voir pour revue Pontes *et al.*, 2013). De même, Shimazu *et al.* montrent que la *neurotrophin-3* (NT-3) joue également un rôle dans la survie des nouveaux neurones ainsi que dans leur faculté à induire une PLT (Shimazu *et al.*, 2006).

### 4. Les drogues

L'administration chronique de **nicotine** induit une diminution dose-dépendante de la survie ainsi que de la maturation dendritique et synaptique des nouveaux neurones dans le GD *via* les récepteurs nicotiques  $\beta_2$  et  $\alpha_7$  (Abrous *et al.*, 2002; Harrist *et al.*, 2004; Shingo & Kito, 2005; Scerri *et al.*, 2006; Campbell *et al.*, 2010, 2011; Wei *et al.*, 2012). L'administration chronique de morphine et d'héroïne, drogues qui activent la voie de signalisation des **opiacés**, provoque également une diminution de la neurogenèse chez le rat adulte (Eisch *et al.*, 2000; Kahn *et al.*, 2005; Harburg *et al.*, 2007; Fischer *et al.*, 2008; Zheng *et al.*, 2013), tout comme l'administration chronique de cocaïne (Yamaguchi *et al.*, 2004; Domínguez-Escribà *et al.*, 2006). La consommation d'**alcool**, même modérée, est également associée à une réduction de la prolifération, de la survie et de la maturation dendritique des nouveaux neurones dans le

GD (Nixon & Crews, 2002; He *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 2012). L'ensemble de ces résultats montre que la dépendance aux drogues induit un effet délétère sur la neurogenèse adulte (voir pour revue Canales, 2007; Chambers, 2013).

## 5. L'âge

Bien qu'elle persiste tout au long de la vie, la neurogenèse adulte est un processus qui est fortement sensible au **vieillessement** (voir pour revue Verret *et al.*, 2007; Drapeau & Abrous, 2008; Lee *et al.*, 2012; Galea *et al.*, 2013; Aimone *et al.*, 2014). La production de nouveaux neurones au sein du GD de l'hippocampe diminue avec l'âge chez la souris (Bondolfi *et al.*, 2004; Harrist *et al.*, 2004; Tanaka *et al.*, 2007; Andres-Mach *et al.*, 2008; Ben Abdallah *et al.*, 2010), le rat (Seki & Arai, 1995; Kuhn *et al.*, 1996; Lemaire *et al.*, 2000; Bizon & Gallagher, 2003; Rao *et al.*, 2005, 2006; Cuppini *et al.*, 2006; Driscoll *et al.*, 2006; Olariu *et al.*, 2007), le Toupaye de Belanger (Simon *et al.*, 2005), le campagnol (Amrein *et al.*, 2004b), et chez le singe (Gould *et al.*, 1999b; Leuner *et al.*, 2007; Aizawa *et al.*, 2009, 2011; Bunk *et al.*, 2011).

Chez les souris, la prolifération et la survie des cellules progénitrices diminue dès l'âge de 2 mois jusqu'à l'âge de 10 mois puis se stabilise jusqu'à l'âge de 24 mois (Bondolfi *et al.*, 2004; Harrist *et al.*, 2004; Andres-Mach *et al.*, 2008; Ben Abdallah *et al.*, 2010). Cette diminution de la neurogenèse adulte hippocampique est aussi associée à une diminution de la différenciation neuronale, à une augmentation de la différenciation gliale des cellules nouvellement formées (Kempermann *et al.*, 1998b; Bondolfi *et al.*, 2004; Van Praag *et al.*, 2005), ainsi qu'à une diminution de la migration (Tanaka *et al.*, 2007). Chez le rat, les études montrent que la neurogenèse adulte (prolifération et survie) diminue dès l'âge de 2 mois mais la plus forte diminution se situe entre l'âge de 5 et 12 mois pour ensuite se stabiliser jusqu'à l'âge de 27 mois (Kuhn *et al.*, 1996; Cameron & McKay, 1999; Lemaire *et al.*, 2000; Bizon & Gallagher, 2003; Nacher *et al.*, 2003; Cuppini *et al.*, 2006; Driscoll *et al.*, 2006). De plus, les nouveaux neurones chez des rats âgés de 12 mois montrent une altération de la maturation dendritique (Rao *et al.*, 2005, 2006). Néanmoins, à l'exception des études réalisées par Andres et coll. et Ben Abdallah et coll. chez la souris, la plupart des études réalisées chez les rongeurs utilisent des cohortes d'animaux ayant des âges très différents, ce qui ne permet pas d'avoir de précisions sur la cinétique de diminution de la neurogenèse adulte hippocampique en fonction de l'âge.

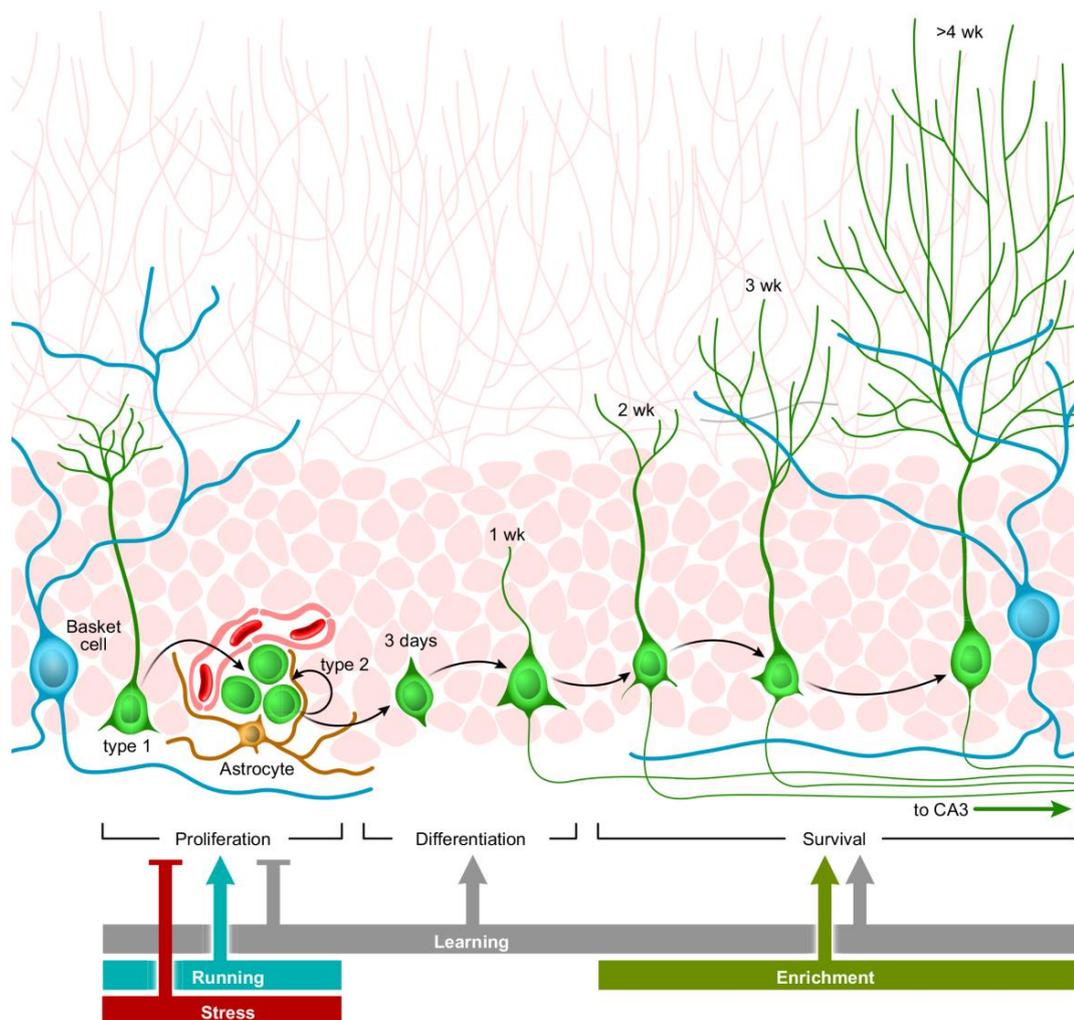
La diminution de la neurogenèse avec l'âge pourrait être expliquée par des modifications locales et environnementales de la SGZ (voir pour revue Drapeau & Abrous, 2008). Avec l'âge, la concentration plasmatique en glucocorticoïdes augmente (Sapolsky, 1992; Montaron *et al.*, 2006) et ces hormones sont connues pour causer des pertes neuronales (Landfield *et al.*, 1978; Sapolsky *et al.*, 1985; Lupien *et al.*, 1994) et diminuer la neurogenèse adulte dans le GD (voir V.B.2, page 62). Une adrénaléctomie chez le rat abolit l'effet de l'âge sur la

prolifération des cellules progénitrices (Cameron & McKay, 1999; Montaron *et al.*, 2006), suggérant que l'impact de l'âge sur la diminution de la neurogenèse adulte implique les corticostéroïdes (voir V.B.2, page 62). Concernant les facteurs de croissance (voir V.B.3, page 64), Lichtenwalner et coll. montrent que l'infusion d'IGF-1 permet d'augmenter la neurogenèse adulte dans le GD de l'hippocampe chez des rats âgés de 28 mois (Lichtenwalner *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2002). De la même façon, l'infusion de FGF-2 ou de HB-EGF chez l'animal âgé de 12 à 20 mois permet d'augmenter le niveau de neurogenèse adulte du GD et la maturation dendritique des nouveaux neurones formés (Jin *et al.*, 2003; Rai *et al.*, 2007).

## 6. Les stimulations environnementales

Les modifications de l'environnement de l'animal parmi lesquelles l'exercice physique, l'environnement enrichi ou encore le stress contribuent à la régulation dynamique de la neurogenèse adulte (Figure 20; voir pour revue Aimone *et al.*, 2014).

Le **stress** en aidant les organismes à faire face à des situations qui remettent en question leur survie, favorise l'adaptation à un nouvel environnement. En fonction de son type, de sa durée et de son intensité, le stress peut avoir des effets néfastes à long terme sur le fonctionnement du cerveau et sur les processus cognitifs, mais aussi des effets bénéfiques dans certaines situations d'adaptation environnementale (voir pour revue Sandi & Haller, 2015). Par ailleurs, les particularités physiologiques et cognitives de l'individu au moment de l'événement stressant peuvent influencer la perception et l'interprétation de ce stress et avoir au final des effets différents sur le cerveau (Fuchs & Flügge, 1998; voir pour revue Schoenfeld & Gould, 2012; Ortega-Martínez, 2015). Différents paradigmes comportementaux permettent d'évaluer les conséquences du stress sur le cerveau adulte : introduction d'un intrus, présentation de l'odeur d'un prédateur naturel, contention, restriction hydrique, restriction alimentaire, exposition au froid, exposition à de la litière souillée, nage forcée, privation de sommeil, exposition à des chocs électriques, changement de l'environnement ou isolement social (Sutanto & de Kloet, 1994). Ces paradigmes comportementaux aboutissent à une augmentation de la concentration plasmatique en corticostérone, hormone du stress qui influence directement la neurogenèse hippocampique adulte (voir V.B.2, page 62). Chez les mammifères, un stress aigu et/ou chronique négatif provoqué par la contention, l'isolement social, la confrontation sociale, les chocs électriques ou encore l'hypothermie, induit une diminution de la prolifération des cellules progénitrices du GD et modifie dans certains cas la survie des neurones nouvellement formés ainsi que leur maturation morphologique (Fuchs & Flügge, 1998; Fuchs *et al.*, 2001; Lu *et al.*, 2003; Guzmán-Marín *et al.*, 2003; Kozorovitskiy & Gould, 2004; Guzman-Marin *et al.*, 2005; Grassi Zucconi *et al.*, 2006; Ibi *et al.*, 2008; Leasure & Decker, 2009; Lucassen *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2011; voir pour revue Schoenfeld & Gould, 2012; Peragine *et al.*, 2014; Grégoire *et al.*, 2014; Egeland *et al.*, 2015).



**Figure 20 : Régulation des étapes de la neurogenèse adulte hippocampique par différentes modifications environnementales**

Les différentes étapes de la neurogenèse adulte peuvent être régulées par le stress, l'exercice physique, l'enrichissement environnemental ou l'apprentissage. Extrait de Aimone *et al.* 2014.

A contrario, l'hébergement des animaux dans un **environnement enrichi** (roue, objets nouveaux, labyrinthe, interactions sociales, *etc.*) stimule la neurogenèse adulte dans le GD de l'hippocampe (Kempermann *et al.*, 1997b, 1998a; Kempermann & Gage, 1999; Brown *et al.*, 2003a; Bruel-Jungerman *et al.*, 2005, 2007b; Segovia *et al.*, 2006; Madroñal *et al.*, 2010; Llorens-Martín *et al.*, 2010; Lieberwirth & Wang, 2012; Grégoire *et al.*, 2014; Bergami *et al.*, 2015). Ces différentes études montrent que l'exposition à un environnement enrichi n'influence pas la prolifération des cellules progénitrices mais favorise la survie à court ou long terme des cellules nouvellement formées. De plus, Tashiro et coll. montrent que l'effet de l'enrichissement est effectif lorsque les nouveaux neurones sont immatures, c'est-à-dire entre l'âge de 1 et 3 semaines après leur naissance (Tashiro *et al.*, 2007). L'**activité physique volontaire** augmente préférentiellement la prolifération des cellules progénitrices mais

également la survie et la maturation dendritique des neurones nouvellement formées (Van Praag *et al.*, 1999b; Brown *et al.*, 2003a; Zhao *et al.*, 2006; Suh *et al.*, 2007; Bruel-Jungerman *et al.*, 2009; Snyder *et al.*, 2009b; Nishijima *et al.*, 2013; Patten *et al.*, 2013; Grégoire *et al.*, 2014; Bergami *et al.*, 2015). Ces données suggèrent qu'un environnement enrichi ou l'exercice peuvent influencer le taux d'intégration des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux préexistants, et ce même chez des animaux âgés (Kempermann *et al.*, 1998b; Kim *et al.*, 2004; Van Praag *et al.*, 2005; Kronenberg *et al.*, 2006; Gebara *et al.*, 2013). L'effet bénéfique de l'exercice et/ou d'un environnement enrichi sur la neurogenèse adulte hippocampique semble impliquer différents facteurs tels que le *glial-derived neurotrophic factor* (GDNF) (Young *et al.*, 1999), le BDNF (Young *et al.*, 1999; Farmer *et al.*, 2004; Rossi *et al.*, 2006; Bekinschtein *et al.*, 2011; Baj *et al.*, 2012), le VEGF (Fabel *et al.*, 2003), l'IGF-1 (Trejo *et al.*, 2001) ou encore la voie PI<sub>3</sub>K-Akt (Bruel-Jungerman *et al.*, 2009).

## Chapitre 3

---

# Neurogenèse adulte et mémoire

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que la neurogenèse adulte de l'hippocampe est un processus dynamique et complexe finement régulé par divers stimuli, dont les neuromédiateurs mais aussi les conditions environnementales, laissant supposer un rôle des nouveaux neurones dans les fonctions hippocampiques et plus particulièrement dans les processus mnésiques. La question du rôle de la neurogenèse adulte dans la mémoire a été intensivement explorée ces 15 dernières années grâce à l'utilisation de différents modèles de blocage de la neurogenèse ou en analysant le recrutement des neurones nouvellement formés dans différentes tâches comportementales dépendantes de l'hippocampe.

### I. Corrélations entre neurogenèse adulte hippocampique et performances mnésiques

Plusieurs études établissent un lien corrélatif entre le niveau de neurogenèse adulte du GD et les performances mnésiques. Dans le chapitre précédent, nous avons vu que plusieurs facteurs affectent positivement ou négativement la neurogenèse et de nombreuses études montrent que ces régulations sont associées à des modifications des capacités mnésiques.

Certaines lignées de souris présentent naturellement des variations du taux de neurogenèse adulte du fait de leur fond génétique différent et montrent également des performances d'acquisition plus ou moins bonnes dans la tâche spatiale de la piscine de Morris. Dans cette tâche, les souris présentant un fort taux de neurogenèse hippocampique ont de bonnes performances mnésiques alors que celles présentant un faible taux de neurogenèse ont de moins bonnes performances (Montkowski *et al.*, 1997; Owen *et al.*, 1997; Kempermann & Gage, 2002a, 2002b). En modifiant le taux de neurogenèse *via* des manipulations environnementales, il est possible de rechercher des corrélations avec des performances de mémoire. Tout d'abord, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, l'exposition à un environnement enrichi ou à un exercice physique augmente la neurogenèse adulte et ce même chez des animaux âgés. Plusieurs auteurs montrent que ces conditions de vie s'accompagnent également d'une amélioration des performances mnésiques dans des tâches spatiales chez le rat comme chez la souris (Kempermann *et al.*, 1997b; Van Praag *et al.*, 1999a; Nilsson *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 2000; Rhodes *et al.*, 2003; Meshi *et al.*, 2006;

Segovia *et al.*, 2006; Van der Borght *et al.*, 2007; Madroñal *et al.*, 2010; Clark *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2014) et ce même chez les individus âgés (Kempermann *et al.*, 1998b; Kempermann & Gage, 2002b; Van Praag *et al.*, 2005), ou dans certaines conditions pathologiques (lésions cérébrales, modèles de pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer ou de Huntington, modèle de retard mental) (Koo *et al.*, 2003; Paban *et al.*, 2005). Autre exemple, l'injection dans l'hippocampe de rats adultes de VEGF, facteur essentiel de la niche neurogénique, augmente la neurogenèse et améliore la mémoire spatiale (Cao *et al.*, 2004).

Inversement, les facteurs qui diminuent la neurogenèse adulte dans l'hippocampe tels que le stress, l'âge, la restriction de sommeil ou l'isolement social entraînent des déficits de mémoire dans des tâches spatiales. Chez le rat, l'exposition à un stress induit une diminution de la neurogenèse associée à de moins bonnes performances d'acquisition de tâches spatiales en piscine de Morris ou en labyrinthe en Y (Lemaire *et al.*, 2000; Koo *et al.*, 2003; voir pour revue Mirescu & Gould, 2006). Au cours du vieillissement, la neurogenèse adulte de l'hippocampe diminue fortement et est souvent associée à des déficits de mémoire spatiale (Montaron *et al.*, 2006; Wati *et al.*, 2006; Gil-Mohapel *et al.*, 2013). De plus chez les rongeurs âgés, les sujets les plus performants en piscine de Morris sont aussi ceux qui ont le taux le plus élevé de neurogenèse (Drapeau *et al.*, 2003). L'isolement social et la restriction de sommeil réduisent à la fois la neurogenèse adulte de l'hippocampe et les performances de mémoire spatiale dans la piscine de Morris (Lu *et al.*, 2003; Hairston *et al.*, 2005; Ibi *et al.*, 2008). Une bulbectomie qui induit chez le rongeur une dépression, ou la lésion spécifique des projections cholinergiques septo-hippocampiques, réduisent la neurogenèse adulte hippocampique et induisent des déficits de mémoire de peur au contexte (Jaako-Movits & Zharkovsky, 2005; Mohapel *et al.*, 2005).

L'ensemble de ces résultats indique une corrélation positive entre le taux de neurogenèse et les capacités cognitives. Néanmoins, ces études ne permettent pas d'établir un lien de causalité entre le niveau de neurogenèse et les performances mnésiques et il est envisageable que d'autres variables influencent indépendamment la neurogenèse adulte de l'hippocampe et les performances mnésiques (Koo *et al.*, 2003; voir pour revue Bekinschtein *et al.*, 2011).

## II. Blocage de la neurogenèse

Les études de blocage de la neurogenèse adulte ont permis d'affiner le lien possible entre le niveau de neurogenèse adulte et les performances mnésiques. Trois approches ont été développées : l'approche pharmacologique par injection systémique d'un antimitotique (Tableau 1), l'irradiation totale ou focale par rayons X ou  $\gamma$  (Tableau 2) et l'utilisation de

modèles transgéniques (Tableau 3). Les résultats obtenus après altération de la neurogenèse adulte sont contrastés et parfois contradictoires selon la méthode de blocage, sa durée et selon le type de tâche étudié. Nous avons synthétisé les résultats dans les tableaux 1, 2 et 3 ci-après.

La première technique de blocage de la neurogenèse a consisté à utiliser un **agent antimitotique**, l'acétate de méthyl-azoxy-méthanol (MAM), chez le rat adulte (Shors *et al.*, 2001). Le MAM est un agent méthylant capable de tuer spécifiquement les cellules en division par apoptose, tout en préservant l'intégrité des cellules post-mitotiques environnantes (Johnston & Coyle, 1979; Bejar *et al.*, 1985; Ferrer *et al.*, 2001). Shors et coll. montrent que l'injection quotidienne de MAM durant 14 jours consécutifs chez le rat adulte entraîne une réduction significative mais non totale (environ 80%) de la neurogenèse adulte dans l'hippocampe, associée à des déficits d'apprentissage dans une tâche de conditionnement de trace du clignement palpébral dans sa version dépendante de l'hippocampe (Shors *et al.*, 2001). Ces résultats indiquent que le traitement par le MAM n'empêche pas les rats d'apprendre à associer un stimulus conditionnel (SC) avec un stimulus inconditionnel (SI) mais que les nouveaux neurones formés dans le GD sont requis pour l'acquisition de cette association lorsqu'elle est dépendante de l'hippocampe. Ces auteurs montrent également que l'inhibition de la neurogenèse par le MAM est transitoire tout comme les déficits mnésiques associés puisque les rats sont à nouveau capables d'acquiescer ce conditionnement 3 semaines après la fin du traitement (Shors *et al.*, 2001). Ceci suggère que durant ce délai, les nouveaux neurones qui ont été à nouveau générés sont suffisants pour la restauration des capacités mnésiques. Par contre, alors que 6 jours de traitement au MAM réduisent de 80% le niveau de neurogenèse adulte hippocampique, cette durée de traitement n'est pas suffisante pour altérer les performances mnésiques dans la tâche de clignement palpébral (Shors *et al.*, 2001). Ceci suggère que les nouveaux neurones doivent atteindre un niveau de maturation suffisant, entre 1 et 2 semaines après leur naissance, pour influencer les fonctions mnésiques de l'hippocampe, même s'ils ne présentent pas encore un niveau de maturation comparable à celui des cellules granulaires préexistantes. Ceci indique toutefois que des nouveaux neurones encore immatures (âgés de 14 jours ou moins) sont capables de participer à l'apprentissage d'une tâche dépendante de l'hippocampe. Ces mêmes auteurs montrent également qu'un traitement au MAM durant 2 semaines conduit à des déficits dans une tâche de conditionnement de peur son-choc dans un protocole de trace (Shors *et al.*, 2002), confirmant l'implication des nouveaux neurones de cet âge pour l'association de deux stimuli séparés temporellement. De même, Goodman et coll. montrent que l'inhibition de la production de nouveaux neurones pendant 2 semaines induit un déficit de rétention d'une mémoire spatiale en piscine de Morris 1 ou 30 jours après acquisition et 1 jour après la première exploration dans un protocole de reconnaissance de la localisation spatiale d'objets (Goodman *et al.*, 2010), suggérant que les nouveaux neurones âgés de 2 semaines sont

nécessaires à la rétention d'une mémoire spatiale ancienne. En 2005, il a été montré au laboratoire qu'un traitement au MAM durant 14 jours bloque l'amélioration des performances dans le test de reconnaissance d'objets (24 et 48 heures après l'exploration) consécutive à l'exposition dans un environnement enrichi (Bruel-Jungerman *et al.*, 2005), suggérant que la neurogenèse adulte est nécessaire aux effets de l'enrichissement sur les performances mnésiques de reconnaissance. En revanche, l'inhibition de la neurogenèse adulte durant 2 semaines par le MAM n'affecte pas tous les types de mémoires dépendantes de l'hippocampe, notamment de peur conditionnée au contexte, de reconnaissance d'objets ou encore dans l'acquisition d'une mémoire spatiale en piscine de Morris, (Shors *et al.*, 2002; Bruel-Jungerman *et al.*, 2005; Ko *et al.*, 2009; Goodman *et al.*, 2010). Elle n'affecte pas non plus des formes de mémoires indépendantes de l'hippocampe comme le conditionnement de peur sans délai, la reconnaissance d'un nouvel objet ou encore la tâche de piscine de Morris en version indicée (Shors *et al.*, 2001, 2002; Goodman *et al.*, 2010).

L'utilisation d'une autre molécule antimétabolite, la cytosine- $\beta$ -d-arabino-furanoside (Ara-C) (Doetsch *et al.*, 1999), injectée en intracérébral, diminue très fortement la neurogenèse adulte et induit des déficits dans des tâches d'inhibition du réflexe de sursaut (Lau *et al.*, 2009), de mémoire sociale (Monteiro *et al.*, 2014), ainsi que l'acquisition d'une tâche spatiale en piscine de Morris, lorsque l'Ara-C est administrée 2 ou 4 mois avant mais pas 1 semaine avant (Lemaire *et al.*, 2012). Par ailleurs, Garthe et coll. montrent que l'utilisation du temozolomide (TMZ) inhibe la neurogenèse adulte et altère la précision de la navigation spatiale dans la piscine de Morris notamment lorsque la plate-forme change de place (Garthe *et al.*, 2009), alors que Martinez-Canabal et coll. montrent que l'inhibition de la neurogenèse adulte par le TMZ induit un déficit uniquement chez des souris juvéniles âgées de 1 à 2 mois (Martinez-Canabal *et al.*, 2012).

Type de blocage			Délai entre la fin du traitement et le début du test	Réduction de la neurogenèse	Test comportemental				Effet cognitif	Modèle	Référence
Approche	Dose	Durée			Type de mémoire	Test comportemental	Version	Durée			
MAM	5mg/kg	14 jours	2 jours	80%	Conditionnement	Reflexe palpébral	Trace	4 jours	→	Rat SD	Shors et al. 2001
		6 jours					Trace		∅		
MAM	7mg/kg	14 jours	21 jours	80%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	4 jours + Test 24h	∅	Rat SD	Shors et al. 2002
			2 jours				Trace		∅		
			1 jour				Contexte		∅		
MAM	5mg/kg	14 jours	1 jour	60%	Procédurale	Piscine de Morris	Référence	1 jour + Test 24h 1 jour + Test 30 jours	→	Souris C57Bl/6	Goodman et al. 2010
							Trace		∅		
							Plate-forme visible		∅		
MAM	5mg/kg	14 jours	1 jour	60%	Mémoire spatiale	Reconnaissance	Place	10' + Test 24h	→	Rat SD	Bruel-Jungerman et al. 2005
							Nouvel objet		∅		
MAM			3 jours	50%	Reconnaissance	Reconnaissance d'objet	Nouvel objet	4' + Test 1h 4' + Test 24h 4' + Test 48h	∅		
MAM	3mg/kg	14 jours	3 jours	∅	Conditionnement Extinction	Peur conditionnée	Contexte	1 jour + Test 24h 1 semaine	∅	Souris C57Bl/6	Ko et al. 2009
Ara-C		3 jours 13 jours	- 9 jours 3 jours	85%		Inhibition Réflexe sursaut		5 jours + Test 4 jours 5 jours + Test 24h	→ ∅	Rat SD	Lau et al. 2009
Ara-C		7 jours	0 jour	30%	Reconnaissance	Reconnaissance sociale		5' + Test 1h 5' + Test 24h	→ ∅	Swiss mice	Monteiro et al. 2014
Ara-C	0,2mg	1 injection	1 semaine 2 mois 4 mois	90%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	6 jours	→ →	Rat	Lemaire et al. 2012
TMZ	25mg/kg	4 semaines	2 semaines	80%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours	→	Souris C57Bl/6	Garthe et al. 2009

**Tableau 1 : Effets du blocage de la neurogenèse adulte hippocampique par des méthodes chimiques sur les processus mnésiques**

La deuxième technique permettant d'abolir la neurogenèse adulte est l'**irradiation** (rayons X, rayons gamma, neutrons) qui présente l'avantage d'abolir de façon plus ou moins importante et parfois de façon irrémédiable, selon la dose, la formation des nouveaux neurones (Parent *et al.*, 1999; Peissner *et al.*, 1999; Nagai *et al.*, 2000; Tada *et al.*, 2000; Mizumatsu *et al.*, 2003). L'élimination persistante des progéniteurs neuronaux repose sur la rupture des brins d'ADN et sur le dysfonctionnement des mécanismes de réparation de l'ADN et du cycle cellulaire (Bellinzona *et al.*, 1996; Limoli *et al.*, 2004; Wojtowicz, 2006). Dans l'ensemble, les études réalisées chez la souris ou le rat montrent que l'abolition de la neurogenèse induite par irradiation est associée à des déficits mnésiques dans de nombreuses tâches dépendantes de l'hippocampe alors que l'acquisition de tâches indépendantes de l'hippocampe reste intacte. Par exemple, le blocage de la neurogenèse adulte par irradiation chez le rat ou la souris provoque des déficits de reconnaissance de place dans le labyrinthe en T (Madsen *et al.*, 2003), de mémoire spatiale dans le labyrinthe de Barnes (Raber *et al.*, 2004) et dans la piscine de Morris à long terme (Rola *et al.*, 2004; Snyder *et al.*, 2005; Fan *et al.*, 2007), dans une tâche de peur conditionnée au contexte (Saxe *et al.*, 2006; Winocur *et al.*, 2006; Warner-Schmidt *et al.*, 2008; Wojtowicz *et al.*, 2008; Hernández-Rabaza *et al.*, 2009; Kitamura *et al.*, 2009; Snyder *et al.*, 2009a; Yang *et al.*, 2012), dans une tâche de mémoire de travail spatiale en présence de fortes interférences en labyrinthe radial (Saxe *et al.*, 2007), dans une tâche d'inhibition du réflexe de sursaut (Iwata *et al.*, 2008) ou encore dans une tâche associative de non appariement retardé (Winocur *et al.*, 2006). De plus, Snyder et coll. montrent que les nouveaux neurones participent à la mémoire spatiale en piscine de Morris lorsqu'ils sont âgés de 4 à 28 jours puisque l'irradiation 1, 3 ou 4 jours avant l'acquisition de la tâche n'affecte pas les performances de rétention des animaux à très long terme alors que l'irradiation 4 semaines avant les affecte (Snyder *et al.*, 2005). Ces auteurs montrent également que l'irradiation 4 ou 8 semaines avant l'acquisition d'une tâche de conditionnement de peur au contexte chez le rat induit un déficit de performance à long terme alors qu'elle n'est pas affectée 3 semaines après irradiation (Snyder *et al.*, 2009a), suggérant donc que ce sont les nouveaux neurones âgés de 4 et 8 semaines qui participent à la mise en mémoire de ce type d'informations.

Type de blocage			Délai entre la fin du traitement et le début du test	Réduction de la neurogenèse	Test comportemental				Effet cognitif	Modèle	Références	
Approche	Dose	Durée			Type de mémoire	Test comportemental	Version	Durée				
Irradiation tête entière	5 Gy	1 jour	3 mois	80%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours	→	Souris C57Bl/6	Rola et al. 2004	
						Labyrinthe de Barnes		4 jours + Test 24h	∅			
						Reconnaissance	Reconnaissance d'objet	Place Nouvel objet	10' + Test 5'			∅
	10 Gy - 10'	2 jours	28 jours	95%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	6 jours + Test 1 semaine	→	Rat LE	Snyder et al. 2005	
							Plate-forme visible	6 jours + Test 2 semaines	∅			
	5 Gy	3 jours	1, 3 ou 4 jours	95%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	6 jours + Test 4 semaines	→	Souris 129/Sv	Meshi et al. 2006	
			14 semaines				6 jours + Test 3 semaines	∅				
	10 Gy - 10'	2 jours	40 jours	80 - 90%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	DNMTS	10 jours	→	Rat LE	Winocur et al. 2006	
			28 jours				Conditionnement	Peur conditionné	Contexte			1 jour
	5-10 Gy	1 jour	98 jours	75%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours	→	Gerbille	Fan et al. 2007	
			3x5 Gy				1 semaine	6 semaines	80%			Conditionnement
	8 Gy	1 jour	5 semaines	60%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours + Test 24h	∅	Rat LE	Wojtowicz et al. 2008	
							2x10 Gy	2 jours	4 ou 8 semaines			Conditionnement
	0,8 Gy	1 jour	1, 7 et 14 jours			Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour + Test 24h	→	Souris C57Bl/6	Yang et al. 2012
Reconnaissance							Reconnaissance d'objet	Nouvel objet	10' + Test 24h	→		
Irradiation focale de l'hippocampe	3 Gy	2x4 jours	10 jours	80%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours	∅	Rat Wistar	Madsen et al. 2003	
			5 et 18 jours			Reconnaissance	Reconnaissance d'objet	Nouvel objet	2x3'			→
			8, 21 et 42 jours			Mémoire spatiale	Labyrinthe en T	Place				∅
	1x10 Gy		3 mois	90%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	3 jours	∅	Souris C57Bl/6	Raber et al. 2004	
						Labyrinthe de Barnes		5 jours	→			
	5 Gy	3 jours	3 mois		Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour	→	Souris 129/Sv	Saxe et al. 2006	
						Reconnaissance	Labyrinthe en Y	Place				∅
	3x5 Gy	1 semaine	100 jours	50%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	DNMTS	10 jours + Test	→	Souris 129/Sv	Saxe et al. 2007	
						Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	4 jours + Test 24h			∅
	15 Gy	3 semaines	3 mois	60%	Mémoire spatiale	Labyrinthe radial	Mémoire de travail	au moins 5 jours	→	Souris C57Bl/6	Clark et al. 2008	
						Piscine de Morris	Référence	5 jours + Test 24h	∅			
	2x7,5 Gy	2 jours	8 semaines	36%	Mémoire de travail	Inhibition Réflexe sursaut		1 jour	→	Rat LE	Hernandez-Rabaza et al. 2009	
						Conditionnement	Labyrinthe en T	Contexte	1 jour + Test 1 semaine			∅
	10 Gy	1 jour	3 mois	75%	Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour + Test 2, 24 et 48h	→	Souris C57Bl/6	Ko et al. 2009	
Extinction						Peur conditionné	Contexte	1 jour + Test 24h	∅			
							1 semaine	∅				

**Tableau 2 : Effets du blocage de la neurogenèse adulte hippocampique par irradiation sur les processus mnésiques**

L'inhibition de la neurogenèse adulte hippocampique par irradiation bloque l'amélioration des performances en piscine de Morris ou en conditionnement de peur au contexte, sans bloquer l'acquisition de la tâche chez des animaux soumis à un exercice physique (Clark *et al.*, 2008; Wojtowicz *et al.*, 2008; Kitamura *et al.*, 2009), suggérant que la neurogenèse adulte est nécessaire à l'amélioration des performances liées à l'exercice. De même, la neurogenèse adulte est nécessaire à l'action bénéfique des antidépresseurs sur les performances mnésiques (Santarelli *et al.*, 2003). Néanmoins, à l'opposé des études précédemment citées, certains auteurs montrent que le blocage de la neurogenèse adulte par irradiation n'induit pas de déficits mnésiques dans l'acquisition et la rétention à court terme de la tâche de piscine de Morris, dans une tâche de reconnaissance d'objets à court terme dans sa version spatiale, dans le labyrinthe de Barnes, dans une tâche de mémoire de travail sans interférence en labyrinthe radial ou encore dans une tâche de conditionnement de peur au contexte (Madsen *et al.*, 2003; Raber *et al.*, 2004; Rola *et al.*, 2004; Saxe *et al.*, 2007; Meshi *et al.*, 2006; Saxe *et al.*, 2006; Clark *et al.*, 2008; Wojtowicz *et al.*, 2008; Iwata *et al.*, 2008; Hernández-Rabaza *et al.*, 2009; Kitamura *et al.*, 2009; Ko *et al.*, 2009).

Ces méthodes ont cependant leurs limites. Le blocage de la neurogenèse par les antimitotiques ou par irradiation reste partiel selon les cas puisque 10% à 50% des nouveaux neurones sont encore présents après manipulation (Tableaux 1 et 2; Dupret *et al.*, 2005; Wojtowicz, 2006; Fan *et al.*, 2007; Gould, 2007; Ko *et al.*, 2009), et certaines études montrent qu'une faible proportion de nouveaux neurones au sein du GD suffirait à maintenir des performances mnésiques correctes dans différentes tâches (Ko *et al.*, 2009). Fan et coll. montrent que la production de nouvelles cellules est inhibée 1, 2 et 4 jours après irradiation, mais que celle-ci présente un rebond à 8 et 14 jours pour ensuite à nouveau diminuer fortement et atteindre un niveau significativement différent des animaux contrôles, et ce jusqu'à 9 mois après irradiation (Fan *et al.*, 2007). Néanmoins, 2 semaines après irradiation, le nombre de nouveaux neurones immatures est significativement différent des animaux non irradiés (Fan *et al.*, 2007). Ces résultats suggèrent qu'il est possible que suite à l'inhibition brutale par l'irradiation, la production de nouvelles cellules augmente de façon transitoire sans qu'elle aboutisse à une augmentation du nombre de nouveaux neurones, laissant supposer qu'une plus forte gliogenèse ou une mort accrue durant cette courte période pourrait perturber les performances mnésiques (Mizumatsu *et al.*, 2003; Rola *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2007). De plus, l'irradiation quand elle est réalisée sur la totalité de la tête pourrait conduire à des effets non spécifiques sur les processus mnésiques et abolir également la neurogenèse du BO, alors que l'irradiation focale de l'hippocampe diminue ce risque et permet d'explorer spécifiquement l'influence de l'absence de la neurogenèse hippocampique (Wojtowicz, 2006). De même, parce que les doses, l'intensité, le nombre et les temps d'irradiations et donc l'influence de la réponse inflammatoire ne sont pas les mêmes dans les différentes études proposées, la proportion de diminution de la neurogenèse et son implication dans les

processus mnésiques étudiés sont relativement hétérogènes (Wojtowicz, 2006). Ceci suggère que les résultats négatifs observés en l'absence de neurogenèse adulte suite à l'utilisation des antiméitotiques ou de l'irradiation sont à prendre avec précaution et ne signifient pas que la neurogenèse adulte ne participe pas aux processus mnésiques étudiés.

La troisième technique de blocage de la neurogenèse adulte consiste à utiliser des **modèles génétiques d'inhibition** (Tableau 3 ; voir pour revue Deng *et al.*, 2010; Imayoshi *et al.*, 2011).

Le modèle de souris transgéniques GFAP-TK TG ou Nestin-TK TG exprime le « Herpes virus thymidine kinase » (virus TK) sous la régulation du promoteur de la GFAP ou de la nestin dans les cellules souches/progénitrices permet, en présence de l'antiviral Gangiclovir (GCV), d'inhiber spécifiquement la neurogenèse adulte (Saxe *et al.*, 2007; Deng *et al.*, 2009). Dans ce type de modèle, les souris présentent un déficit de mémoire de peur au contexte et dans une tâche de mémoire spatiale de travail en labyrinthe radial (Saxe *et al.*, 2006, 2007; Deng *et al.*, 2009), et ce sans déficit dans les mémoires indépendantes de l'hippocampe (Saxe *et al.*, 2006). En outre, l'arrêt du traitement GCV permet de retrouver des performances mnésiques comparables à celles des souris contrôle dans la tâche de mémoire spatiale de travail (Saxe *et al.*, 2007). Deng et coll. montrent que dans le modèle Nestin-TK TG, le blocage des nouveaux neurones âgés de 1 à 3 semaines induit un déficit de rétention à long terme (1 semaine) d'une mémoire spatiale dans la piscine de Morris alors que le blocage des nouveaux neurones âgés de 4 à 11 semaines n'induit pas de déficit (Deng *et al.*, 2009), suggérant que les nouveaux neurones participent aux processus mnésiques lorsqu'ils se situent dans leur période critique d'intégration au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe. En présence de Tamoxifen, le modèle Nestin-CreER/NSE-DTA (Imayoshi *et al.*, 2006; Arruda-Carvalho *et al.*, 2011) permet d'inhiber spécifiquement la neurogenèse adulte grâce à l'expression de la toxine diphthérique spécifiquement dans les nouveaux neurones. Ces souris montrent des déficits d'acquisition et de rétention à long terme (1 et 5 semaines) mais pas à 24 heures en mémoire spatiale dans le labyrinthe de Barnes et dans la piscine de Morris, un déficit de mémoire de discrimination visuelle entre deux contextes, ainsi qu'un déficit de mémoire en peur conditionnée au contexte mais pas dans la version indicée (Imayoshi *et al.*, 2008; Arruda-Carvalho *et al.*, 2011). Dans ce même modèle, Arruda-Carvalho et coll. montrent que l'ablation des nouveaux neurones après l'apprentissage induit des déficits de mémoires dépendantes de l'hippocampe c'est-à-dire une perte du souvenir préalablement acquis (Arruda-Carvalho *et al.*, 2011), suggérant que la perte spécifique des nouveaux neurones qui ont servi durant l'apprentissage aboutit à la perte du souvenir.

Type de blocage			Délai entre la fin du traitement et le début du test	Réduction de la neurogenèse	Test comportemental				Effet cognitif	Modèle	Références	
Approche	Dose	Durée			Type de mémoire	Test comportemental	Version	Durée				
GFAP-TK TG	GCV	6 semaines			Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour	↘	Souris	Saxe et al. 2006	
					Mémoire de travail	Labyrinthe radial	DNMTS		↘		Saxe et al. 2007	
		8 semaines			Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour	∅	Rat	Groves et al. 2013	
					Mémoire spatiale	Labyrinthe radial	Mémoire de travail	1 jour	∅			
Nestin-TK TG	GCV	14 jours	1 semaine	50%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	3 jours + Test 24h	∅	Souris	Deng et al. 2009	
			3,5 semaines				8 jours + Test 24h	∅				
		9 semaines					∅					
		1 semaine					↘					
Nestin-créeer/NSE-DTA	Tamoxifen	4 jours	1 mois	90%	Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour + Test 24h	↘	Souris	Imayoshi et al. 2008	
			Mémoire spatiale		Labyrinthe de Barnes		6 jours + Test 24h	∅				
		5 jours	7 semaines			Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour + Test 8 jours	↘	Souris	Arruda-Carvalho et al. 2011
			Mémoire spatiale		Piscine de Morris	Référence	5 jours + Test 1 semaine	↘				
Tlx-CreEr		8 jours	4 semaines	80%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Discrimintaion visuelle	5 jours + Test 5 semaines	↘	Souris	Zhang et al. 2008	
					Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	5 jours	↘			
Nestin-stTA/TRE-Bax	Doxycycline 2mg/ml	7 ou 9 semaines		65%	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours + Test 24 et 48h	↘	Souris	Dupret et al. 2008	
					Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	3 jours + Test 24 et 48h	∅			
Nestin-rtTA/TRE-PC3	Doxycycline	65 jours		∅	Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	9 jours + Test	↘	Souris	Farioli-Vecchioli et al. 2008	
					Conditionnement	Labyrinthe radial	Contexte	9 jours + Test	∅			
Nestin-stTA/TRE-Bax	Doxycycline	15 semaines		30%	Conditionnement	Peur conditionné	Contexte	1 jour + Test 24h	↘	Souris	Tronel et al. 2012	
					Conditionnement	Discrimination	Contexte	3 jours + Test 24h	↘			
					Conditionnement	Discrimination	Contexte	10 jours	↘			

**Tableau 3 : Effet du blocage génétique de la neurogenèse adulte hippocampique sur les processus mnésiques**

Le modèle  $Tlx^{f/l;creER}$  en présence de tamoxifène permet d'inhiber spécifiquement l'expression du gène *Tal1* qui régule la prolifération des cellules progénitrices (Liu *et al.*, 2008), induisant un déficit d'acquisition et de rétention à court terme d'une mémoire spatiale en piscine de Morris mais pas dans une tâche de conditionnement de peur au contexte ni dans des tâches de mémoire indépendantes de l'hippocampe (Zhang *et al.*, 2008). Le modèle Nestin-rtTA/TRE-Bax permet d'induire spécifiquement la mort des cellules progénitrices qui expriment la nestin par expression de la protéine pro-apoptotique Bax en présence de doxycycline et aboutit à un déficit d'acquisition et de rétention à court terme d'une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris et dans une tâche de discrimination de contexte, mais pas dans une tâche de conditionnement de peur au contexte (Dupret *et al.*, 2008). De même, le modèle Nestin-rtTA/TRE-PC3 permet d'induire l'expression du gène PC3 en présence de doxycycline dans les cellules progénitrices. Ce gène, qui s'exprime normalement dans les progéniteurs neuronaux avant la dernière division asymétrique et qui participe à la différenciation terminale (Gossen & Bujard, 1992; Corrente *et al.*, 2002; Canzoniere *et al.*, 2004), induit une différenciation prématurée des nouveaux neurones produits avec une réduction du nombre de cellules progénitrices de type 1 et 2 (Farioli-Vecchioli *et al.*, 2008). Ce modèle n'altère donc pas le nombre mais la morphologie des nouveaux neurones formés en accélérant leur différenciation et en perturbant ainsi leur intégration au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe (Farioli-Vecchioli *et al.*, 2008). Ce modèle présente de sévères déficits d'acquisition et de rétention dans une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris ou en labyrinthe radial et dans une tâche de peur conditionnée au contexte mais pas dans des tâches de mémoire indépendantes de l'hippocampe (Farioli-Vecchioli *et al.*, 2008), suggérant donc que la maturation effective des nouveaux neurones est nécessaire à leur participation aux processus mnésiques dépendants de l'hippocampe. Néanmoins, certains modèles transgéniques de blocage de la neurogenèse ne sont pas associés à des déficits mnésiques. Contrairement aux études menées par Saxe et coll., Groves et coll. ne montrent pas de déficits mnésiques dans une tâche spatiale en piscine de Morris et dans une tâche de conditionnement de peur au contexte ou à un son chez le modèle GFAP-TK (Groves *et al.*, 2013). De même, l'inactivation chez la souris de l'expression de la cycline D (souris KO D2), une protéine impliquée dans la régulation du cycle cellulaire et exprimée dans les progéniteurs neuronaux de l'hippocampe, inhibe fortement la neurogenèse adulte hippocampique (Kowalczyk *et al.*, 2004; Jaholkowski *et al.*, 2009) mais n'altère pas les performances mnésiques dans différentes tâches dépendantes ou indépendantes de l'hippocampe (Jaholkowski *et al.*, 2009). Dans le modèle de souris transgénique FSM qui surexprime la Follistatine, une protéine inhibitrice de l'Activine, facteur de croissance qui régule la différenciation et la prolifération ainsi que la morphologie des épines dendritiques (Ageta *et al.*, 2008), les souris montrent une forte diminution de la survie des nouveaux neurones produits (Ageta *et al.*, 2008; Kitamura *et al.*, 2009) mais ne montrent pas de déficit de rétention à long

terme d'une mémoire de conditionnement de peur au contexte (Kitamura *et al.*, 2009). En résumé, même si globalement le blocage de la neurogenèse adulte hippocampique induit un certain nombre de déficits de mémoires dépendantes de l'hippocampe, les résultats restent contrastés et ce même parfois pour des tâches de mémoire identiques. Ces différences peuvent s'expliquer par l'hétérogénéité des protocoles utilisés en termes d'espèce étudiée, de méthode et de durée de blocage, des tâches de comportements utilisées mais également selon l'âge des nouveaux neurones affectés durant la tâche de mémoire.

### III. Influence de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte hippocampique

L'ensemble des études sur les corrélations positives entre neurogenèse adulte et performances mnésiques ainsi que celles sur le blocage de la neurogenèse suggèrent que les nouveaux neurones participent aux processus mnésiques. Nous avons également vu dans le chapitre 2 que la production des nouveaux neurones peut être influencée par les neuromédiateurs et notamment par le glutamate dont la libération reflète en grande partie l'activité des réseaux neuronaux. Il est donc plausible que l'activation des réseaux neuronaux de l'hippocampe puisse influencer directement ou indirectement la production et/ou la survie des nouveaux neurones chez l'adulte. Plusieurs études montrent que certaines tâches mnésiques qui requièrent l'hippocampe modulent également la production de nouveaux neurones au sein du GD (voir pour revue Gould *et al.*, 1999c; Leuner *et al.*, 2006a; Epp *et al.*, 2013). Néanmoins, comme pour le blocage de la neurogenèse adulte, les résultats obtenus, synthétisés dans le Tableau 4 ci-après, restent contrastés.

Pour résumer, l'ensemble de ces données montre que différents apprentissages influencent positivement ou négativement la survie des nouveaux neurones. Au regard des différents paradigmes expérimentaux testés, on peut conclure qu'un nombre important de facteurs sous-tendent l'effet de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte : l'espèce et le sexe, le type de tâche, sa durée et sa difficulté, et surtout l'âge des nouveaux neurones au moment de l'apprentissage (voir pour revue Epp *et al.*, 2013). Néanmoins, on notera que l'effet de l'apprentissage qu'il soit positif ou négatif sur la neurogenèse adulte est bien spécifique des tâches de mémoire dépendantes de l'hippocampe (Gould *et al.*, 1999a; Ambrogini *et al.*, 2004b; Hairston *et al.*, 2005; Van der Borght *et al.*, 2005; Leuner *et al.*, 2006b; Dupret *et al.*, 2007). Plusieurs questions se sont posées au travers de ces études : Comment le type, la force et les phases de l'apprentissage influencent-ils la survie des nouveaux neurones ? Existe-t-il une sélection des nouveaux neurones en fonction de leur âge pour participer aux processus mnésiques ?

Type d'apprentissage				Neurogenèse adulte hippocampique				Modèle	Références	
Type de mémoire	Test	comportemental	Version	Durée	Injections BrdU	Sacrifice après injection	Âge nouveaux neurones au moment apprentissage			Effets apprentissage
Conditionnement	Réflexe contionné palpébral		Trace	4 jours	200mg/kg - 24h	24h	Prolifération	∅	Rat SD	Gould et al. 1999
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	6 jours				∅	Rat LE	Snyder et la. 2005
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	5 jours				∅	Rat Wistar Rat SD	Van der Borghet et al. 2005
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence PF visible	4 jours			Prolifération Ki67	∅	Rat SD	Mohapel et al. 2006
			Travail	14 jours				→		
Conditionnement	Peur conditionné		Contexte	2 jours	200mg/kg - 2h	2h	Prolifération	→	Rat SD	Pham et al. 2005
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	14 jours	3x18mg/kg - 24h	24h	Prolifération	→	Rat Wistar	Namestkova et al. 2005
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	4 jours	50mg/kg - 4 jours	24h	Prolifération	∅	Rat SD	Dóbróssy et al. 2003
	Evitement actif d'un choc électrique			1 jour		1 semaine		∅	Rat Wistar	Van der Borghet et al. 2005
				4 jours		12 jours		∅		
				3 jours				∅		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	4 jours			Prolifération Ki67	∅	Rat SD	Dupret et al. 2007
				5 jours				→		
				6 jours						
<hr/>										
Conditionnement	Réflexe conditionné palpébral		Trace Delay	4 jours	200mg/kg	11 jours	1 semaine	→ ∅	Rat SD	Gould et al. 1999
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence			18 jours		→ ∅		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		PF visible	5 jours	2x50mg/kg - 3 jours	15 jours	1 à 8 jours	→	Rat SD	Ambrogini et al. 2000
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	5 jours	2x50mg/kg - 3 jours	24h	1 à 4 jours	→	Rat SD	Lemaire et al. 2000
				8 jours	50mg/kg - 8 jours	24h	1 à 8 jours	→		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	4 jours		24h		∅	Rat SD	Dóbróssy et al. 2003
				8 jours	50mg/kg - 4 jours	24h	1 à 4 jours	→		
				4 jours		30 jours		→		
				8 jours		24h	5 à 8 jours	→		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence PF visible	5 jours	2x50mg/kg - 3 jours	3 semaines	8 à 15 jours	→ ∅	Rat SD	Ambrogini et al. 2004
						10 jours		→		
Conditionnement	Réflexe contionné palpébral		Trace	3 jours	200mg/kg	40 jours	1 semaine	→	Rat SD	Leuner et al. 2004
						70 jours		→		
				1 jour			8 jours	→		
	Transmission sociale de préférence alimentaire			2 jours	300mg/kg	16 jours	13 et 14 jours 8 et 13 jours	∅	Rat LE	Olariu et al. 2005
				4 jours	2x100mg/kg	12 jours	7 à 11 jours	→	Rat ?	Hairston et al. 2005
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	5 jours	100mg/kg - 3 jours	2 semaines	7 à 9 jours	∅	Rat Wistar et Rat SD	Van der Borghet et al. 2005
								∅		
	Evitement actif d'un choc électrique			1 jour	50mg/kg - 3 jours	1 semaine	4 à 7 jours		Rat Wistar	
				4 jours	100mg/kg - 3 jours	12 jours	4 à 11 jours			
Conditionnement	Peur conditionné		Contexte	2 jours	200mg/kg	12 jours	10 à 11 jours	∅	Rat SD	Pham et al. 2005
						19 jours				
Mémoire spatiale	Piscine de Morris		Référence	6 jours	3x200mg/kg	26 jours	7 à 12 jours	∅	Rat LE	Snyder et al. 2005
						40 jours				

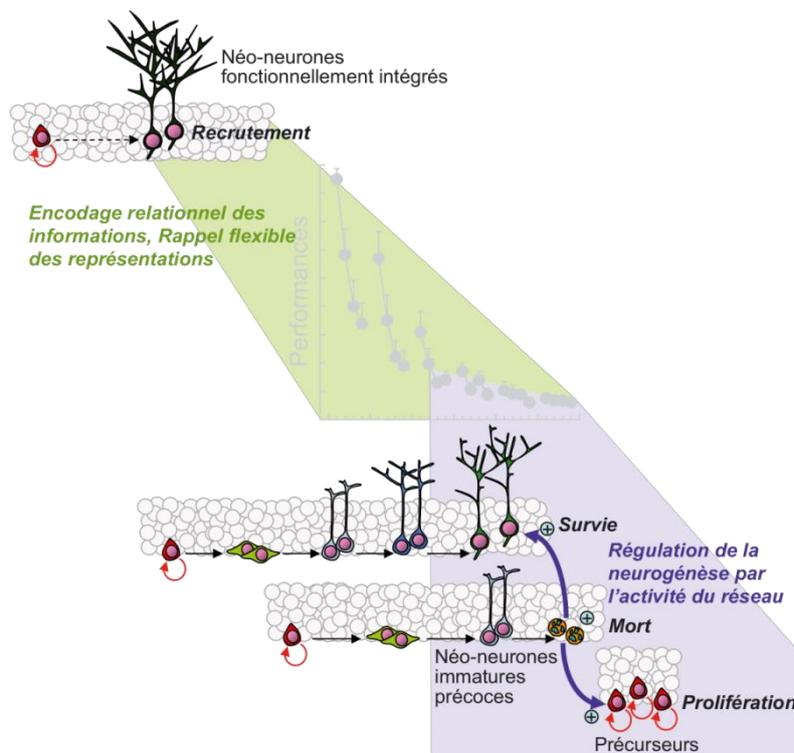
Conditionnement	Peur conditionné	Trace Delay	4 jours	200mg/kg	13 jours	1 semaine	→ ∅	Rat SD	Leuner et al. 2006
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	4 jours		11 jours	1 semaine	∅	Rat SD	Mohapel et al. 2006
		Travail	14 jours	4x50mg/kg	21 jours	1 à 14 jours	→		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence + Travail	7 jours	50mg/kg - 2 semaines	2 semaines	1 à 15 jours	→	Rat SD	Aztiria et al. 2007
			8 jours	50mg/kg - 4 jours	9 jours	1 à 7 jours	→		
			3 jours		3 jours	1 à 3 jours			
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	4 jours	50mg/kg - 3 jours	4 jours	1 à 4 jours	∅	Rat SD	Dupret et al. 2007
			5 jours		5 jours	1 à 5 jours			
			6 jours		6 jours	1 à 6 jours			
			5 jours	50mg/kg - 2 jours	10 jours	3 à 9 jours	→		
			6 jours	50mg/kg	14 jours	7 à 13 jours	→		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	5 jours	200mg/kg	10 jours	6 à 10 jours	→	Rat Sd	Epp et al. 2007
					15 jours	11 à 15 jours	∅		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	1 jour	3x100mg/kg	39 jours	9 jours	→	Souris C57Bl/6	Trouche et al. 2009
					13 jours				
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	6 jours	100mg/kg	43 jours	7 à 13 jours	→		
					73 jours			Rat SD	Tronel et al. 2010
					103 jours				
			8 jours	100mg/kg - 4 jours	9 jours	1 à 8 jours	→		
			6 jours	100mg/kg	9 jours	3 à 9 jours	→		
Conditionnement	Réflexe contionné palpébral	Trace 250ms					∅		
		Trace 500ms	4 jours	200mg/kg	21 jours	7 à 11 jours	→	Rat ?	Waddell et al. 2011
		Trace 500ms Cue					∅		
		Référence			9 jours				
					36 jours	1 à 8 jours			
		Travail			9 jours				
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	8 jours	100mg/kg - 3 jours	36 jours		∅	Souris C57BL/6NCrVr	Xu et al. 2011
					4 jours				
		Travail			32 jours	1 à 3 jours			
					4 jours				
		Référence			32 jours				
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Travail		100mg/kg - 3 jours	18 jours	7 à 18 jours	→		
		Référence					→		
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	Arrêt asymptote	50mg/kg	2 mois	2 mois	∅	Rat ?	Lemaire et al. 2012
					4 mois	4 mois			
		Référence			16 jours	6 à 11 jours	→	Rat SD et LE	
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	PF visible	5 jours	200mg/kg	10 jours	1 à 5 jours	∅		Epp et al. 2011
		Référence			15 jours	6 à 10 jours	→	Rat SD	
					20 jours	11 à 15 jours	→		
					13 semaines	12 semaines			
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	6 jours	3x50mg/kg	15 semaines		∅	Rat SD	Tronel et al. 2015
					7 semaines				
					8 semaines	6 semaines			
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	4 jours	200mg/kg	20 jours	6 à 10 jours	→	Rat SD	Chow et al. 2013
Mémoire spatiale	Piscine de Morris	Référence	40'	2x50mg/kg - 4 jours	6 semaines	6 semaines	∅	Souris	Tashiro et al. 2007

**Tableau 4 : Influences de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte hippocampique**

Tout d'abord, nous avons vu que plusieurs formes de mémoires dépendantes de l'hippocampe induisent des modifications de la neurogenèse adulte hippocampique mais la durée d'un apprentissage peut induire des effets opposés sur la survie des nouveaux neurones (Tableau 4). En effet, les différentes **phases d'un apprentissage** sur plusieurs jours (acquisition puis stabilisation), notamment lors de l'apprentissage d'une tâche spatiale en piscine de Morris peuvent avoir des effets complexes sur la neurogenèse (Döbrössy *et al.*, 2003; Dupret *et al.*, 2007). Brièvement, selon certains auteurs la prolifération des cellules progénitrices ne serait influencée qu'en fin d'apprentissage, une fois la tâche maîtrisée, indiquant que ces nouveaux neurones produits durant cette phase ne participent pas à cet apprentissage. De plus la survie d'une partie de ces neurones néoformés est favorisée à long terme (30 jours) pour potentiellement favoriser un apprentissage ultérieur. Au contraire, la phase d'acquisition favorise la survie de cellules âgées d'au moins 1 semaine tout en diminuant par apoptose la survie des cellules produites pendant cette phase d'autant plus rapidement que les animaux ont appris à localiser rapidement et précisément la plate-forme, suggérant que l'apprentissage est aussi optimisé par une perte neuronale de neurones néoformés trop immatures. Dans ce sens, le blocage de la mort des nouveaux neurones recrutés par l'apprentissage aboutit à un déficit de mémoire spatiale en piscine de Morris (Dupret *et al.*, 2007; Tronel *et al.*, 2010, 2012). Ces données indiquent donc que chaque phase d'un apprentissage spatial (acquisition, stabilisation), quand il est pratiqué sur plusieurs jours, influence différemment la prolifération des cellules progénitrices et la survie de nouveaux neurones de différents âges, suggérant que la sélection de certains nouveaux neurones pour survivre au profit de certains autres qui meurent, ou le « turnover » des nouveaux neurones, est un mécanisme essentiel au fonctionnement optimal de la mémoire (Figure 21).

Deuxièmement, le **niveau de difficulté de la tâche** semble être un facteur important de l'effet pro-survie de l'apprentissage. Par exemple, dans le cas d'un conditionnement de peur au contexte, l'acquisition de l'association entre la représentation du contexte et le stimulus inconditionnel se fait en un seul essai, ce qui est insuffisant pour influencer la survie des cellules nées 10 jours auparavant (Pham *et al.*, 2005; Lopez-Fernandez *et al.*, 2007). Par contre, un protocole distribué dans une tâche de conditionnement palpébral induit une augmentation de la survie des nouveaux neurones associée à de bonnes performances mnésiques, contrairement à un protocole massé (Sisti *et al.*, 2007). De même, Waddell et coll. montrent qu'un certain nombre d'essais de conditionnement du clignement palpébral est nécessaire pour obtenir l'effet pro-survie de l'apprentissage (Waddell *et al.*, 2011), suggérant que la force de l'acquisition d'une tâche est un paramètre important pour influencer la neurogenèse hippocampique. Enfin, l'apprentissage d'une tâche de mémoire spatiale de travail diminue la survie des nouveaux neurones contrairement à celui d'une tâche de mémoire spatiale de référence qui induit une augmentation (Xu *et al.*, 2011). L'ensemble de

ces résultats montre que la difficulté de la tâche d'apprentissage, son type et sa qualité peuvent influencer plus fortement la neurogenèse adulte, suggérant un lien entre neurogenèse et gestion des interférences mnésiques.



**Figure 21 : Influence de l'apprentissage sur la neurogenèse adulte hippocampique**

Les nouveaux neurones participent à la mise en mémoire (partie verte) et l'apprentissage module la maturation des nouveaux neurones (partie bleue). La phase précoce de l'apprentissage dépendant de l'hippocampe, caractérisée par une amélioration rapide des performances, augmente la survie à long terme des nouveaux neurones âgés de 1 à 3 semaines au moment de la tâche. La phase tardive de l'apprentissage, caractérisée par une stabilisation des performances, induit la mort des nouveaux neurones plus jeunes que ceux sélectionnés précédemment car trop immatures. Cette vague d'apoptose est suivie par une prolifération cellulaire accrue en vue d'un nouvel apprentissage. Extrait de Dupret & Abrous, 2010.

Indépendamment du nombre de nouveaux neurones, l'apprentissage d'une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris induit une accélération de la maturation des nouveaux neurones immatures (augmentation de l'expression de NeuN, mise en place précoce des synapses GABAergiques, accélération de la croissance axonale, augmentation de la complexité de l'arborisation et du nombre d'épines dendritiques) (Epp *et al.*, 2007; Ambrogini *et al.*, 2010; Tronel *et al.*, 2010; Lemaire *et al.*, 2012), et ce de façon dépendante de la demande cognitive de la tâche (Tronel *et al.*, 2010). De plus, malgré une diminution de la survie des nouveaux neurones lors de la phase d'acquisition d'une mémoire spatiale en piscine de Morris, la maturation de l'arborisation dendritique des neurones restants est améliorée (Tronel *et al.*, 2010). Cette accélération de la maturation des nouveaux neurones lors de l'apprentissage

pourrait être à l'origine de l'amélioration de la survie des neurones immatures en augmentant la période critique durant laquelle ils peuvent être intégrés au sein des réseaux neuronaux et ainsi participer à la mise en mémoire (Ambrogini *et al.*, 2010).

En résumé, l'ensemble de ces données suggère que la formation de mémoires dépendantes de l'hippocampe peut avoir un double effet sur la survie des nouveaux neurones du GD de l'hippocampe en favorisant leur survie lorsqu'ils sont très immatures et leur élimination s'ils ont atteint un niveau critique de maturation au moment de l'acquisition. Ces résultats suggèrent que lors de l'apprentissage, une sélection des nouveaux neurones se fait en fonction de leur âge afin d'obtenir la proportion idéale de nouveaux neurones participant à la mise en mémoire d'une information.

Néanmoins, ces données ne permettent pas de déterminer si la régulation de la neurogenèse est directement ou indirectement influencée par l'apprentissage. Certains auteurs fournissent des éléments de réponse à cette question en montrant des corrélations entre le niveau de neurogenèse adulte hippocampique et les performances mnésiques dans différentes tâches de mémoire dépendantes de l'hippocampe. Plusieurs auteurs montrent une corrélation positive entre le niveau de neurogenèse des animaux et leurs performances dans une tâche de mémoire spatiale ou de conditionnement de peur au contexte (Ambrogini *et al.*, 2000; Kempermann & Gage, 2002b; Wojtowicz *et al.*, 2008; Epp *et al.*, 2011a). Leuner et coll montrent également une corrélation positive entre le taux de survie des nouvelles cellules âgés de 8 jours et les performances au début de l'acquisition dans un conditionnement de trace du clignement palpébral (Leuner *et al.*, 2004). De même, la survie des nouveaux neurones âgés de 1 à 4 jours ou âgés de 1 semaine est d'autant plus importante que les animaux présentent de bonnes performances dans l'acquisition d'une mémoire spatiale en piscine de Morris (Lemaire *et al.*, 2000; Sisti *et al.*, 2007). De plus, ces auteurs montrent une corrélation positive entre les performances lors du test de rétention 2 semaines après l'acquisition et le niveau de neurogenèse (Sisti *et al.*, 2007), suggérant une implication à long terme des nouveaux neurones dans la consolidation de la mémoire. A contrario, la prolifération des cellules progénitrices est inversement corrélée aux performances mnésiques dans une tâche de conditionnement de peur au contexte (Pham *et al.*, 2005; Akers *et al.*, 2014). Par ailleurs, le niveau de nouvelles cellules générées durant la phase tardive d'un apprentissage spatial en piscine de Morris est inversement corrélé aux performances dans cette tâche (Döbrössy *et al.*, 2003; Epp *et al.*, 2007), suggérant que la sélection des nouvelles cellules est essentielle pour la mise en mémoire d'une information.

## IV. Recrutement des nouveaux neurones hippocampiques par les processus mnésiques et période critique

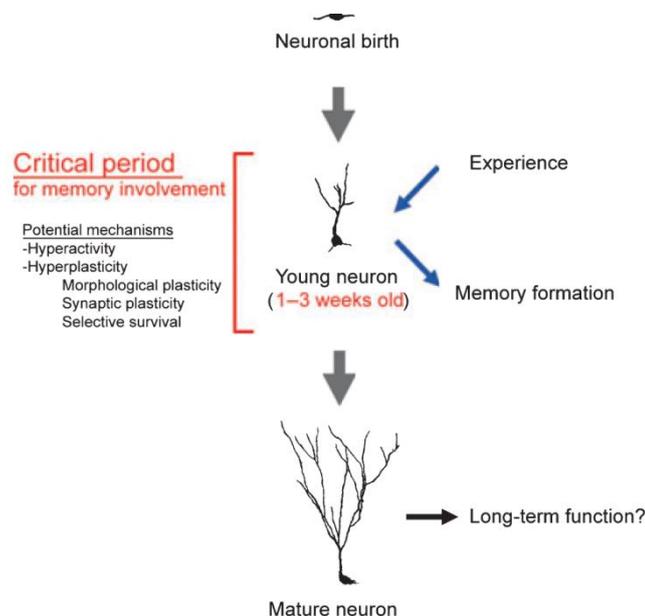
La question de la participation des nouveaux neurones à l'activité des réseaux hippocampiques est essentielle à la compréhension de leur implication précise dans la mise en mémoire d'une information. Plusieurs auteurs ont examiné le recrutement des nouveaux neurones dans ces processus en utilisant l'expression des IEGs *Arc*, *c-Fos* et/ou *Zif268* comme marqueurs d'activation de ces neurones suite à un apprentissage ou au rappel mnésique.

Une grande majorité des études a montré que l'âge des nouveaux neurones au moment de l'apprentissage influence de façon cruciale leur survie à court ou à long terme (Tableau 4) et ces résultats semblent indiquer une implication précoce des nouveaux neurones dans les processus mnésiques. Nous avons vu dans le chapitre 2 (voir chapitre 2, IV.C.5, page 49) que les nouveaux neurones peuvent exprimer les IEGs dès l'âge de 2 semaines chez le rat et 3 semaines chez la souris, suggérant qu'à partir de cet âge les nouveaux neurones sont potentiellement capables de participer à l'activité des réseaux et à la mise en mémoire d'une information (Jessberger & Kempermann, 2003; Bruel-Jungerman *et al.*, 2006; Snyder *et al.*, 2009a). Snyder et coll. ont d'ailleurs réalisé une cinétique de l'expression de *Zif268* dans les nouveaux neurones lors de l'apprentissage d'une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris chez le rat et montrent une expression significative de *Zif268* dans les nouveaux neurones âgés de 2 et 4 semaines par rapport à des neurones plus jeunes ou plus vieux (Snyder *et al.*, 2009a). De même, le rappel à long (5 jours) ou très long terme (30 jours) d'une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris induit une activation des nouveaux neurones âgés de 1 à 2 semaines au moment de l'apprentissage (Trouche *et al.*, 2009; Epp *et al.*, 2011a, 2011b). Enfin, la réexposition à un environnement enrichi familial ainsi que le réapprentissage d'une tâche de mémoire spatiale 4 semaines après la première exposition, induit une forte activation des nouveaux neurones âgés de 1 à 2 semaines au moment de la première exposition (Tashiro *et al.*, 2007; Trouche *et al.*, 2009). L'activation des nouveaux neurones à cet âge est bien dépendante d'une tâche d'apprentissage puisque l'exploration spatiale d'un environnement n'induit pas d'activation des nouveaux neurones âgés de 2 semaines (Sandoval *et al.*, 2011). Récemment, le développement des outils d'optogénétique a permis de montrer que l'inactivation spécifique des neurones âgés de 4 semaines mais pas ceux âgés de 2 ou 8 semaines induit un déficit de rétention d'une mémoire dépendante de l'hippocampe (Gu *et al.*, 2012a).

Ces données suggèrent que les nouveaux neurones doivent avoir atteint un certain niveau de maturation pour être recrutés et que bien qu'ils soient encore relativement immatures au moment de l'apprentissage, les nouveaux neurones sont capables de participer à la mise en mémoire d'une information et à son rappel à long terme.

Concernant les nouveaux neurones plus vieux, certains auteurs montrent que ceux âgés de 6 semaines au moment de l'apprentissage sont recrutés par l'apprentissage et le rappel de la tâche (Farioli-Vecchioli *et al.*, 2008; Tronel *et al.*, 2015). D'autres auteurs montrent également une activation préférentielle des nouveaux neurones par rapport aux préexistants lorsqu'ils sont âgés de 4 à 10 semaines, mais pas lorsqu'ils sont plus jeunes (Kee *et al.*, 2007; Farioli-Vecchioli *et al.*, 2008; Stone *et al.*, 2011). Néanmoins, il semble que l'activation de ces nouveaux neurones âgés de 4 à 6 semaines ne soit pas spécifique d'un apprentissage dépendant de l'hippocampe puisqu'ils sont également activés par l'exploration d'un nouvel environnement et par l'exercice physique (Sandoval *et al.*, 2011; Clark *et al.*, 2012). Dans ce sens, certains auteurs ne montrent pas d'activation préférentielle des nouveaux neurones âgés de 6 semaines par rapport aux neurones préexistants suite à une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris (Jessberger & Kempermann, 2003; Tashiro *et al.*, 2007).

L'ensemble de ces travaux a permis de montrer qu'il existe une **période critique**, comprise entre 1 et 4 semaines après leur naissance, au cours de laquelle les nouveaux neurones sont plus sensibles aux stimuli externes et ainsi susceptibles de participer aux processus mnésiques dépendants de l'hippocampe (Figure 22; voir pour revue Aasebø *et al.*, 2011). C'est par ailleurs durant cette même période que les nouveaux neurones, sélectionnés pour survivre ou mourir, présentent des caractéristiques physiologiques particulières et notamment une hyperexcitabilité et une facilitation de la plasticité synaptique qui pourraient leur permettre de participer préférentiellement aux processus mnésiques.

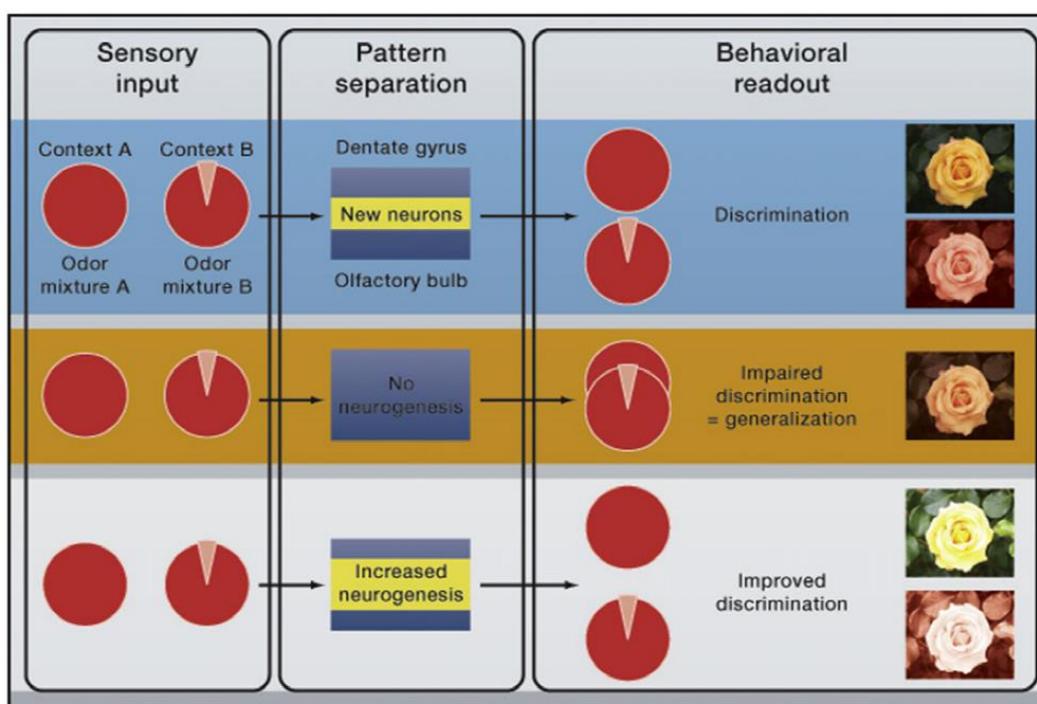


**Figure 22 : Période critique d'intégration des nouveaux neurones hippocampiques**

Les nouveaux neurones s'intègrent au sein des réseaux neuronaux préexistants de l'hippocampe lorsqu'ils se situent dans une période critique située entre 1 et 3 semaines après leur naissance afin de participer aux processus mnésiques dépendants de l'hippocampe. Extrait de Aasebo *et al.* 2011.

## V. Séparation de patterns

Etant donné le rôle essentiel du GD dans la fonction de séparation de patterns afin de transformer des expériences ou des événements similaires en représentation non-chevauchante et ainsi limiter les interférences (voir chapitre 1, II.C.3, page 24), il est légitime de se poser la question du rôle de la neurogenèse adulte hippocampique dans cette fonction particulière. Les nouveaux neurones présentant une période critique au cours de leur maturation durant laquelle ils sont hyperexcitables et plus facilement recrutés, il est probable qu'ils sous-tendent en partie les capacités de plasticité synaptique du GD et qu'ils jouent aussi un rôle critique dans la discrimination d'éléments proches (voir pour revue Aimone *et al.*, 2010, 2011; Sahay *et al.*, 2011b; Yassa & Stark, 2011). Au cours des cinq dernières années, il a été montré que la neurogenèse adulte hippocampique est impliquée dans la fonction de séparation de patterns (Figure 23; voir pour revue Sahay *et al.*, 2011b).



**Figure 23 : Neurogenèse et séparation de patterns**

Les nouveaux neurones jouent un rôle dans la fonction de séparation de patterns dans le GD et dans le BO (discrimination de deux contextes ou de deux odeurs proches). Le blocage de la neurogenèse induit un déficit de séparation de patterns alors que cette fonction est améliorée avec l'augmentation de la neurogenèse. Extrait de Sahay *et al.* 2011b.

Le blocage de la neurogenèse adulte – modèle d'irradiation focale, modèle transgénique de souris GFAP-TK ou Nestin-stTA/TRE-Bax ou utilisation d'un vecteur lentiviral injecté dans l'hippocampe permettant d'inhiber la voie Wnt et de réduire *in fine* le nombre de nouveaux neurones – induit un déficit de discrimination fine dans une tâche spatiale de séparation de patterns en labyrinthe radial ou en « Touch screen » (Clelland *et al.* 2009; Nakashiba *et al.*

2012; Swan *et al.* 2014), un déficit de discrimination d'une séquence d'odeurs liées au contexte (Luu *et al.*, 2012), et un déficit de discrimination de contextes proches dans une tâche de conditionnement de peur (Sahay *et al.*, 2011a; Tronel *et al.*, 2012). Néanmoins, le blocage spécifique de la neurogenèse dans un modèle transgénique GFAP-TK chez le rat n'induit pas de déficit dans une tâche de séparation de patterns en labyrinthe radial ou dans une tâche de conditionnement de peur au contexte (Groves *et al.*, 2013). Les différences de résultats obtenus en séparation de patterns entre ces modèles de blocage peuvent être en partie expliquées par le niveau de neurogenèse adulte restant après blocage en fonction de l'espèce étudiée. En utilisant une souris transgénique qui permet d'inhiber spécifiquement une partie des neurones préexistants du GD de l'hippocampe tout en gardant les nouveaux neurones intacts, Nakashiba *et coll.* montrent que les neurones préexistants participent quant à eux à la fonction de complétion de patterns (Nakashiba *et al.*, 2012).

Inversement, l'augmentation de la survie neuronale par inhibition de l'apoptose des cellules nouvellement formées chez un modèle transgénique de souris  $iBax^{Nes}$ , entraîne une amélioration des performances de discrimination de deux contextes dans une tâche de séparation de patterns (Sahay *et al.*, 2011a). De même, l'augmentation de la survie neuronale *via* l'exercice physique volontaire permet d'améliorer les performances dans une tâche de séparation de patterns de deux stimuli proches dans un protocole de « *Touch screen* » (Creer *et al.*, 2010). Creer *et coll.* montrent par ailleurs des corrélations positives entre les performances dans cette tâche et le niveau de neurogenèse chez les souris (Creer *et al.*, 2010), renforçant ainsi l'hypothèse d'un rôle direct de la neurogenèse adulte du GD dans la fonction de séparation de patterns.

Pour résumer, l'ensemble de ces données, même si parfois contradictoires, montre que la neurogenèse adulte hippocampique a aujourd'hui un rôle reconnu dans les différentes étapes de la mise en forme de mémoires dépendantes de l'hippocampe et dans la fonction de séparation de patterns associée au GD. Même si le lien entre le rôle de la neurogenèse dans la mémoire et celui dans la séparation de patterns n'est pas encore clair, il semble évident que la formation, la sélection et le recrutement des nouveaux neurones hippocampiques à des moments clés de leur maturation en fonction des différentes phases de l'apprentissage sont impliqués dans l'encodage et la consolidation d'informations impliquant l'hippocampe et ce d'une façon d'autant plus forte si les informations à mémoriser sont proches et/ou demandent à être stockées et rappelées à long terme. Néanmoins, le rôle de la neurogenèse adulte hippocampique n'a jamais été testé dans une mémoire qui sollicite de façon très importante l'hippocampe, ses fonctions de séparation et de complétion de patterns ainsi que sa capacité d'encodage et de rappel à très long terme d'informations complexes et proches, comme c'est le cas dans la mémoire épisodique.



# Chapitre 4

---

## La mémoire épisodique

La mémoire déclarative est divisée en deux sous-parties : la mémoire épisodique et la mémoire sémantique. L'acquisition de ces deux formes de mémoire requiert l'intégrité de l'hippocampe, ce qui suppose qu'elles sont liées, voire même dépendantes l'une de l'autre. Il existe toutefois une différence essentielle : la mémoire sémantique ne nécessite pas de se rappeler de comment nous avons appris une information, c'est une connaissance que l'on a quel que soit le contexte dans lequel a eu lieu l'acquisition. La mémoire épisodique implique au contraire de se remémorer un événement dans le temps et l'espace afin de reconstituer le souvenir. La mémoire épisodique permet donc de se souvenir des différentes composantes de cet événement unique mémorisé. Par contre, une information épisodique peut devenir sémantique si cette information est répétée dans diverses situations car elle sera alors décontextualisée. Nous traiterons dans cette partie uniquement ce qui concerne la mémoire épisodique.

### I. Définition

Le terme de souvenir tel qu'il est utilisé dans la vie de tous les jours fait la plupart du temps référence à la **mémoire épisodique**. La mémoire épisodique a été pour la première fois définie et distinguée de la mémoire sémantique par Endel Tulving en 1972 (Tulving, 1972, 1985b, 1985c, 2002). Il définit la mémoire épisodique comme le processus qui permet de se souvenir d'un événement personnel unique et de le replacer dans le contexte spatio-temporel dans lequel il a eu lieu. Elle est définie comme la mémoire du « Quoi – Où – Quand » car elle permet de se souvenir d'un événement particulier « Quoi », dans un lieu particulier « Où » et à un moment précis « Quand ». Tulving précise que la recollection des éléments d'une mémoire épisodique nécessite un état de conscience auto-noétique, c'est-à-dire une conscience de soi en train de revivre l'épisode du passé et donc la capacité à voyager dans le temps (Tulving, 1985b). Lorsque l'on se rappelle d'un événement, nous pouvons le faire comme un simple témoin ou comme un participant. Lorsque l'on se place comme un simple témoin, l'information rappelée est de nature sémantique et nous sommes capables de décrire un événement de manière objective et détachée. Par contre, en tant que participant, l'information rappelée est de nature épisodique et nous revivons activement l'événement. Le rappel d'un souvenir met en jeu la mémoire de reconnaissance qui peut être divisée en deux processus : la familiarité et la

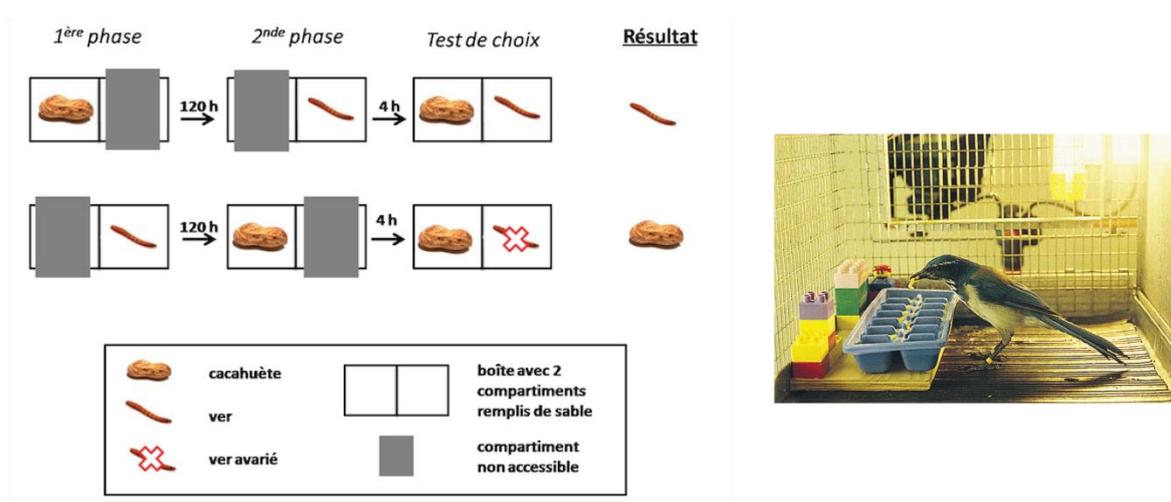
recollection, en fonction de la nature des informations qui sont rappelées (Eichenbaum *et al.*, 2007). Le sentiment de familiarité permet de savoir que l'on a déjà rencontré ou expérimenté quelque chose mais sans se rappeler dans quelles circonstances, au contraire de la recollection qui permet de replacer quelque chose dans le contexte dans lequel il a eu lieu (Tulving, 1985c; Yonelinas, 2001; Eichenbaum *et al.*, 2007). Par exemple, lorsque nous allons dans un restaurant, s'il nous semble que nous connaissons ce restaurant mais sans nous rappeler dans quelles circonstances, nous faisons appel au processus de familiarité. Par contre si nous nous souvenons que nous y sommes allés pour la première fois il y a un mois pour l'anniversaire d'un ami et que nous nous rappelons des personnes présentes et des circonstances, alors nous utilisons le processus de recollection. Afin de savoir si le sujet revit l'épisode qu'il raconte, on peut lui demander s'il sait - « Know » - ou s'il se souvient - « Remember ». C'est pour ces raisons que Tulving définit la mémoire épisodique comme une capacité spécifique à l'espèce humaine (Tulving, 1985c; Tulving & Markowitsch, 1998). Une des caractéristiques clé de la mémoire épisodique est également le fait que l'on soit capable de **se souvenir à très long terme** (plusieurs années) d'un événement que l'on a vécu qu'une seule fois. Par exemple, nous sommes capables de nous souvenir de notre mariage ou de la naissance d'un enfant alors que ces événements n'arrivent qu'une seule fois au cours de la vie. De plus, cette mémoire est flexible, c'est-à-dire que l'on peut l'utiliser afin d'adapter notre comportement à la situation présente.

## II. Et chez l'animal ?

La conscience de soi comme élément central dans la définition de Tulving de la mémoire épisodique a beaucoup freiné les études de la mémoire épisodique chez l'animal. C'est pour cette raison que certains auteurs ont introduit le terme de « episodic-like memory » en lui apposant une définition purement opérationnelle c'est-à-dire comme la **mémoire du « Quoi », « Où » et « Quand »** (Clayton & Dickinson, 1999; Griffiths *et al.*, 1999; Clayton *et al.*, 2001a, 2003; Dere *et al.*, 2006; Crystal, 2009). Selon cette définition, il est possible de trouver des exemples en milieu naturel d'espèces qui présentent des comportements faisant appel à un type épisodique de mémoire (Clayton *et al.*, 2001a). Par exemple, les primates non humains présentent un comportement de type épisodique puisque dans le cas d'une communauté avec un mâle dominant et des alliances, les singes doivent se souvenir de qui a fait quoi et à qui (Aureli & Waal, 2000). On peut également citer les oiseaux qui parasitent d'autres oiseaux en plaçant leurs œufs dans le nid d'espèces hôtes. Ces oiseaux observent les espèces qu'ils parasitent afin de savoir quand ils doivent revenir pour déposer leurs œufs. Ils doivent donc se souvenir **où** se situe le nid de l'espèce à parasiter et **quand** y aller pour tomber au moment où l'espèce hôte a pondu ces propres œufs (**Quoi**). Les campagnols des champs forment des communautés composées d'un mâle et de plusieurs femelles sur un grand espace de terrain.

Afin de féconder les femelles, le mâle doit savoir **quand** une femelle est réceptive (**Quoi**) et **où** elle se situe sur le terrain afin d'éviter de parcourir trop de distance et ainsi de s'exposer trop longtemps aux prédateurs. Certains oiseaux et mammifères cachent de la nourriture (**Quoi**) dans plusieurs cachettes (**Où**) pour ensuite retrouver cette nourriture en fonction de leur périssabilité (**Quand/Depuis combien de temps**) (Salwiczek *et al.*, 2010).

En utilisant cette dernière observation, Clayton et Dickinson réalisent la première mise en évidence expérimentale que des animaux sont capables de mémoire épisodique (Figure 24; Clayton & Dickinson, 1998; Clayton & Dickinson, 1999; Clayton *et al.*, 2001a, 2001b). En utilisant la capacité naturelle de cache d'une espèce d'oiseaux – le geai buissonnier – ces auteurs montrent que ces oiseaux sont capables de se souvenir de la localisation (**Où**) d'un type de nourriture (**Quoi**) en fonction de sa périssabilité dans le temps (**Quand/Depuis combien de temps**).



**Figure 24 : Paradigme expérimental utilisé par Clayton et Dickinson sur le geai buissonnier**

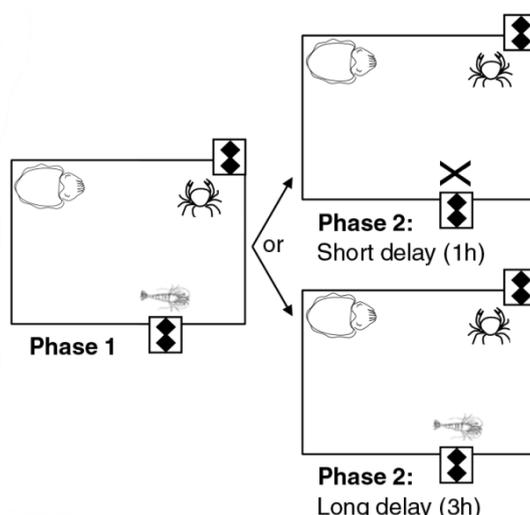
Les oiseaux cachent des vers (W) et des cacahuètes (P) dans un bac à différents intervalles de temps. Quatre heures après avoir caché de la nourriture, les oiseaux préfèrent aller chercher les vers alors que 124 heures après ils retournent à l'emplacement des cacahuètes. D'après Clayton & Dickinson 1998.

Pour cela, les animaux sont mis en présence de vers (nourriture préférée et périssable) et de cacahuètes (nourriture non périssable), qu'ils cachent spontanément à différents moments dans des bacs à disposition remplis de sable. Une fois la nourriture cachée, les oiseaux retournent dans leur cage. Quatre ou 124 heures plus tard, les animaux sont remis en présence du bac où ils ont caché la nourriture. Les auteurs ont observé que 4 heures après, les oiseaux retournaient dans les cachettes contenant les vers alors que 124h plus tard, lorsque les vers se sont dégradés avec le temps, ils retournaient directement dans les cachettes contenant les cacahuètes (Figure 24; Clayton & Dickinson, 1998). La perception du temps qui s'est écoulé entre le moment où la nourriture a été cachée et le moment où ils

doivent la retrouver (**Quand**) permet aux oiseaux de sélectionner le type de nourriture (**Quoi**) qu'il est préférable de consommer à ce moment et ainsi de retourner dans les bonnes cachettes (**Où**). Ce comportement est interprété par les auteurs comme la faculté qu'ont ces animaux à se rappeler d'informations de type épisodique. Clayton et coll. ont poursuivi leur études sur les geais et ont montré que si les vers sont encore consommables à long terme, les oiseaux retournent dans les cachettes contenant les vers et ce à court et long terme (Clayton & Dickinson, 1998), suggérant que le fait d'aller chercher les vers à court terme lorsqu'ils sont périssables et les cacahuètes à long terme n'est pas un comportement inné mais qu'il correspond bien à un souvenir épisodique. Les auteurs ont par la suite ajouté une difficulté en proposant aux geais des vers, des crickets et des cacahuètes (Clayton *et al.*, 2001b). Les vers sont toujours périssables à long terme, entre 4 et 28 heures, les cacahuètes ne sont pas périssables et les crickets sont périssables à moyen terme, entre 28 et 120 heures. Les auteurs montrent que 4 heures après la phase d'acquisition, les oiseaux vont chercher les vers, au bout de 28 heures, ils vont chercher les crickets et à long terme, ils vont chercher les cacahuètes. Ces données montrent que les geais sont capables d'utiliser cette mémoire épisodique en estimant assez finement le temps écoulé. Par ailleurs, lorsque d'un coup les vers pourrissent très rapidement, les geais arrêtent de les cacher (Clayton *et al.*, 2005), suggérant que les souvenirs épisodiques peuvent être utilisés de manière flexible afin d'adapter leur comportement à la situation présente.

Ces études sur le geai buissonnier ont été le point de départ d'un débat sur l'existence d'une mémoire épisodique chez d'autres espèces. D'autres auteurs ont montré la présence de mémoire épisodique chez d'autres espèces d'oiseaux : la mésange à tête noire, les corvidés et le pigeon (voir pour revue Salwiczek *et al.*, 2010). Nous avons vu plus haut, que le campagnol des prés présente un comportement de type épisodique de façon naturelle. Ce comportement a été étudié en laboratoire et montre que les campagnols des prés possèdent une mémoire épisodique (Ferkin *et al.*, 2008). Dans un labyrinthe en T, deux femelles sont placées au bout des deux bras du labyrinthe, une des femelles est réceptive sexuellement alors que l'autre est à 24 heures de la mise bas et donc non réceptive. Le mâle a la possibilité de visiter les deux bras. Dans les 12 heures après la mise bas, les femelles présentent un pic de réceptivité. Lorsque le mâle est replacé dans le labyrinthe 24 heures après la phase initiale, c'est-à-dire peu de temps après que la femelle est mise bas, il visite plus la localisation où la femelle s'apprêtait à mettre bas car au moment où le campagnol est remis dans le labyrinthe, elle est très réceptive. Les campagnols des prés présentent donc un comportement épisodique : Quelle femelle (**Quoi**) est réceptive (**Quand**) et dans quel bras du labyrinthe (**Où**). Par contre lorsque le mâle est remis dans le labyrinthe 48 heures après la phase d'acquisition, c'est-à-dire lorsque les deux femelles présentent le même niveau de réceptivité, il visite indifféremment les deux localisations où se trouvaient les femelles. Jozet-Alves et coll. montrent que les poulpes possèdent également une mémoire épisodique (Jozet-Alves *et al.*, 2013). Les poulpes sont

placés dans une arène expérimentale possédant deux localisations qui délivrent des crabes sur une des deux localisations et des crevettes, nourriture favorite du poulpe, sur l'autre localisation. Lorsque les poulpes sont remis dans l'arène 1 heure après, la localisation qui délivrait initialement des crabes redonne de la nourriture (crabe) alors que 3 heures après, les deux localisations redonnent de la nourriture (crabe et crevette). Lorsque les poulpes sont remis dans l'arène 1 heure après, ils se dirigent préférentiellement vers la localisation qui délivre les crabes puisqu'ils s'attendent à ne rien trouver d'autre à manger alors que 3 heures après ils vont préférentiellement vers la localisation qui délivre les crevettes puisqu'à ce délai, elles sont à nouveau disponibles et qu'ils les préfèrent (Figure 25; Jozet-Alves *et al.*, 2013). Les auteurs concluent donc que les poulpes possèdent une mémoire épisodique puisqu'ils sont capables de se souvenir quel type de nourriture (**Quoi**) est délivré, **où** et **depuis combien de temps**.



**Figure 25 : Paradigme expérimental utilisé par Jozet-Alves et coll. sur le poulpe**

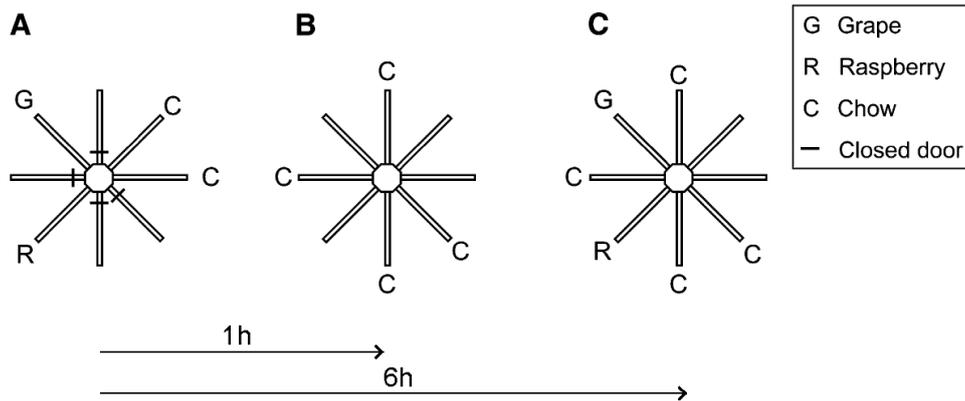
Au départ, les deux localisations de l'arène délivrent de la nourriture mais une seule des deux délivre la nourriture préférée des poulpes, la crevette. Une heure après, uniquement la localisation délivrant le crabes délivre à nouveau de la nourriture alors que 3 heures après les deux localisations délivrent à nouveau de la nourriture. Extrait de Jozet-Alves *et al.* 2013.

La mémoire épisodique a également été mise en évidence chez les grands singes : chimpanzés, orangs-outans et bonobos (Martin-Ordas *et al.*, 2010) grâce à un paradigme expérimental identique à celui utilisé par Clayton chez les oiseaux. Les auteurs montrent que les singes sont capables de se souvenir d'**où** ils peuvent obtenir un jus d'orange qu'ils apprécient (**Quoi**) et depuis **combien de temps** l'animal n'a pas eu de jus d'orange. L'ensemble de ces données indique que plusieurs espèces animales sont capables d'exprimer une mémoire épisodique de type « Quoi, Où, Quand ».

### III. Les rongeurs de laboratoire

Un certain nombre de paradigmes de mémoire épisodique ont été développés chez le rongeur de laboratoire afin de pouvoir étudier cette forme de mémoire et d'analyser les mécanismes sous-jacents à sa mise en place (Crystal, 2009, 2010).

En se basant sur le paradigme de Clayton et Dickinson, Babb et coll. ont développé une tâche de mémoire épisodique en labyrinthe radial chez le rat (Babb & Crystal, 2005). Durant la première phase, trois bras du labyrinthe radial sont appâtés avec des boulettes de nourriture classique et un quatrième bras est appâté avec une boulette aromatisée au chocolat, bien plus intéressante pour l'animal. Les animaux sont ensuite remis dans le labyrinthe radial à différents délais. Trente minutes après la phase d'acquisition, les bras précédemment appâtés avec la nourriture classique délivrent à nouveau de la nourriture mais pas le bras délivrant la nourriture aromatisée au chocolat, alors que 4 heures après tous les bras précédemment appâtés délivrent à nouveau la même nourriture. Les auteurs montrent que 30 minutes après la phase d'acquisition, les rats vont préférentiellement dans les bras délivrant la nourriture classique alors que 4 heures plus tard ils retournent préférentiellement dans le bras délivrant la nourriture aromatisée au chocolat (Babb & Crystal, 2005). Ceci indique que les rats se souviennent du type de nourriture qui a été délivré (**Quoi**), **où** et **depuis combien de temps**. Par ailleurs, la dévaluation de la nourriture aromatisée au chocolat induit une absence de visites du bras appâté avec cette nourriture à long terme (Babb & Crystal, 2005; Naqshbandi *et al.*, 2007), suggérant que les rongeurs sont capables de stocker et d'utiliser leurs souvenirs épisodiques de façon flexible lors d'un changement de situation. Par la suite, Babb et coll. ont accentué la difficulté de la tâche (Figure 26; Babb & Crystal, 2006a). Durant la première phase, deux bras du labyrinthe sont appâtés avec des boulettes de nourriture classique et deux autres bras sont appâtés avec des boulettes aromatisées (framboise ou raisin), préférées par les rats (Figure 26A). Les rats sont ensuite remis à court (1 heure) ou long terme (6 heures) dans le labyrinthe dans une nouvelle situation de bras appâtés (Figure 26B et C). Une heure après, les bras précédemment appâtés sont vides et les quatre autres bras sont appâtés uniquement avec des boulettes classiques (Figure 26B). Six heures après, les bras précédemment appâtés avec de la nourriture classique sont vides, les bras précédemment appâtés avec des boulettes de nourriture aromatisée sont à nouveau appâtés et les quatre autres bras sont appâtés avec de la nourriture classique (Figure 26C). Lors de la phase de test, pour avoir accès à la nourriture aromatisée, les rats doivent donc se souvenir du type de nourriture délivré (**Quoi**), dans quel bras elle se trouvait (**Où**) en fonction de la durée depuis la première présentation (**Quand/Depuis combien de temps**).



**Figure 26 : Paradigme expérimental utilisé par Babb & Crystal chez le rongeur**

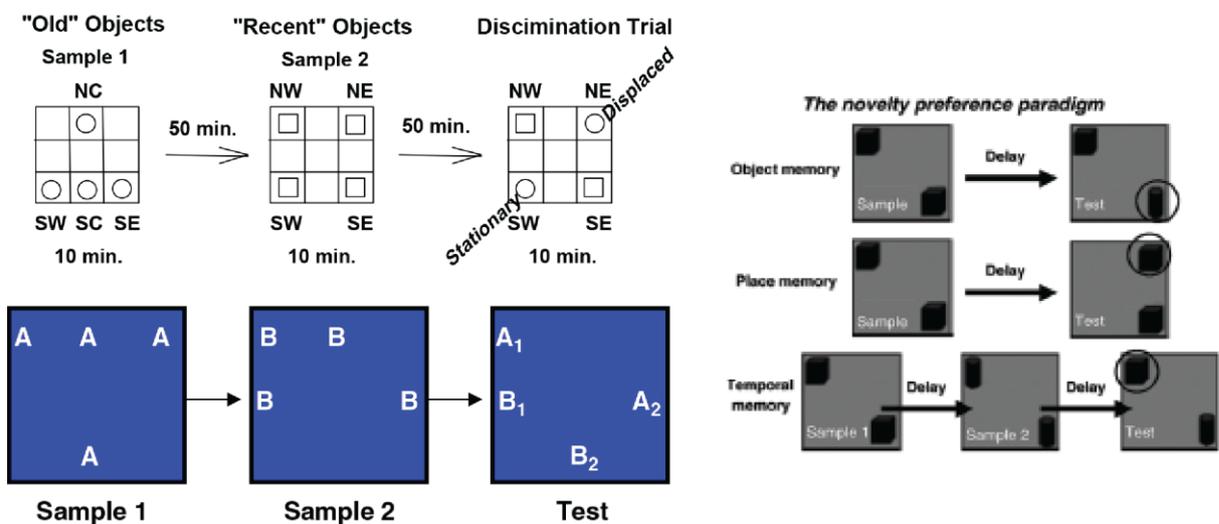
**A.** Dans la première phase, deux bras sont appâtés avec des boulettes de nourriture classique (C) et deux autres bras sont appâtés avec de la nourriture aromatisée au raisin (G) ou à la framboise (R). **B.** Une heure après la première phase, les quatre bras précédemment appâtés sont vides et les quatre autres bras sont appâtés avec de la nourriture classique. **C.** Six heures après la première phase, les deux bras appâtés avec de la nourriture aromatisée à la framboise ou au raisin sont à nouveau remplis. Les quatre bras non appâtés dans la première phase sont appâtés avec de la nourriture classique. Les rats sont ensuite testés soit 1 heure, soit 6 heures après acquisition pour savoir s'ils ont mémorisé les emplacements de la nourriture aromatisée en fonction du temps écoulé depuis la première phase. Extrait de Babb & Crystal 2006.

Dans cette tâche, 1 heure après la première phase (test court terme), les rats visitent les nouveaux bras alors que 6 heures après (test long terme) les rats visitent préférentiellement les bras appâtés avec la nourriture aromatisée (Babb & Crystal, 2006a). Par ailleurs, lorsqu'un type de nourriture est dévalué en donnant aux rats un accès ad libitum à cette dernière, les auteurs observent que les rats visitent moins le bras où se trouvait la nourriture dévaluée (Babb & Crystal, 2006a). Ceci suggère que les rats sont capables de se souvenir où était situé le type de nourriture qui ne les intéresse plus afin d'éviter cette localisation à long terme, indiquant qu'ils sont capables d'utiliser leurs souvenirs épisodiques de manière flexible.

Ces études ont également été le point de départ d'un débat autour de la dimension temporelle de la mémoire épisodique chez l'animal. En effet, Babb et coll. considèrent dans cette tâche le « Quand » comme la durée qui s'est écoulée depuis la phase d'acquisition. Ces auteurs montrent d'ailleurs que le comportement épisodique des rats n'est pas lié au moment de la journée (Babb & Crystal, 2006b), en refaisant la même expérience mais en faisant en sorte que le test à court ou à long terme tombe le matin, c'est-à-dire que le test à court terme est réalisé 1 heure après la phase d'acquisition et le test à long terme est réalisé 25 heures après. Les auteurs montrent que dans ce cas, les rats continuent de visiter les bras délivrant la nourriture classique à court terme et ceux qui délivrent la nourriture aromatisée au chocolat à long terme (Babb & Crystal, 2006b), suggérant que le comportement épisodique des rats repose sur le temps qui s'est écoulé depuis la phase d'acquisition et non pas seulement sur le moment de la journée où le test est réalisé. Roberts et coll. ont également cherché à savoir si la mémoire épisodique chez le rongeur repose sur le « Quand » ou sur le « Depuis combien de

temps » en modifiant le paradigme de Babb et coll. afin de tester leur hypothèse sur le « Quand » (Roberts, 2002; Roberts *et al.*, 2008). Ces auteurs montrent également que la mémoire épisodique chez le rongeur dépend du « Depuis combien de temps » et non pas du « Quand » (Roberts *et al.*, 2008). Néanmoins, en utilisant également le paradigme de Babb et coll., Zhou et coll. montrent que la mémoire épisodique repose sur le « Quand » et non pas sur « Depuis combien de temps » (Zhou & Crystal, 2009, 2011; voir pour revue Crystal, 2013a).

Dere et coll. ont développé quant à eux une tâche reposant sur la récence de l'exploration d'objets placés à des endroits spécifiques au sein d'une enceinte expérimentale (Figure 27; Dere *et al.*, 2005a, 2005b, 2006; Kart-Teke *et al.*, 2006). Les auteurs montrent que les souris passent spontanément plus de temps à explorer les objets familiers les plus anciens, suggérant qu'elles sont capables de reconnaître les objets déjà explorés (**Quoi**), de se souvenir de leur localisation au sein de l'arène expérimentale (**Où**) et de différencier les objets récemment rencontrés de ceux rencontrés plus tôt (**Depuis combien de temps**).



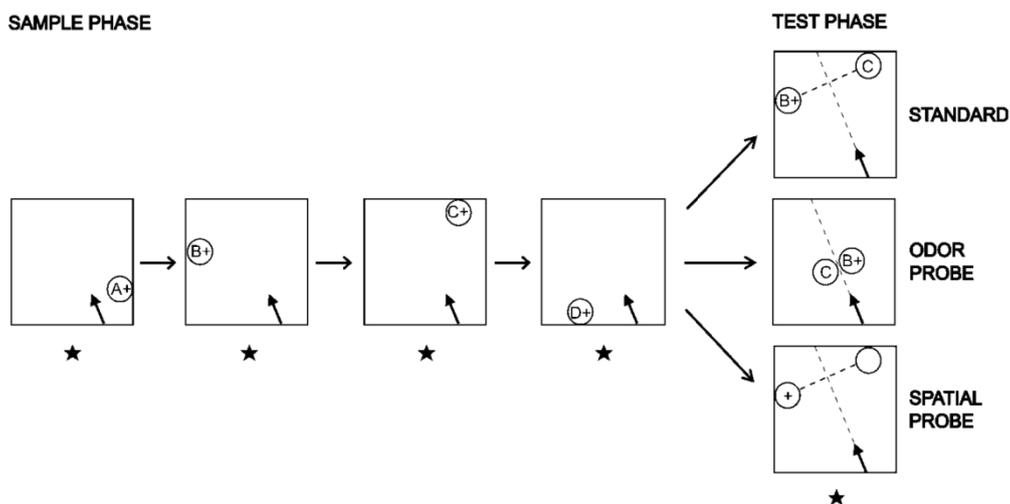
**Figure 27 : Paradigme expérimental utilisé par Dere et coll. sur les rongeurs**

Cette tâche est basée sur l'exploration spontanée d'objets placés à des endroits spécifiques de l'arène en fonction de la récence de la présentation des objets. D'après Dere *et al.* 2005, 2006.

Fellini et coll. ont développé, chez la souris, une tâche reposant sur l'attraction naturelle des mâles pour une femelle et l'évitement naturel d'un mâle dominant (Fellini & Morellini, 2013). En fonction du moment de la journée (matin ou après-midi), les mâles sont soit exposés à une femelle, soit à un mâle dominant à une localisation précise dans l'arène. Dix-huit ou 24 heures plus tard, les mâles sont remis dans l'arène soit le matin, soit l'après-midi et les auteurs montrent que les souris visitent plus la localisation (**Où**) se trouvait la femelle (**Quoi**) en fonction du moment de la journée (**Quand**).

D'autres auteurs ont choisi de modéliser la composante temporelle en exploitant la capacité des animaux à ordonner les événements les uns par rapport aux autres (Fouquet *et al.*, 2010).

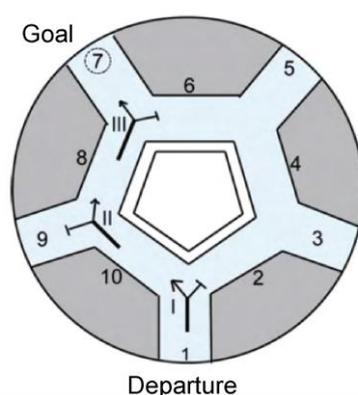
En effet, selon Tulving, une des caractéristiques de la mémoire épisodique est qu'elle est constituée de séquences d'événements situés à la fois dans le temps et dans l'espace. Le groupe d'Eichenbaum a donc conçu un paradigme chez le rat permettant de tester la mémoire épisodique constituée de séquences uniques de stimuli olfactifs (Fortin *et al.*, 2002, 2004). A chaque essai, les rats sont soumis à cinq odeurs et quelques minutes plus tard, l'animal doit choisir entre deux coupelles odorisées présentées plus tôt, nécessitant donc que les rats mémorisent l'intégralité de la séquence. Les auteurs montrent que les rats sont capables de reconnaître l'odeur la plus ancienne et c'est d'autant plus facile quand les odeurs sont suffisamment éloignées l'une de l'autre dans la séquence (Fortin *et al.*, 2002, 2004). Ces mêmes auteurs montrent par la suite que les rats sont capables de se souvenir de l'ordre de présentation de différentes odeurs délivrées à différents endroits (Figure 28; Ergorul & Eichenbaum, 2004). Dans cette étude, une succession d'odeurs présentées dans des coupelles remplies de sable qui sont associées à une récompense et localisées en différents points d'une arène expérimentale. La phase de test utilise trois configurations différentes : les rats sont confrontés soit à deux paires odeurs-places présentes dans la séquence initiale (Question « Quoi – Où »), soit à des coupelles non odorisées mais à des places utilisées lors de la séquence (Question « Où »), soit à deux coupelles odorisées mais au même endroit (Question « Quoi »). Dans chaque cas, les animaux sont capables de retrouver la position de la coupelle (**Où**) contenant l'odeur (**Quoi**) présentée le plus tôt (**Quand**) dans la séquence, et ce avec plus de facilité pour des items distants dans la séquence que pour des items adjacents (Ergorul & Eichenbaum, 2004).



**Figure 28 : Paradigme expérimental utilisé par Ergorul et coll. sur les rongeurs**

Les rats sont soumis à une séquence d'odeurs présentées à des localisations différentes dans l'arène (Sample phase : A+, B+, C+ et D+). Lors de la phase de test (Test phase), trois configurations sont possibles : test du « Quoi – Où » (Standard), test du « Quoi » (Odor Probe) et test du « Où » (Spatial Probe). Extrait de Ergorul *et al.* 2004.

Fouquet et coll. ont développé une nouvelle tâche de mémoire épisodique reposant sur la navigation dans un labyrinthe aquatique en étoile afin d'évaluer les capacités des animaux à apprendre et à se rappeler d'une séquence spatiale selon une navigation égocentrique dans un ordre temporel donné afin d'aboutir à une localisation donnée (Figure 29; Fouquet *et al.*, 2010). Toujours en partant du même endroit dans le labyrinthe, l'animal doit retrouver la localisation de la plate-forme qui ne change pas de place. L'animal peut soit utiliser les indices spatiaux de l'environnement pour trouver la plate-forme, soit se rappeler quel mouvement (tourner à droite ou à gauche) doit être fait (**Quoi**), à quel intersection dans le labyrinthe (**Où**) et quand il doit être fait selon l'ordre de la séquence (**Quand**) afin d'aboutir à la localisation de la plate-forme. Lors du test de rappel, le départ change mais pas la localisation de la plate-forme dans le labyrinthe. La stratégie adoptée par les animaux pour retrouver la localisation de la plate-forme permet de déduire si l'animal utilise une stratégie allocentrique ou séquentielle égocentrique et ainsi savoir si l'animal utilise de la mémoire épisodique pour y parvenir.



**Figure 29 : Paradigme expérimental utilisé par Fouquet et coll. sur les rongeurs**

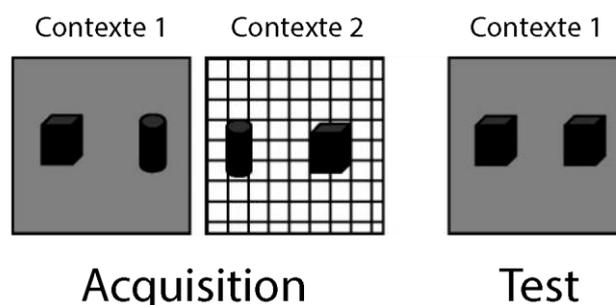
Les rats doivent retrouver la plate-forme cachée (Goal) dans un labyrinthe aquatique en forme d'étoile. Si l'animal utilise une stratégie allocentrique, il se souvient uniquement de l'emplacement spatial de la plate-forme (« Quoi – Où ») alors que si l'animal utilise une stratégie séquentielle égocentrique, il se souvient quel mouvement faire (Quoi), à quel intersection (Où) et dans quel ordre (Quand). Extrait de Fouquet *et al.* 2010.

Les études reposant sur des séquences d'événements montrent que les rongeurs sont capables d'extraire une information temporelle dans une séquence et de la combiner avec les informations relatives à la nature de l'élément « Quoi » et à sa position dans l'espace pour produire une réponse adaptée.

L'ensemble de ces données a amené à s'interroger sur la capacité réelle de l'animal à encoder et à restituer la composante « Quand » d'une information épisodique et à questionner l'importance même de cette composante dans cette forme de mémoire. Chez l'Homme, il est très difficile de se souvenir quand un événement particulier a eu lieu. Par exemple, il est difficile de se souvenir de la date exacte du congrès des Neurosciences Françaises qui a eu lieu à Lyon. Néanmoins, il est possible de se souvenir que nous y sommes allés l'année où

nous avons obtenu une ANR, qu'il faisait beau mais que ce n'était pas encore l'été et que le congrès a eu lieu après que nous soyons partis un long week-end en Corse car il y avait des jours fériés. Il est alors possible de déduire que le congrès a eu lieu à la fin du mois de Mai 2013. S'il est donc difficile de dater précisément le souvenir, il est pourtant possible de le resituer dans le temps à partir du contexte dans lequel il s'est déroulé. Cette observation a amené l'équipe de Eacott et coll. à proposer un nouveau paradigme de mémoire épisodique dans lequel l'aspect temporel est remplacé par l'aspect contextuel : « Quoi, Où, Dans quel contexte » (voir pour revue Easton & Eacott, 2008; Eacott & Easton, 2010).

En utilisant la capacité naturelle des rongeurs à explorer préférentiellement les éléments nouveaux de leur environnement, Eacott et coll. montrent que les rats sont capables d'utiliser l'information contextuelle pour discriminer des événements uniques (Figure 30; Eacott & Norman, 2004). Dans cette tâche, les rats explorent d'abord librement une arène contenant des paires d'objets différents à des localisations précises selon le contexte de cette arène. Des paires différentes d'objets sont présentées dans différents contextes d'enceinte (grise ou blanche). Deux à 120 minutes après la phase d'acquisition, les rats sont testés dans le contexte gris avec un objet appartenant à ce contexte placé à la même localisation et un autre objet appartenant à l'autre contexte. Les auteurs montrent que les rats explorent plus l'objet inconnu dans ce contexte (Eacott & Norman, 2004), c'est-à-dire que les rats sont capables de se souvenir de l'objet (**Quoi**), s'il se situe à la bonne place dans l'arène (**Où**) en fonction du contexte (**Dans quel contexte**). Néanmoins, les auteurs montrent qu'au-delà de 60 minutes après la phase d'acquisition, les rats ne font plus la distinction entre les deux objets (Eacott & Norman, 2004).



**Figure 30 : Paradigme expérimental utilisé par Eacott & Norman sur les rongeurs**

Lors de la phase d'acquisition, les rats explorent une arène dans le contexte 1 (gris) contenant deux objets à des localisations spécifiques. Puis les rats explorent l'arène dans le contexte 2 (blanc et noir) contenant les deux objets mais à des localisations différentes dans l'arène. A différents délais après la phase d'acquisition, les rats sont testés dans le contexte 1 mais cette fois-ci avec un objet de chaque contexte dont un objet appartenant au contexte 1 placé à la bonne place et un autre objet qui est donc nouveau dans ce contexte. D'après Eacott & Norman 2004.

Ces données soulèvent une limitation importante de l'ensemble des études réalisées chez l'animal qui est la durée de stockage d'un souvenir de type épisodique. Les études réalisées

chez le rongeur montrent un délai de rétention qui ne dépasse pas quelques heures (Babb & Crystal, 2005, 2006a, 2006b; Naqshbandi *et al.*, 2007; Zhou & Crystal, 2009, 2011) voire quelques minutes (Fortin *et al.*, 2002, 2004; Eacott & Norman, 2004; Dere *et al.*, 2005a, 2006; Kart-Teke *et al.*, 2006; voir pour revue Easton & Eacott, 2010), à l'exception de quelques études qui ont testé la mémoire épisodique après un délai de 24 heures (Babb & Crystal, 2006b; Roberts *et al.*, 2008; Fellini & Morellini, 2013). Bien que le temps de 24 heures représente un délai de rétention à long terme, cette durée est très peu comparable au délai de stockage des souvenirs épisodiques chez l'Homme qui peut être de plusieurs années (souvenirs d'enfance par exemple) et qui est une caractéristique très importante de cette mémoire. Une autre limitation des études chez le rongeur est le nombre de répétitions nécessaires à l'acquisition de la tâche épisodique. En effet, la plupart des études de mémoire épisodique chez le rongeur fait intervenir un apprentissage long et nécessite de nombreuses répétitions, jusqu'à 80 jours d'apprentissage et une centaine d'essais dans certaines tâches (Babb & Crystal, 2005, 2006a; Naqshbandi *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2008; Zhou & Crystal, 2009, 2011), à l'exception des tâches utilisant la reconnaissance d'objets (Eacott & Norman, 2004; Dere *et al.*, 2005a; Eacott *et al.*, 2005; Kart-Teke *et al.*, 2006). Or, une autre des caractéristiques majeures de la mémoire épisodique est que nous sommes capables de nous souvenir à très long terme d'un événement, qui ne peut pas être anticipé, et ce malgré un seul épisode de vie.

En résumé, l'ensemble des études réalisées chez l'animal en laboratoire (oiseaux et rongeurs) montre qu'ils sont capables de former expérimentalement des souvenirs de type épisodique « Quoi – Où – Quand/Dans quel contexte » et ce dans différentes situations. Néanmoins deux caractéristiques très importantes de la mémoire épisodique chez l'Homme ne sont pas modélisées de façon satisfaisante dans les tâches développées à ce jour chez l'animal : le stockage à très long terme du souvenir et ce après une expérience unique (voir pour revue Pause *et al.*, 2013).

## Objectifs

---

# Mémoire épisodique et neurogenèse

Comme nous l'avons résumé dans l'introduction, l'implication de la neurogenèse adulte hippocampique dans les processus mnésiques a été maintes fois démontrée dans des tâches de mémoire dépendante de l'hippocampe. Néanmoins, le rôle de la neurogenèse adulte n'a jamais été exploré dans le cadre de la mémoire la plus complexe en termes d'intégration de différents éléments, la mémoire épisodique. Plusieurs tâches de mémoire épisodique ont été développées chez le rongeur mais celles-ci ne permettent pas de modéliser de façon satisfaisante l'ensemble des caractéristiques de la mémoire épisodique chez l'Homme, notamment le stockage à très long terme d'un souvenir épisodique et ce après une expérience unique. La première partie du travail de recherche présentée dans ce manuscrit s'est intéressé à l'étude de l'implication de la neurogenèse adulte hippocampique dans la mémoire épisodique. Il s'est articulé autour de deux objectifs :

1/ Développer en collaboration avec l'équipe « Olfaction : du codage à la mémoire » du Centre de recherche en Neurosciences de Lyon et valider une nouvelle tâche de mémoire épisodique chez le rongeur reposant sur les composantes « Quoi – Où – Dans quel contexte » qui répond aux caractéristiques de la définition chez l'Homme : stockage du souvenir à très long terme après exposition limitée à des épisodes spécifiques, possibilité de tester l'utilisation du souvenir de façon flexible pour répondre à une situation proche mais différente de celle de l'exposition initiale, et possibilité de caractériser des profils de rappel de composantes de la mémoire épisodique chez chaque animal.

2/ Etudier les mécanismes qui sous-tendent la mise en mémoire d'un souvenir épisodique et notamment le rôle fonctionnel de l'hippocampe dans le rappel en mémoire épisodique ainsi que les réseaux neuronaux activés lors du rappel mais surtout l'implication de la neurogenèse adulte hippocampique dans la consolidation et le rappel de souvenirs épisodiques en utilisant un modèle de blocage de la neurogenèse adulte par irradiation focale de l'hippocampe.



# Résultats

---

## Rôle de la neurogenèse adulte hippocampique dans la mémoire épisodique chez le rongeur

### I. Une nouvelle tâche de mémoire épisodique

Comme mentionné dans le chapitre 4, plusieurs types de tâches ont été développés pour explorer les capacités de mémoire épisodique chez les rongeurs. Ces études montrent qu'ils sont capables de former des souvenirs de type épisodique à partir des composantes « Quoi – Où – Quand/Dans quel contexte ». Cependant, la plupart des tâches ne permettent pas de tester dans la même situation certaines des principales caractéristiques de la mémoire épisodique telles qu'elles sont définies chez l'Homme, en particulier la capacité de se souvenir d'événements vécus une seule fois, de pouvoir conserver une mémoire intégrée à très long terme et de pouvoir l'utiliser d'une façon flexible. En effet, la plupart des tâches utilisent un apprentissage relativement long pour que les animaux se souviennent des informations épisodiques, même à court terme. Le rappel en mémoire épisodique chez les rongeurs n'a d'ailleurs pas été testé au-delà de quelques heures, à l'exception de quelques études réalisées chez la souris et le rat, qui testent le rappel à 24h (Babb & Crystal, 2006b; Roberts *et al.*, 2008; Fellini & Morellini, 2013). Par ailleurs, il n'existe pas de consensus sur la validité de la composante « Quand » de la mémoire épisodique. Si certains auteurs suggèrent que les animaux sont capables, dans certaines conditions, de se souvenir à quel moment un événement a eu lieu, d'autres montrent que les animaux utilisent plus le temps qui s'est écoulé ou des informations relatives à leur position dans une séquence temporelle. Pour toutes ces raisons et parce que les arguments sur l'importance de la dimension contextuelle dans cette mémoire développés par Eacott et coll. nous semblent pertinents (voir pour revue Eacott & Easton, 2010), nous avons développé avec l'équipe « Olfaction : du codage à la mémoire » du Centre de recherche en Neurosciences de Lyon une tâche de mémoire épisodique complètement nouvelle chez le rat reposant sur les composantes « Quoi – Où – Dans quel contexte » en essayant d'y intégrer les caractéristiques qui permettent de s'approcher au plus près de la mémoire épisodique humaine. Le principe général de la tâche est de faire vivre des épisodes à des rats durant lesquels ils vont spontanément et librement associer des odeurs renforcées positivement ou négativement, présentées à des

emplacements différents dans une enceinte dont le contexte sera variable en fonction de l'épisode. Cette tâche a d'ailleurs été développée à Lyon en parallèle chez l'Homme (Saive et al., 2013, 2014b).

## A. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental, appelé EpisodiCage, créé à Lyon (Belkacem Messaoudi) est constitué d'une enceinte rectangulaire de dimension 65 x 35 x 40 cm contenant 4 ports qui peuvent délivrer jusqu'à 5 odeurs différentes après détection, par des capteurs, de la présence du museau du rat dans un des ports (Figure 1). Suite à la détection du museau du rat et de la présentation ou non d'une odeur, une pipette située en dessous du port entre transitoirement dans l'enceinte. Les pipettes délivrent soit de l'eau, soit une solution sucrée à 6%, soit de l'eau contenant de la quinine à 0,06% (Figure 1). Un essai est défini par la visite d'un port à odeur et l'obtention d'une boisson. Dans cette tâche le rat explore librement l'enceinte et déclenche le port à odeurs de son choix. Les pipettes (une par port) possèdent des capteurs permettant de mesurer le nombre de coups de langue effectués par l'animal qui reflètera son intérêt pour la boisson délivrée. Tous les paramètres de l'EpisodiCage sont contrôlables par l'expérimentateur. Il est donc possible de choisir le temps de présentation de l'odeur, de la pipette, mais également la latence entre la détection du museau du rat dans le port et le moment où l'odeur puis la pipette sont présentées. Le dispositif est également constitué de deux haut-parleurs permettant de diffuser des sons ainsi que d'un vidéoprojecteur afin de projeter des images sur le sol de l'arène (Figure 1). De plus, le sol est interchangeable pour en modifier la texture. L'ensemble de ces éléments modifiables permet de créer différents contextes (sons, textures du sol, image, luminosité) en fonction de l'épisode (Figure 1).

Dans un premier temps, les animaux sont placés en restriction hydrique et soumis successivement à une phase d'**habituation** à l'expérimentateur, puis à l'EpisodiCage dans un contexte neutre et à son fonctionnement durant environ 2 semaines à raison de 20 à 30 minutes par jour. Durant cette phase (« *shaping apparatus* »), les rats s'habituent à explorer librement l'enceinte, mettre leur museau dans les ports à odeurs, attendre 3 secondes avant que la pipette soit présentée pour obtenir la boisson (20 essais par jour ; Figures 1 et 2). Les rats sont ensuite soumis à une phase d'habituation aux odeurs (« *shaping odors* ») pendant 4 jours (24 essais par jour, 20 minutes par jour) durant laquelle les 4 ports à odeur de l'arène délivrent les 2 mêmes odeurs (Géraniol et Eugénol) associées soit à de l'eau sucrée, boisson appréciée par les rats, soit à l'eau contenant de la quinine, boisson amère que les rats évitent spontanément. Durant cette phase, les rats apprennent que dans cette enceinte, des odeurs, qui ne seront plus utilisées par la suite, peuvent être associées soit à de l'eau sucrée, soit à de l'eau contenant de la quinine. Après cette phase, les rats sont soumis à des séances dites

de **routine** (3 jours, 1 séance de 20 essais par jour, 15 minutes par jour) durant lesquelles ils sont placés dans l'ÉpisiCage sans contexte particulier, sans odeur et avec uniquement de l'eau accessible sur les 4 ports. Cette phase permet de rendre l'exploration de la cage routinière avant les épisodes et de contrôler l'absence de préférence des rats pour un port, ou de révéler des dysfonctionnements de distribution d'odeurs ou de boissons. C'est dans la phase suivante que les rats vont faire l'expérience des **épisodes** à proprement parler (Figure 2). Durant l'acquisition, dans l'épisode 1 (E1), les rats sont mis en présence du contexte 1 (Grillons, sol noir à triangles noirs ; Figure 2) dans lequel uniquement les ports 2 et 3 sont ouverts et délivrent soit une odeur A soit une odeur B (24 essais, 20 à 30 minutes ; Figure 2). L'odeur A est associée à l'eau sucrée uniquement sur le port 2, alors qu'elle est associée à la quinine sur le port 3 (Figure 2). L'odeur B est associée à la quinine sur les 2 ports. Les rats, s'ils veulent obtenir du sucre et éviter la quinine, associent donc l'odeur A (**Quoi**) au port 2 (**Où**) avec le contexte 1 (**Dans quel contexte**). Dans l'épisode 2 (E2), les rats sont mis en présence du contexte 2 (24 essais maximum, 20 à 30 minutes ; Figure 2) dans lequel cette fois les ports 1 et 4 sont ouverts et délivrent soit une odeur C, soit une odeur D différentes des précédentes (Figure 2). L'odeur C est associée à l'eau sucrée uniquement sur le port 4 alors qu'elle est associée à la quinine sur le port 1 (Figure 2). L'odeur D est associée à la quinine sur les deux ports (Figure 2). Les rats associent cette fois l'odeur C (**Quoi**) au port 4 (**Où**) avec le contexte 2 (**Dans quel contexte**). Entre chaque jour de présentation des épisodes, les rats sont soumis à des séances de routine pour renforcer la saillance des épisodes (Figure 2).

Après une ou deux présentations de ces deux épisodes à 48 heures d'intervalle, les rats sont soumis à un test de rappel dans le contexte E2 (12 essais maximum, 10 minutes), 24 heures ou 24 jours après la dernière présentation de E2 (Figure 2) afin d'évaluer le type d'informations épisodiques que les rats ont gardé en mémoire. Durant les tests, les pipettes délivrent uniquement de l'eau afin que les coups de langue reflètent ce qu'ils s'attendent à trouver sur le port à odeur en question et donc ce qu'ils ont mémorisé. Deux types de tests présentant des niveaux de difficultés différents ont été utilisés. Le premier test dit « test à 2 ports » consiste à replacer les rats dans l'exacte configuration du contexte E2, c'est-à-dire avec uniquement les ports 1 et 4 ouverts et les odeurs C et D associées au contexte E2 (Figure 2). Le second test dit « test à 4 ports » est plus complexe puisqu'il consiste à replacer les rats dans le contexte E2 avec à la fois les 2 ports et odeurs de E2 et ceux de E1 (Figure 2). Ce test permet de savoir si l'animal a mémorisé le contexte et de créer une situation d'interférence par rapport à la situation d'encodage qui permet d'évaluer la force et la résolution de l'association épisodique mémorisée. Les analyses lors de l'acquisition et lors du test de rappel sont effectuées à partir du nombre de visites sur chaque port et du nombre de coups de langue sur chaque configuration (P+O+, P+O-, P-O+, P-O-), normalisés pour chaque rat sur la totalité des essais. Lors du test à 4 ports, sont prises en compte les réponses associées au contexte testé (« *In context* », IC) et celles associées au contexte non

testé (« *Out of context* », OC). Les résultats sont moyennés pour un groupe expérimental donné ou bien classés selon des profils de réponses en fonction de ce dont le rat se souvient de l'épisode (Tables 1 et 2). Les résultats durant les séances de routine sont aussi exploités afin de vérifier que les rats ne présentent pas de préférence pour un port avant la présentation des épisodes.

## B. Les rats sont capables de former des souvenirs épisodiques à très long terme

Des groupes indépendants de rats ont été soumis à une ou deux présentations des épisodes E1 et E2, puis à un test de rappel à 2 ports, 24 heures ou 24 jours après la dernière présentation de l'épisode E2 (Figure 2).

Après une seule présentation des épisodes (Figure 2A), les performances lors du test de rappel à 2 ports, 24 heures après les épisodes, montrent que les rats boivent plus sur la configuration correspondant au bon port et à la bonne odeur du contexte E2 testé (P+O+), mais de façon non significative pour l'ensemble du groupe (Figure 3B). Néanmoins, l'analyse des performances individuelles montre une forte variabilité (Figure 3C et Table 1). L'analyse des profils des réponses individuelles a révélé que 1/3 des rats présentent des réponses de types « Quoi – Où » liées au contexte (« *What – Where* »). Les autres rats présentent soit un profil « Quoi » (14% ; « *What* »), c'est-à-dire qu'ils se souviennent uniquement de la bonne odeur, soit un profil de type « Où » (43% ; « *Where* »), c'est-à-dire qu'ils se souviennent uniquement du bon port, soit un profil de réponse indéterminé (14% ; « *Indeterminate* ») c'est à dire sans lien avec le bon port ou la bonne odeur.

Après deux présentations des épisodes (Figure 2D), les performances lors du test de rappel à 2 ports à 24 heures montrent que les rats boivent significativement plus sur la configuration correspondante au bon port et à la bonne odeur P+O+ (Figure 3E). Dans cette condition expérimentale, la totalité des rats présentent un profil de type « Quoi – Où » (« *What-Where* » ; Figure 3F et Table 1) correspondant au contexte E2, c'est-à-dire que tous des rats sont capables de se rappeler de l'ensemble des informations de l'épisode. De plus, les rats soumis à un test de rappel à 2 ports, 24 jours après la présentation des épisodes, boivent également significativement plus sur la bonne configuration P+O+ (Figure 3H). L'analyse des performances individuelles montre qu'à très long terme, 62% des rats sont toujours capables de présenter un profil de type « Quoi – Où » correspondant au contexte E2 (« *What – Where* » ; Figure 3I).

Ces données indiquent que lorsque les rats sont confrontés à des épisodes uniques et relativement brefs, 1/3 d'entre eux sont capables de se souvenir à long terme d'une information « Quoi – Où – Dans quel contexte » et qu'une seconde présentation de ces

épisodes est suffisante pour que la totalité des rats se souviennent des informations épisodiques à long terme (24 heures) et une grande majorité d'entre eux à très long terme (24 jours) après la présentation des épisodes.

### C. Rappel des épisodes dans une situation interférente

Dans de nombreuses circonstances de la vie courante, la situation de rappel d'un souvenir n'est pas totalement identique à la situation d'encodage et nous sommes néanmoins capables de nous souvenir d'un épisode particulier même si ce dernier partage des éléments communs à ceux vécus dans un contexte proche. Il nous arrive par exemple d'aller dîner dans le même restaurant avec différentes personnes dans différents contextes, sans pour autant confondre ces différents souvenirs. Nous avons voulu tester cette interférence sur les souvenirs en utilisant le test à 4 ports. Ce test de rappel, parce qu'il est complexe, était aussi un moyen d'évaluer la force et la précision du souvenir épisodique. Dans ce test effectué 24 heures après les deux présentations des épisodes, le contexte E2 est présenté mais les 4 ports sont ouverts (ceux de E2 et de E1) et les 2 couples d'odeurs correspondant respectivement aux contextes de E2 et de E1 sont proposés. Dans ce cas, nous cherchons à savoir si les performances des rats vont être orientées vers l'association odeur – place associée au contexte E2 (IC) tout en ignorant l'association odeur – place associée au contexte E1 (OC). L'analyse des profils individuels des rats lors de ce test montre que 50% des rats présentent un profil de type « Quoi – Où – Dans quel contexte » (« *What – Where – In which context* » ; WWIC ; Figure 4A et Table 2), c'est-à-dire qu'ils se souviennent de l'ensemble des informations liées spécifiquement à l'épisode E2. Les autres rats montrent des profils de réponses liées au rappel d'une partie des informations du contexte E2 (« *Where* » ou « *What* ») ou des informations liées au contexte E1 (« *What – Where* » ou « *Where* »).

Ces données indiquent que dans cette tâche la majorité des rats sont capables de former une mémoire épisodique robuste et de l'utiliser de façon flexible pour faire face à une situation de rappel interférente, élément clé de la mémoire épisodique chez l'Homme permettant de dissocier différentes expériences proches du passé.

### D. Réseau neuronal impliqué dans le rappel épisodique

L'hippocampe est une structure essentielle pour la formation d'une mémoire épisodique chez l'Homme et l'animal. Nous avons donc évalué si l'inhibition transitoire de l'hippocampe par injection intracérébrale bilatérale de muscimol 40 minutes avant le test perturbe le rappel de l'information épisodique. Nous avons testé l'implication de l'hippocampe dans le test de rappel à 2 ports après deux présentations des épisodes. Alors que les rats contrôle boivent plus sur le bon port avec la bonne odeur (P+O+), les rats dont l'hippocampe a été inactivé boivent plus

sur le bon port mais sans tenir compte de l'odeur qui lui est associée (Figure 5A), indiquant une altération du rappel de l'association « Quoi – Où » liée au contexte. Néanmoins, lors du test, la composante « Où » n'est pas affectée par l'inactivation de l'hippocampe puisque les rats traités par le muscimol continuent de plus visiter le bon port (Figure 5), indiquant que la composante de place dans ce test est robuste puisqu'elle est la première information à prendre en compte lorsque le rat est replacé dans un contexte donné et ce avant même de prendre une décision sur l'odeur présentée. Ces données montrent par contre que le rappel d'un souvenir intégré de l'épisode dans notre tâche nécessite l'intégrité de l'hippocampe.

Nous avons ensuite recherché les régions cérébrales activées lors du rappel de l'épisode en utilisant l'analyse de l'expression des IEGs *c-Fos* et *Zif268*, 90 minutes après le test de rappel. Les animaux exposés aux épisodes et testés sont comparés à des animaux contrôle qui sont exposés à l'ensemble de la phase de l'habituation, suivie des séances de routine uniquement. Les résultats montrent une augmentation du nombre de neurones exprimant *c-Fos* dans les parties dorsale (Figure 6B) et ventrale (Figure 6C) de différentes régions de l'hippocampe (en particulier l'aire CA1 et le GD), associée à une augmentation dans différentes aires du cortex orbitofrontal (Figure 6E) et du cortex préfrontal (Figure 6F). Concernant l'expression de *Zif268*, les analyses montrent une augmentation dans les mêmes aires hippocampiques et corticales (Figure 6H, I et L), excepté pour les régions du cortex orbitofrontal dans lesquelles l'expression de *Zif268* n'est globalement pas augmentée (Figure 6K). Par ailleurs, nous n'observons pas d'augmentation de l'expression de *Zif268* ou de *c-Fos* dans le cortex périrhinal, suggérant que les performances à ce test ne reposent principalement pas sur un processus de familiarité. Ces données indiquent que le rappel d'une mémoire épisodique à long terme recrute un réseau distribué impliquant plusieurs aires de l'hippocampe et du cortex préfrontal, suggérant un dialogue possible entre ces deux régions cérébrales.

Après l'analyse de l'activation de différentes régions cérébrales, nous avons recherché d'éventuelles corrélations entre les performances sur la bonne configuration (Licks index sur P+O+) et l'activation (*c-Fos* et *Zif268*) des différentes aires cérébrales analysées. Cette analyse montre qu'il existe une corrélation positive entre l'expression de *c-Fos* dans le GD de l'hippocampe dorsal, celle dans le cortex cingulaire antérieur et les performances de rappel épisodique (Figure 7A et B). En effet, plus un rat est performant dans le rappel de l'association épisodique, plus ces deux aires cérébrales sont activées. Par ailleurs, l'analyse de co-activation et de corrélation avec les performances montre que plus l'activation conjointe du GD et du cortex cingulaire antérieur est forte et plus les performances des rats sont bonnes (Figure 7C). Ces données suggèrent que le niveau de co-activation de ces aires de l'hippocampe et du cortex préfrontal lors du rappel est lié à la précision du rappel de la mémoire épisodique.

En résumé, nous avons développé une nouvelle tâche de mémoire épisodique reposant sur la définition « Quoi – Où – Dans quel contexte » dans laquelle des rats forment une mémoire épisodique robuste, flexible à très long terme suite à une présentation limitée des épisodes. Par ailleurs, nous montrons que le rappel de cette mémoire requiert l'hippocampe et recrute un réseau neuronal distribué incluant l'hippocampe et le cortex préfrontal dont l'activation conjointe est corrélée à la qualité de la performance de rappel épisodique.

## II. Article 1 : « Memory of occasional events in rats : Individual episodic memory profiles, flexibility, and neural substrate »



# Memory of Occasional Events in Rats: Individual Episodic Memory Profiles, Flexibility, and Neural Substrate

Alexandra Veyrac,<sup>1,2,3</sup> Marina Allernborn,<sup>3\*</sup> Alexandra Gros,<sup>1,2\*</sup> Frederic Michon,<sup>3</sup> Louise Raguét,<sup>3</sup> Jana Kenney,<sup>3</sup> Florette Godinot,<sup>3</sup> Marc Thevenet,<sup>3</sup> Samuel Garcia,<sup>3</sup> Belkacem Messaoudi,<sup>3</sup> Serge Laroche,<sup>1,2,†</sup> and Nadine Ravel<sup>3,†</sup>

<sup>1</sup>Centre National de la Recherche Scientifique, Centre de Neurosciences Paris-Sud, <sup>2</sup>Université Paris-Sud, Unité Mixte de Recherche 8195, F-91405 Orsay, France, <sup>3</sup>Unité Mixte de Recherche 5292, Centre National de la Recherche Scientifique, Institute national de la santé et de la recherche médicale U1028, University Lyon 1, Lyon Neuroscience Research Center, F-69366 Lyon, France

In search for the mechanisms underlying complex forms of human memory, such as episodic recollection, a primary challenge is to develop adequate animal models amenable to neurobiological investigation. Here, we proposed a novel framework and paradigm that provides means to quantitatively evaluate the ability of rats to form and recollect a combined knowledge of what happened, where it happened, and when or in which context it happened (referred to as episodic-like memory) after a few specific episodes in situations as close as possible to a paradigm we recently developed to study episodic memory in humans. In this task, rats have to remember two odor–drink associations (what happened) encountered in distinct locations (where it happened) within two different multisensory enriched environments (in which context/occasion it happened), each characterized by a particular combination of odors and places. By analyzing licking behavior on each drinking port, we characterized quantitatively individual recollection profiles and showed that rats are able to incidentally form and recollect an accurate, long-term integrated episodic-like memory that can last  $\geq 24$  d after limited exposure to the episodes. Placing rats in a contextually challenging recollection situation at recall reveals the ability for flexible use of episodic memory as described in humans. We further report that reversible inactivation of the dorsal hippocampus during recall disrupts the animal's capacity to recollect the complete episodic memory. Cellular imaging of c-Fos and Zif268 brain activation reveals that episodic memory recollection recruits a specific, distributed network of hippocampal-prefrontal cortex structures that correlates with the accuracy of the integrated recollection performance.

**Key words:** episodic-like memory; hippocampus; olfactory memory; prefrontal cortex; recollection; rodent

## Introduction

In humans, episodic memory is characterized as the conscious recollection of unique personal past experiences, often occurring singly during daily life, including what happened, where the event happened, and when it happened (Tulving, 1972). Later refined

by introducing autonoetic awareness (remembering personal experiences with the awareness of reliving the events; Tulving, 2002), the initial concept stimulated the development of new tasks to probe episodic memory in animals, an essential condition to advance our understanding of the neurobiological mechanisms underlying episodic memory and associated disorders.

The first evidence for “episodic-like memory” in animals was provided by Clayton and Dickinson (1998) reporting that scrub jays were naturally expressing this type of memory during food-caching behavior, since they were able to remember where and when they cached a particular type of food (what). This pioneer study inspired the design of behavioral tasks to probe episodic-like memory in rodents (Zhou and Crystal, 2011; Fellini and Morellini, 2013). These studies confirmed that rodents can form an integrated memory for what-where-when in certain experimental situations; however, the temporal component of memory and the efficient way to assess it in animal models still remain an open debate (Suddendorf and Corballis, 2007). In most studies, however, the when component is addressed in a way that is indissociable from where or what information, and therefore might more reflect differences in memory strength for what was seen where, than strictly the temporal component of episodic memory (Easton and Eacott, 2008, 2010; Eacott and Easton, 2010; Temple and Hampton, 2013). One alternative is to consider that the

Received Sept. 16, 2014; revised March 2, 2015; accepted April 6, 2015.

Author contributions: A.V., B.M., S.L., and N.R. designed research; A.V., M.A., A.G., F.M., L.R., J.K., F.G., and N.R. performed research; A.V., M.A., A.G., F.M., L.R., J.K., F.G., M.T., S.G., B.M., and N.R. analyzed data; A.V., S.L., and N.R. wrote the paper.

This work was supported by Centre National de la Recherche Scientifique, University Lyon 1, University Paris-Sud 11, and by grants from the Agence Nationale de la Recherche (ANR-2010-BLAN-1413-01) to N.R. and S.L. (postdoctoral fellowship to A.V. and J.K.), and by the Laboratoire d'Excellence Cortex (ANR-11-LABX-0042) within the program Investissements d'Avenir (ANR-11-IDEX-0007; postdoctoral fellowship to A.V.). M.A. and A.G. were supported by doctoral fellowships from the French Ministry of Research. We are grateful to F. Esclassan, B. Poucet, V. Hok, and E. Save for helpful discussions; to D. Meunier for his help in correlation analyses; and to O. Ben-hellal, F. Lhericel, C. Dubois, and P. Veyrac for animal care.

The authors declare no competing financial interests.

\*M.A. and A.G. contributed equally to this work.

†S.L. and N.R. contributed equally to this work.

Correspondence should be addressed to either of the following: Dr. Nadine Ravel, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS UMR 5292-INSERM U1028-Université Lyon 1, Equipe Olfaction du codage à la mémoire, 69366 Lyon cedex, France. E-mail: nadine.ravel@cnrs.fr; or Dr. Serge Laroche, Centre de Neurosciences Paris-Sud (CNPS), CNRS UMR 8195, Université Paris Sud, Bat. 446, 91405 Orsay cedex, France. E-mail: serge.laroche@u-psud.fr.

A. Veyrac's present address: Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS UMR 5292-INSERM U1028-Université Lyon 1, Equipe Olfaction du codage à la mémoire, 69366 Lyon cedex, France.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.3941-14.2015

Copyright © 2015 the authors 0270-6474/15/337575-12\$15.00/0

when component of episodic memory is represented more by the capacity to order events than by precisely dating them (Ergorul and Eichenbaum, 2004). These experiments, however, require that animals be extensively trained before they can extract a rule and become able to order events. Moreover, to perform this time reconstruction, humans most often use event-related information or contextual elements: “The last time I went to Paris, I visited my friend in her new house and we talked in the garden until midnight, so it must have been in summer.” Thus, as proposed by others (Eacott et al., 2005; Easton and Eacott, 2008), replacing “when” with “in which occasion/context” represents an efficient way to test episodic memory, as we recently showed in a novel episodic memory paradigm in humans (Saive et al., 2013, 2014).

Based on this, we designed a paradigm allowing precise evaluation of the ability of rodents to form long-term integrated episodic memory in a manner as close as possible to humans in terms of informational content, limited occasional encounters of episodes, and the capacity for flexible use of this memory in a challenging environment. With this original protocol, we found that rats can form a long-term episodic-like memory and remember that, during their daily life, in a given multisensory-enriched environment (in which context), a particular odor (what) at a specific location (where) signals something pleasant or unpleasant to drink. We provided the first characterization and categorization of individual profiles of episodic memory recollection in rats, showing how strikingly individual successes/errors compare with human episodic memory recollection, and show that rats can form a long-term episodic memory lasting  $\geq 24$  d. We confirmed that hippocampal inactivation impairs episodic memory recollection and found by mapping c-Fos and Zif268 immediate early gene activation that episodic-like memory recruits a large, distributed hippocampal-prefrontal cortex (PFC) network that correlates with the accuracy of long-term episodic memory recollection.

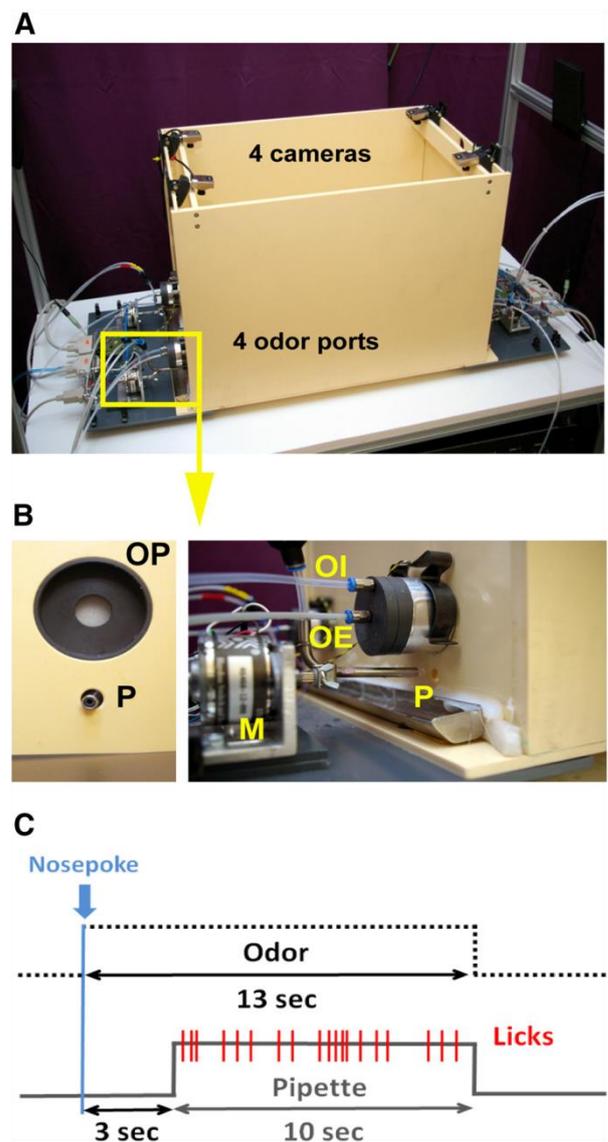
## Materials and Methods

### Animals

Experiments were performed in accordance with European Directive 86/609/EEC regarding the care and use of laboratory animals. Adult male Long-Evans rats (Charles River Laboratories; 7 weeks old, 300–350 g at the start of the experiment;  $n = 65$  for the whole study) were housed in a temperature-controlled and humidity-controlled colony room in groups of 2–4 during the shaping procedure. They were exposed to a 12 h light/dark cycle (light onset, 6:00 A.M.) and experiments were conducted during the light period (between 9:00 A.M. and 5:00 P.M.). Food was available *ad libitum* but access to water was progressively restricted (20–40 min in the experimental cage and 40 additional minutes in home cages at 6:00 P.M.). Rats were weighed weekly to control their adaptation to hydric restriction.

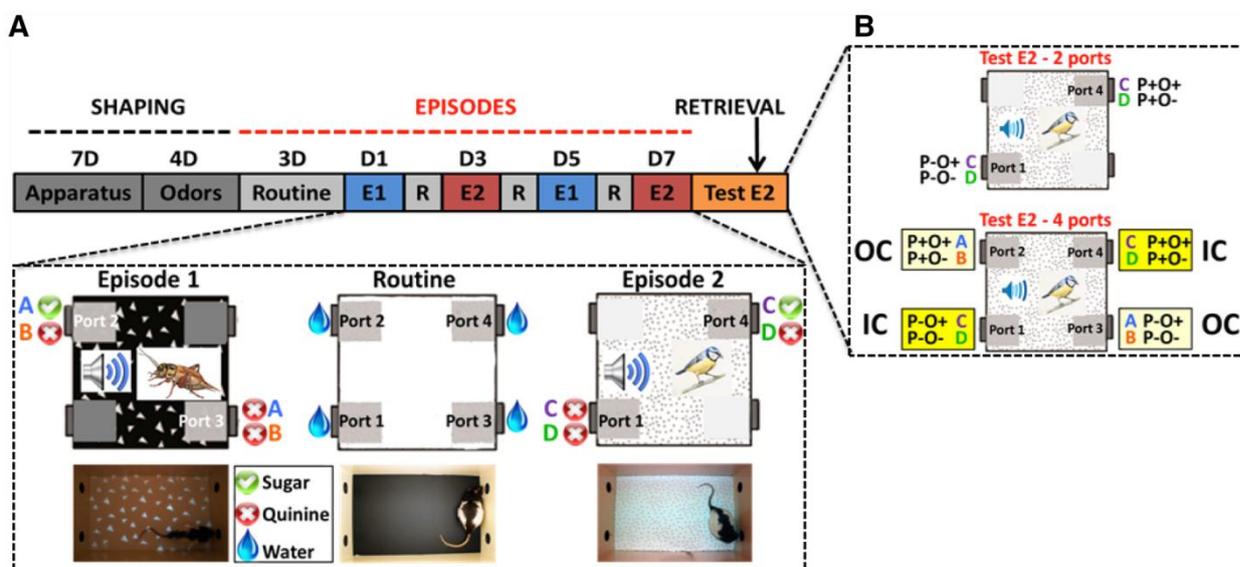
### Apparatus: the Episodicage

The experimental arena (Fig. 1A), the Episodicage (designed by Belkacem Messaoudi), consisted of a rectangular polyvinyl chloride box ( $60 \times 35 \times 40$  cm) with devices allowing delivery of various odors and drinking solutions. Two walls of the arena were each equipped with two odor ports (Fig. 1B). Deodorized air constantly flowed through the odor ports. Detection of a rat nose poke by a capacitance system triggered odor delivery through a custom-designed olfactometer. A vacuum system ensured that the odor remained confined to the port. A hole in the wall, 1 cm below each odor port, allowed introduction or withdrawal of a drinking pipette. Each lick to a pipette was detected by another capacitance system to trigger a pump that delivered a calibrated volume of solution (Fig. 1C). The whole device configuration ensured that the odor stimulation was delivered through the port during the entire liquid consumption, allow-



**Figure 1.** The Episodicage: an experimental device to study episodic-like memory in rats. **A**, **B**, The Episodicage is a rectangular chamber with four odor ports (OP), each associated with a drinking pipette (P). Detection of rat's nose poke triggers odor delivery (OI, odor injection; OE, odor extraction) and introduction/withdrawal of the pipette by a motor (M). Rat behavior is tracked by four cameras above the odor ports and one central camera above the arena. The appearance of Episodicage could be modified by placing floors with different tactile characteristics, introducing various objects, using a video projector to project visual patterns on different versions of the floor, and diffusing environmental sounds via loudspeakers. **C**, A nose poke initiates the trial and the onset of the odor. After a delay, the pipette protrudes into the cage for a fixed amount of time. During this period, each lick to the pipette is detected and triggers a pump for delivery of drinking solutions during odor stimulation. The offset of the odor corresponds to the pipette withdrawal. After a given intertrial interval, the rat can activate the system again by a nose poke and a new trial is initiated.

ing perfect coupling between the odor and the consumed solution. Each odor port was controlled by a computer that fixed various parameters: the quality, intensity, and duration of the olfactory stimulation, as well as the delay between odor delivery onset and availability of the pipette. This system recorded the number of licks detected on any pipette for a given visit and reconstructed their temporal distribution (Fig. 1C). The standard arena floor could be replaced to introduce materials differing from their tactile characteristics. Various objects could also be placed in the



**Figure 2.** Time line of the episodic-like memory paradigm. **A**, First, 11 daily sessions of shaping were used to train the animal to the introduction of the pipette by making a nose poke into any of the four odor ports and drink after a delay (apparatus, 7 d) and to receive odor stimulation associated with sugar or quinine solution from the pipette (odors, 4 d). All trials were systematically initiated by the rats during a 20 min/d session. Rats then underwent three daily routine sessions (Routine, lower box, middle configuration) with no odor, no enriched context, and only water available from the four ports. Episode exposures consisted of two distinct episodes [lower box: left, Episode 1 (E1) configuration; right, Episode 2 (E2) configuration] with a 1 d routine (R) session in between. Episodes were presented once or twice (as illustrated here) in independent groups of rats. They were each characterized by a unique combination of odor–place–context associations rewarded with sugar solution (green labels; odor A at port 2 for E1; odor C at port 4 for E2) while the three other incorrect odor–place associations were associated with quinine (red crosses). During this episodic session, in a given context (“in which context”), rats encoded at which port location (“where”), one of the odors (“what”) was associated with sugar solution. **B**, During the retrieval test 24 h or 24 d after the last episode session, rats were placed again in the E2 context to evaluate what type of information they were able to recollect (P+O+ : correct place, correct odor; P+O− : correct place, incorrect odor; P−O+ : incorrect place, correct odor; P−O− : incorrect place, incorrect odor). The two-port test completely matched the episode, except that only water was delivered whatever place–odor configuration was experienced. The challenging four-port test was a more complex situation since it took place in the E2 context (IC) and 2 with context E1 (OC), each port associated with the pair of odors corresponding to its respective episode. For each port visit, the number of licks was expressed for each rat as a licks index and was used for analyzing encoding and recollection performance.

arena. The appearance of the arena during the episodes was also modified by using a video projector that projected visual patterns on the different versions of the floor (Fig. 2A). Two loudspeakers symmetrically placed above the experimental arena were used to provide different sound environments during the episodes. The rats’ behavior was monitored by five cameras: one placed centrally above the arena and four others above the four different odor ports (Fig. 1A). The video signals were acquired throughout each session. A video tracking software (Volcan, designed by Marc Thevenet) was used to detect on-line the position of the animal and trigger the camera corresponding to the activated port.

**Behavioral procedure**

*Shaping*

Shaping consisted of two different steps achieved in an average of 11 daily sessions lasting 20 min at maximum (Fig. 2). The objective of step 1 (apparatus shaping; 7 d) was to initiate the animal to the introduction of the pipette by making a nose poke deep into any of the four odor ports and to drink water. On the first day, water-deprived animals were allowed to explore the arena. Pipettes from all ports were already introduced into the arena and delivered water upon licking. During the next 3 d, animals learned to trigger the pipette entry into the arena via a nose poke in the odor port. The pipette was delivered immediately after a nose poke and remained available for drinking for 20 s (progressively reduced to 10 s), after which it was withdrawn and the rat could then initiate the next trial after a refractory period of 16 s. The following 3 d, a 2 s delay was introduced between the nose poke and pipette entry.

In step 2 (odor shaping; 4 d), rats were habituated to receive odor stimulation associated with sugar or quinine solution from the pipette. Two different odors, geraniol and eugenol (Sigma-Aldrich) were released upon nose poke for 10 s from each of the four odor ports and were associated with quinine (0.06%) or sugar (6%). Each daily session was identical and the odor of geraniol or eugenol was introduced at the four

odor ports in a pseudorandom manner so that each animal was exposed to the same amount of both odors. The delay between a nose poke and pipette delivery was then increased (3 s) to maintain the attention to the odor after the nose poke. This step was terminated when  $\geq 15$  trials in 20 min were performed. The aim was to give the animals a hint that a given odor might be an indicator for finding a sweet or avoiding a bitter drinking solution, which otherwise could not be predicted.

*Episodic-like memory task*

*Routine sessions.* During the 3 following days, before episode exposures, water-deprived rats spent 15 min/d (or  $\geq 12$  trials) in the Episodicage. The appearance of the arena was exactly the same as during the shaping period (Fig. 2A). Neither visual nor auditory enrichment of the context was used during routines and the floor was the standard one (black and smooth). The four ports were accessible to nose poke. However, no odors were released and pipettes delivered water for 10 s. The aim of routine sessions was to enhance the salience of the following episodes and to control for an evenly distributed port-visiting behavior of the rats before episode exposures.

*Episode exposures.* Two different episodes, Episode 1 (E1) and Episode 2 (E2), were used and presented to the rats separated by 1 d of routine session. Episode sessions were presented once or repeated once in independent groups of rats, depending on the experiment (see below). Each episode was characterized by enriched contextual information consisting of distinct flooring, specific visual patterns projected on the floor, and distinct natural sounds diffused during each episode session (Fig. 2A). Visually, we favored highly contrasted black and white patterns. The environmental sounds were selected for their broad sensory information content. The capacity of rats to hear and discriminate these sounds was validated by analyzing dominant frequency and amplitude modulation on spectrograms. In each episode, a nonoverlapping configuration of only two ports was accessible, each of them releasing two different odors

unique to each episode (i.e., odors A and B in E1 at ports 2 and 3 and odors C and D in E2 at ports 1 and 4; Fig. 2A). For a given episode, one of the two ports only delivered sugar or quinine depending on the odor triggered in the port, while the other port delivered quinine solution regardless of the odor that was triggered following a nose poke. Thus, each episode was characterized by one unique combination of odor–place–context association positively rewarded by sugar solution (P+O+: correct place, correct odor, i.e., odor A at port 2 in context used for E1 and odor C at port 4 in context used for E2; Fig. 2A, green label), while the three other odor–place associations were associated with quinine (P+O–: correct place, incorrect odor; P–O+: incorrect place, correct odor; P–O–: incorrect place, incorrect odor; Fig. 2A, red cross). The odors used, carvone (odor A) and isoamyl acetate (odor B) for E1 and anethol (odor C) and citral (odor D) for E2, were chosen according to data obtained in previous experiments. Each pair was easy to discriminate and both pairs of odors were spontaneously equally explored at the selected concentration. Each episode session included 24 trials combined in a pseudorandom sequence including six repetitions (three in the first 12 and three in the following 12 spontaneous trials) of four different configurations (i.e., P+O+ vs P–O+; P+O+ vs P–O–; P+O– vs P–O–; P+O– vs P–O+). For each session, the time assigned to the exploration during the episode was  $\geq 20$  min and limited to 40 min, and the minimum number of trials was 12. During this session, in a given enriched context (“in which context” information), rats encoded at which port (“where” information) which of the odors (“what” information) was associated with sugar solution.

**Retrieval test.** A test session was performed 24 h after the last episode exposure to evaluate what type of information the rats were able to recollect (Fig. 2B). During the test (12 trials), rats were replaced in the E2 context. Two versions of the test that differed in their levels of difficulty were carried out. The two-port test (Fig. 2B, top) was the easiest because the test situation matched completely the episode in terms of context, available ports, and odors, except that only water was delivered regardless of the place and odor. The four-port test (Fig. 2B, bottom) was more complex since it took place in the E2 context, but for the first time the four ports were accessible [those used during E2: in context (IC); those corresponding to E1: out of context (OC)] and the two odors from both previous episodes were simultaneously present and available from their respective ports. Again, at test, only water was delivered upon nose pokes. To test memory at a much longer training-to-retention interval, a further group of rats was trained and performance in the two-port retrieval test was examined 24 d after the last exposure to E2.

### Behavioral analysis

We quantified the number of visits on each port for each experimental configuration, including routine sessions, and expressed it as a ratio of the total number of trials in a given session. During exposure to the episodes, this ratio was used to estimate how often each odor–place combination was experienced. For each port visit, the number of licks was normalized for each rat to the total number of licks in a given session to normalize individual licking behavior differences. This value was referred to as the licks index and was used for the analysis of performance. During routines, this variable was used to verify that intake was similar from any of the four pipettes. During exposure to the episodes, it served to evaluate behavioral discrimination between P+O+ and the other three odor–place associations (P+O–; P–O+; P–O–). During the retrieval test, the licks index allowed us to evaluate precisely what the rats expected in a given configuration and therefore what type of information encoded during the episode they were able to recall. In the two-port test, we compared the licks index for the four odor–place configurations with expected licks index values for archetype profiles of rats (Table 1). If the licks index for P+O+ was higher than that of the three other configurations (close to an archetype rat with 1.0 for P+O+, 0 for P+O–, 0 for P–O+, 0 for P–O–), we concluded that the animal was able to recall a combination of “what” and “where” information (WW profile) in a given context (close to the archetype 0.5 for P+O+, 0.5 for P+O–, 0 for P–O+, 0 for P–O–). If this index was different for P+ configurations compared with P– but without any difference between P+O+ and P+O–, we concluded that only the “where” information was recalled

**Table 1. Examples of licks index values and corresponding individual recall profiles in the two-port test**

Presentation	Individual profiles	Percentage rats	Licks index per configuration			
			P+O+	P+O–	P–O+	P–O–
One episode presentation	What–where <sup>a</sup>	29%	0.92	0.07	0	0.01
	Where <sup>b</sup>	43%	0.58	0.42	0	0
	What <sup>c</sup>	14%	0.48	0.19	0.26	0.07
	Indeterminate <sup>d</sup>	14%	0.04	0.41	0.55	0
Two episode presentations	What–where <sup>a</sup>	100%	0.98	0.01	0.01	0

<sup>a</sup>Profile with more licks in P+O+ of the tested context.

<sup>b</sup>Profile with similar licks in P+O+ and P+O–.

<sup>c</sup>Profile with similar licks in P+O+ and P–O+.

<sup>d</sup>Atypical profile.

(Where profile). Symmetrically, a significantly higher licks index for O+ compared with O– (0.5 for P+O+, 0 for P+O–, 0.5 for P–O+, 0 for P–O–) regardless of the port where it has been delivered signified retrieval of “what” information (What profile). Similar licks index for each configuration indicated that no information was retrieved (indeterminate behavior; 0.25 for P+O+, 0.25 for P+O–, 0.25 for P–O+, 0.25 for P–O–). In the four-port test (Table 2), the number of possible configurations was increased since in a given context it was possible for the rat to activate the ports corresponding to the tested context (IC) or those associated to the other context, used as distractors (OC). In that case, we first determined whether the licks index was superior for the ports of the tested context or for the distractor context. This meant that the animal was able to retrieve the association between the ports and the context and animals were classified as IC, while those for which the licks index was superior for the distractor context were classified as OC. Then, the same analysis as above for the two-port test was used to categorize the recall profile of each animal. As an example, an animal licking only on the P+O+ associated to the tested context was considered as retrieving the overall information presented during exposure to the episode sessions and was classified as what–where–IC. With this classification, we determined the proportion of each profile in the group.

Licks index data were averaged across animals within each experimental group and are presented as means  $\pm$  SEM. Statistical comparisons between configurations were conducted by the nonparametric Friedman test followed by a Wilcoxon test. Data comparisons from independent groups were assessed by nonparametric Mann–Whitney and Kruskal–Wallis tests. Significance level was set at  $p < 0.05$ .

### Surgery and hippocampal inactivation procedures

A few days after shaping, rats ( $n = 17$ ) were anesthetized (equithesin: mixture of 29.6 mg/kg pentobarbital and 141.3 mg/kg chloral hydrate for induction, supplemented by 8.9 mg/kg and 42.4 mg/kg, respectively) and a specific procedure was applied to ensure proper analgesia (local anesthetic agents combined to nonsteroidal anti-inflammatory drugs). Using standard stereotaxic procedures, guide microtubes (diameter, 23 gauge; length, 12 mm; Phymep) were bilaterally implanted 500  $\mu$ m above the CA1 pyramidal layer of the dorsal hippocampus (3.6 mm posterior to bregma; 2.0 mm lateral; 2.0 mm ventral to dura). Guide tubes were fixed to the skull with dental cement and two anchoring screws. After surgery a removable stainless steel stylet was inserted into the tube, protruding from the tube by 1 mm to prevent obstruction and infection. Rats were placed individually in home cages for a 2 week recovery period with *ad libitum* food and water, during which the stylets were removed, disinfected, and replaced every 2 d to habituate the animals to this manipulation. Rats were then randomly assigned to three experimental groups. A first group ( $n = 7$ ) received bilateral injections of the GABA<sub>A</sub> receptor agonist muscimol, dissolved in artificial CSF (aCSF; 0.5  $\mu$ g/L). A second group received aCSF only ( $n = 5$ ) and the third group was implanted but not injected ( $n = 5$ ). For microinjection, the stylets were removed and injection needles (diameter, 30 gauge) were inserted into the guide tubes with the needle tip protruding  $\sim 1$  mm beyond the guide extremity. The needle was connected to a 10  $\mu$ l Hamilton syringe and 0.5  $\mu$ l per site of

**Table 2. Examples of licks index values and corresponding individual recall profiles in the four-port test**

Individual profiles	Percentage rats	Licks index per configuration							
		IC				OC			
		P+O+	P+O−	P−O+	P−O−	P+O+	P+O−	P−O+	P−O−
What–where–IC <sup>a</sup>	50%	0.70	0.07	0	0	0.23	0	0	0
Where–IC <sup>b</sup>	20%	0.41	0.40	0	0	0.19	0	0	0
What–IC <sup>c</sup>	10%	0.36	0.10	0.33	0	0.21	0	0	0
What–where–OC <sup>d</sup>	10%	0	0.05	0	0	0.95	0	0	0
Where–OC <sup>e</sup>	10%	0.17	0	0	0	0.33	0.32	0.18	0

<sup>a</sup>Profile with more licks in P+O+ IC.<sup>b</sup>Profile with similar licks in P+O+ and P+O− IC.<sup>c</sup>Profile with similar licks in P+O+ and P−O+ IC.<sup>d</sup>Profile with more licks in P+O+ OC.<sup>e</sup>Profile with similar licks in P+O+ and P+O− OC.

muscimol or aCSF were infused bilaterally in 30 s. The needles were left in place for 2 min after the injection. Animals underwent the behavioral test 40 min later. Rats of the noninjected group were constrained for 4 min, similarly to the other rats during the injections.

At the end of the experiment, rats were injected with a lethal dose of pentobarbital and brains were removed and postfixed in 10% formaldehyde solution for 2 weeks. They were then cryoprotected by immersion in a 25% sucrose solution. Guide tube placement was determined by serial coronal sections (40  $\mu$ m thick) cut with a freezing microtome ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) and stained with cresyl violet. Behavioral data were analyzed only from rats with correct cannula placement.

### Immunocytochemistry and cellular imaging

To evaluate c-Fos and Zif268 expression in brain areas specifically related to episodic-like memory, control rats were submitted to the same experimental protocol as episodic rats (Fig. 2), including shaping phases, except that they were exposed to routine sessions instead of episode sessions both during encoding and retrieval. Routine and episodic rats were deeply anesthetized with pentobarbital (200 mg/kg, i.p.) and perfused transcardially with a solution containing 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, 90 min after completion of the two-port recall test or a routine session (Fig. 2). While basal levels of Zif268 and c-Fos are sensitive to environmental events and novelty, behavioral procedures for episodic and routine rats on the test day matched as closely as possible those used during encoding and any environmental changes between testing and killing of animals was avoided. After perfusion, brains were removed and fixed overnight in the same perfusion solution at  $4^{\circ}\text{C}$ , immersed for 6 d in phosphate buffer containing 30% sucrose, and frozen in chilled 2-methylbutane ( $-30^{\circ}\text{C}$ ). Coronal sections (14  $\mu$ m thick) were cut on a cryostat (Microm) from the olfactory bulb to the posterior part of the hippocampus (bregma 7.56 to  $-6.48$  mm).

Brain sections were preincubated in Target Retrieval Solution (Dako) for 20 min at  $95^{\circ}\text{C}$ . After cooling for 20 min, sections were treated with 0.5% Triton in PBS for 30 min and then endogenous peroxidases were blocked with a solution of 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  in 0.1 M PBS. Sections were then incubated for 90 min in 7.5% normal serum (Jackson ImmunoResearch), 2% BSA (Sigma-Aldrich), and 0.1% Triton X-100 to block nonspecific binding, and incubated overnight at  $25^{\circ}\text{C}$  in Zif268-specific (1:1000) or c-Fos-specific (1:3000) primary rabbit polyclonal antibodies (Santa Cruz Biotechnology). Sections were then incubated in a goat biotinylated anti-rabbit secondary antibody (1:200; Vector Laboratories) for 2 h at room temperature and processed with avidin-biotin-peroxidase complex (1:200; ABC Elite Kit, Vector Laboratories) for 30 min. Finally, peroxidase detection was conducted with 3,3'-diaminobenzidine-tetrahydrochloride (0.06%; Sigma-Aldrich) as chromogen with nickel (0.03%  $\text{NiCl}_2$ ) and  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0.06%) to obtain black immunolabeling. Sections were dehydrated in graded ethanols and coverslipped in Eukitt (Sigma-Aldrich).

Quantitative imaging analyses of c-Fos and Zif268 were conducted with a mapping software (Mercator Pro, Explora Nova) coupled to an optical microscope (Olympus) as previously described (Lesburguères et al., 2011; Veyrac et al., 2013). Cell counts were performed at  $20\times$  mag-

nification and conducted by an experimenter blind to the experimental condition. Brain structures were anatomically defined according to the Paxinos and Watson atlas (see Fig. 6A). The numbers of c-Fos-positive and Zif268-positive nuclei were quantified in the following areas: medial, ventral, lateral, and dorsolateral parts of the orbital cortex (MO, VO, LO, DLO, respectively); prelimbic, infralimbic, anterior piriform, posterior piriform, anterior cingulate (aCC), medial cingulate (mCC), perirhinal, and lateral entorhinal cortices; and subfield CA1, subfield CA3, and dentate gyrus (DG) of the dorsal (dCA1, dCA3, dDG) and ventral hippocampus (vCA1, vCA3, vDG). Counting frames were placed in standardized manner based on predefined anatomic landmarks on sections (e.g., shape of cortex or of adjacent corpus callosum). c-Fos-positive and Zif268-positive neurons were counted in the entire quantification field and cell densities (number of c-Fos-positive and Zif268-positive nuclei per  $\mu\text{m}^2$ ) for each brain region were averaged for each experimental group.

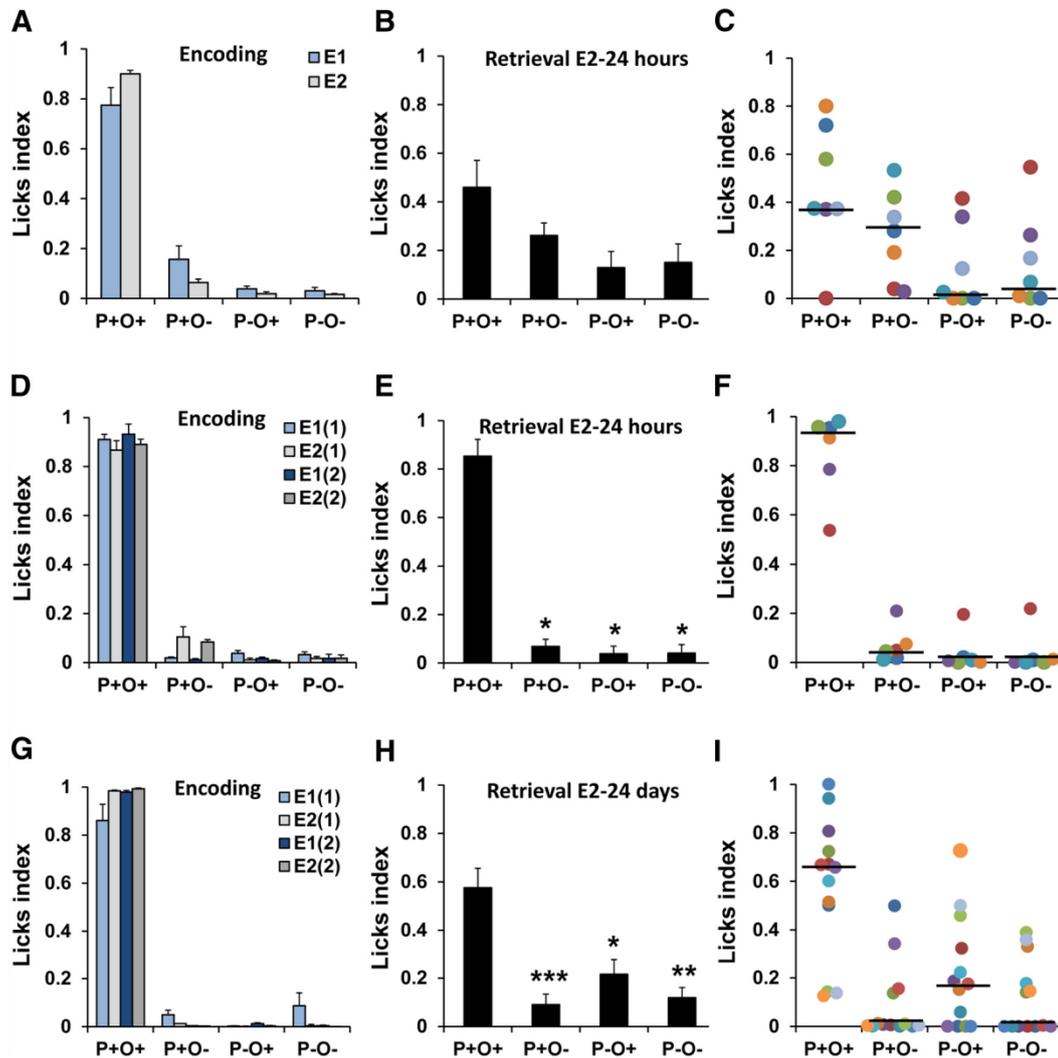
Results were expressed as means  $\pm$  SEM. Since equality of variance (*F* test) and normality of distribution (Shapiro–Wilk) were validated for all data, between-group parametric comparisons were performed by bilateral *t* test. Only effects with a *p* value  $< 0.05$  were considered as significant. Parametric Pearson's *r* correlation coefficients were used to detect correlations between the density of c-Fos-positive or Zif268-positive nuclei and the licks index for P+O+ during the recall test. Pearson's *r* correlation matrices were used to reveal cross-correlations between densities of c-Fos-positive and Zif268-positive nuclei in different brain areas.

## Results

### Rats can form a long-term episodic-like memory of briefly encountered events

The principle of the task was to briefly confront rats to two contextually distinct episodes in an otherwise familiar arena, named Episodicage (Figs. 1, 2). During each episode, defined by a specific multisensory contextual appearance of the arena, a nose poke in one defined port can deliver a specific odor upon which licking provides a positive reinforcement (Fig. 2). On this same port, a nose poke can trigger another odor, but one associated with a negative reinforcement (quinine) upon licking, which the rat should avoid doing. In the same context, the same two odors can be delivered on another port, but there both odors are negatively reinforced. Different odors and active port locations were attached to each contextually distinct episode. In the experimental phase, while rats were performing routine sessions in a relatively poor contextual environment in which no odors or reinforcement were delivered and all ports could provide water, we introduced on separate days two episodes, E1 and E2, containing distinct odor–place–context information.

To closely match the conditions we used in parallel to investigate human episodic memory (Saive et al., 2013, 2014), we first assessed the impact of episode repetition on the strength of



**Figure 3.** Episodic-like memory performance after one or two presentations of the episodes. *A–I*, One (*A–C*) and two (*D–I*) presentations of each episode. Licks index for each odor–place–context association (P+O+ : correct odor, correct place; P+O− : correct port, incorrect odor; P−O+ : incorrect port, correct odor; P−O− : incorrect odor, incorrect port) during encoding of E1 and E2 (*A, D*) and during E2 retrieval at test 24 h (*B, E*) or 24 d later (*G*). *C, F, I*, Individual licks index values during E2 retrieval test (*C, n* = 7; *F, n* = 6; *I, n* = 13). Licks index values for each configuration are color coded for each individual rat. For example, the rat corresponding to the orange circle is classified as able to recall what–where information from the right context, whereas the light blue one is able to recall where information. Group data are expressed as means  $\pm$  SEM in this and subsequent figures. Median is reported as horizontal bar. \* $p$  < 0.05; \*\* $p$  < 0.01; \*\*\* $p$  < 0.005, Friedman test followed by Wilcoxon test.

“what–where–in which context” memory. For this, we compared performance of two independent groups of rats submitted to either one or two presentations of E1 and E2 and tested 24 h later for retention of E2 (Fig. 2*B*). As expected, during E1–E2 exposures, the two groups quickly encoded that in one specific context, in one port (P+) only one odor (O+) was associated with sugar solution delivery: they preferentially licked when they encountered the P+O+ configuration associated with sugar, whereas they avoided quinine in all other configurations (P+O−, P−O+, P−O−; Fig. 3*A*;  $p$  < 0.05 Friedman test for each E1 and E2 sessions), and behaved similarly for the two episodes (Fig. 3*A*; P+O+, E1 vs E2,  $p$  = 0.08, Mann–Whitney test,  $n$  = 7). Similar results were obtained when rats were exposed twice to the episodes (Fig. 3*D*; E1(1)/E2(1)/E1(2)/E2(2) comparison  $p$  = 0.24, Kruskal–Wallis test,  $n$  = 6). During exposure to the episodes, the number of visits on each port during successive E1/E2 episodes increased progressively to P+ and decreased to

P−, suggesting rats progressively shaped their responses toward acquiring the place–context association (data not shown; Friedman test [E1(1),  $p$  = 0.10; E2(1),  $p$  = 0.003; E1(2),  $p$  = 0.016; E2(2),  $p$  = 0.0024]).

The critical test was then to evaluate what the rats were able to recall from their past experience. For this, a single probe test was conducted within the E2 context. However, only water was delivered (Fig. 2*B*, Test E2-2 ports). The licks index on each port represents what rats expect to drink and consequently reflects their episodic-like memory performance. When rats have been exposed to only one presentation of each episode, analysis of performance showed a higher licking rate in the configuration corresponding to the odor–place–context association (Fig. 3*B*). Although the global group performance on P+O+ against the other configurations only showed a trend toward statistical significance ( $p$  = 0.074, Friedman test), analyses of individual performance revealed distinct individual behavioral profiles (Fig.

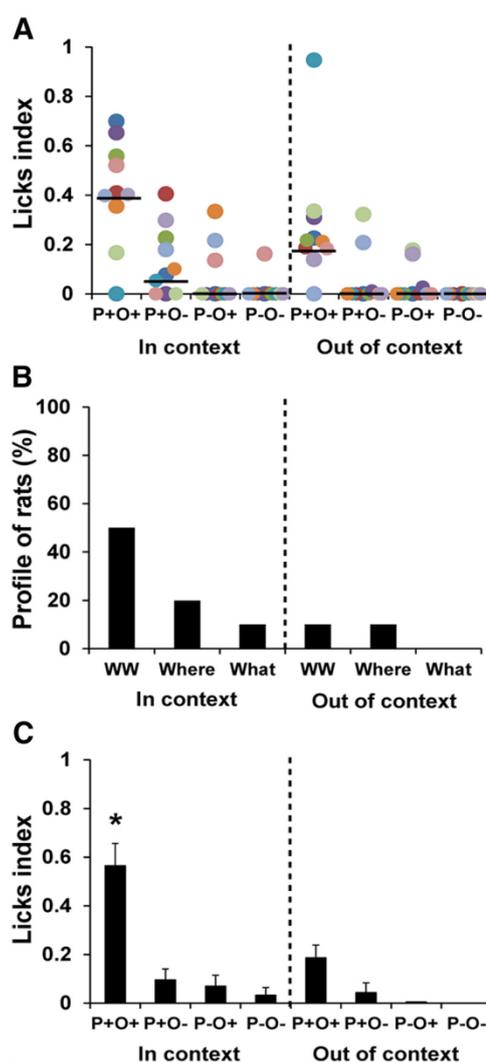
3C) with nearly a third (29%) of the rats presenting “what–where” behavior selective of context E2, the correct integrated episodic-like memory (Table 1). Other individuals were categorized as “where” (43%), “what” (14%), or indeterminate behavior (14%). Further, when rats were exposed twice to each episode, they were clearly all able to remember the entire combination of episodic information (Fig. 3E;  $p = 0.0052$ ; Friedman test; P+O+ vs the other combinations,  $p = 0.027$ , Wilcoxon test), 100% of them exhibiting the correct odor–place–context behavioral profile (Fig. 3F; Table 1). Because rats during encoding were similarly exposed to O+ and O– at P+ (data not shown;  $p = 0.46$ , Wilcoxon test), their memory ability in recollecting the episode cannot be explained by a biased experience for the P+O+ configuration. Statistical comparison of the two experimental groups [one exposure (Fig. 3B) vs two exposures (Fig. 3E)] showed a significant group difference in recall performance ( $p < 0.0001$ ,  $\chi^2$  test;  $p = 0.0152$ , Mann–Whitney test on P+O+). By contrast, performance of “what–where” rats in the two groups (comparison of licks index on P+O+ of the two groups) was not statistically significant ( $p = 0.32$ , Mann–Whitney test), suggesting no qualitative difference in performance in good performers whether they had been exposed once or twice to the two episodes.

These findings indicate that when rats were confronted to the two brief and distinct episodes only once, nearly a third remembered the combined “what–where–in-which-context” information, while two presentations of the two episodes allowed all rats to accurately recollect an integrated memory of the entire episodic information. Notably, the present odor-associated episodic memory paradigm reveals in rats an inherent variability of recollection profiles, which is similar to what we reported in humans (Saive et al., 2013, 2014), offering the possibility to investigate the neural substrate of information each animal was able to recollect.

Next we examined recollection performance at the much longer exposure-to-test interval of 24 d in an independent group of rats after they had been exposed twice to the two different episodes E1 and E2 (Fig. 2). Again, during E1–E2 exposures, rats preferentially licked when they encountered the P+O+ configuration associated with sugar, whereas they avoided quinine in all other configurations (P+O–, P–O+, P–O–; Fig. 3G;  $p < 0.001$ , Friedman test for each E1 and E2 sessions), thus replicating the above results. Twenty-four days after training, 8 of 13 rats (62%) were still able to remember the entire combination of episodic information (Fig. 3H;  $p = 0.001$ , Friedman test; P+O+ vs the other combinations,  $p < 0.02$ , Wilcoxon test), exhibiting the correct odor–place–context behavioral profile (Fig. 3I). Thus, even with relatively limited exposure to two complex episodes, rats are able to form a robust and long-lasting episodic-like memory that they can recall 24 d after exposure to the episodes.

#### Resolution of episodic-like memory recollection in a challenged situation of recall

In many circumstances of daily life, remembering episodes occurs in contexts that are not fully identical to the encoding situation. To test this property and evaluate the strength and resolution of episodic-like memory recollection, we challenged memory retrieval by placing animals in a high-interference situation during recall. After having experienced two presentations of each episode, animals were now tested 24 h later in a four-port E2 test (Fig. 2B, Test E2-4 ports). In this case, rats had to recollect the odor–place association of E2 (IC), while ignoring the odor–place information previously associated with E1 (distracting ports; OC). Analysis of individual recollection profiles showed



**Figure 4.** Episodic-like memory performance in E2 context during the challenging four-port test. **A**, Individual licks index for each configuration IC or OC ( $n = 10$ ). **B**, Distribution of individual behavioral profiles during recollection of the episodic association. Histograms represent What-Where (WW), Where, What profiles IC or OC E2 ( $n = 10$ ). **C**, Licks index of rats expressing a What-Where-IC profile ( $n = 5$  of 10). The results of the P+O+/IC configuration was significantly different from all the other configurations,  $*p < 0.05$ , Friedman test followed by Wilcoxon test.

that memory performance, despite a certain degree of variability, remained reliable and robust, suggesting that rats were able to disambiguate the information on display during recall (Fig. 4A; Table 2,  $n = 10$ ). In fact, 50% of the rats exhibited a what–where–IC profile (Fig. 4B), displaying a significantly higher licks index in P+O+ configuration of the tested context (Fig. 4C; P+O+/IC vs the other combinations,  $p = 0.028$ , Wilcoxon test,  $n = 5$ ). Moreover, 80% of the rats were able to recollect the association between the ports and the contextual cues of the tested episode (Fig. 4B, In context). Among those, the majority (62.5%; what–where–IC) retrieved the whole episode, while a few were only able to recollect the place (25%; where–IC) or the odor (12.5%; what–IC). Thus, a high proportion of animals formed an integrated episodic-like memory that was sufficiently accurate, robust, and flexible to face a highly interfering retrieval situation,

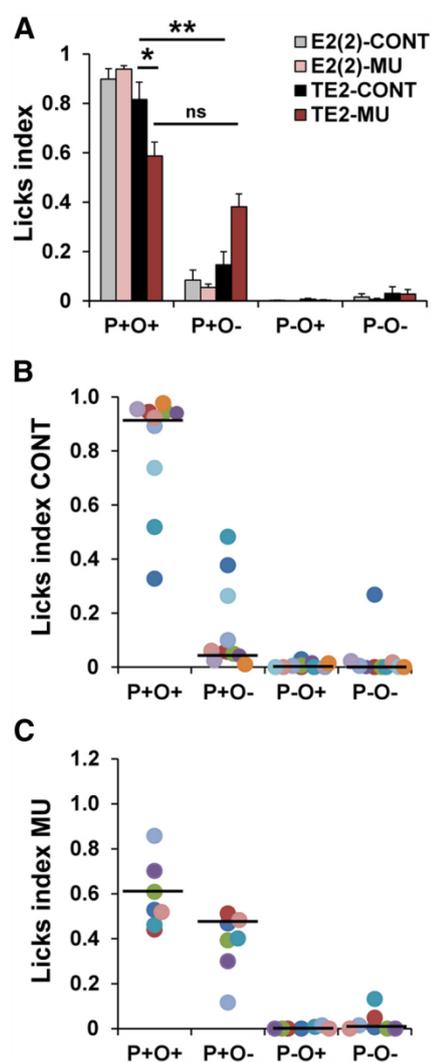
a key feature of human memory to dissociate different personal past experiences.

### Episodic-like memory recall requires an intact hippocampus

The hippocampus is critical for episodic memory in humans (Tulving and Markowitsch, 1998; Eichenbaum et al., 2007) and is also required to encode and recall episodic-like memory in animals (Ergorul and Eichenbaum, 2004; Fortin et al., 2004; Eichenbaum and Fortin, 2005). Thus, we expected that inactivation of the hippocampus during recall would impair recollection of an integrated account of the episodic information in our paradigm. We temporarily inactivated the dorsal hippocampus by infusion of muscimol 40 min before E2 retrieval. Control animals (operated noninjected and aCSF injected) exhibited similar recall performance (data not shown;  $p = 0.73$  Mann–Whitney test) and were therefore pooled. Animals later assigned to the control or muscimol groups similarly exhibited a preference for P+O+ versus the other configurations during the encoding of episode E2 (Fig. 5A; control, CONT,  $p = 0.0001$ ,  $n = 10$ ; muscimol, MU,  $p = 0.002$ ,  $n = 7$ , Friedman test). However, during retrieval, muscimol rats, in contrast to controls, preferentially licked from P+, but regardless of the odor delivered following a nose poke (Fig. 5A; P+O+ vs P+O−, control,  $p = 0.009$ ; muscimol,  $p = 0.091$ , Wilcoxon test; P+O+, control vs muscimol,  $p = 0.025$ , Mann–Whitney test). Thus, while control rats exhibited a What–Where profile corresponding to the right context, muscimol-injected rats were strongly impaired in remembering the integrated odor–place–context association. This was confirmed by analyzing individual performance, which showed no recall of the episodic association in muscimol-injected rats (Fig. 5C) compared with the expected behavioral profile of episodic memory recollection in controls (Fig. 5B). Of note, both control and muscimol rats similarly made more frequent visits to the reinforced port P+ than to the nonreinforced port P− (percentage of visits P+: control,  $87.5 \pm 3.3$ ; muscimol,  $86.9 \pm 4.8$ ; percentage of visits P−: control,  $12.5 \pm 3.34$ ; muscimol,  $13.1 \pm 4.8$ ; P+ vs P−: control,  $p = 0.005$ ; muscimol,  $p = 0.018$ , Wilcoxon test; control vs muscimol on P+:  $p = 0.99$ , Mann–Whitney test), demonstrating that the “where” component of the episodic association is robust, even under hippocampal blockade, a logical consequence of the paradigm as port location is the first information captured before a decision is made to respond or not to the odor. Overall, these results validate the premise that complete recollection of the integrated episodic information in our paradigm strongly depends on hippocampal function.

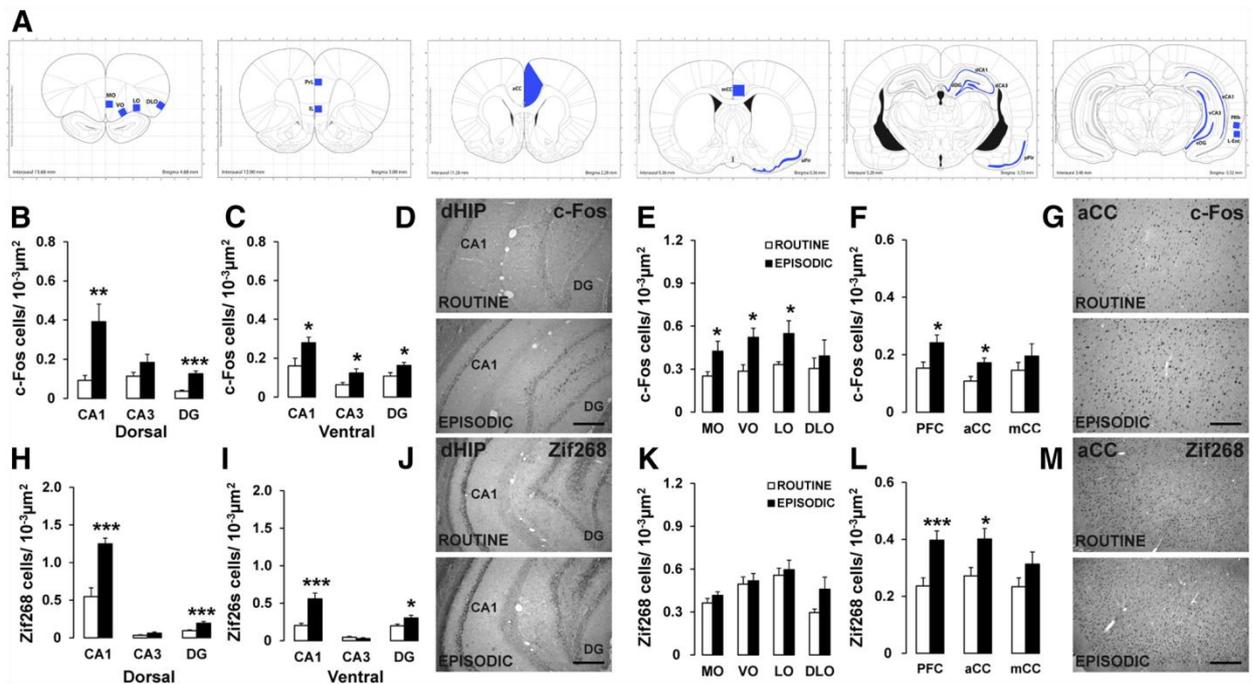
### Recruitment of selective brain areas during recollection of episodic events

To identify brain regions involved in processing episodic-like memory, we used imaging of the expression of the activity-dependent immediate early genes (IEGs), *c-fos* and *zif268*, two markers widely used to map neural ensembles activated by experience and known to be required for synaptic plasticity and long-term memory (Jones et al., 2001; Fleischmann et al., 2003; Veyrac et al., 2013, 2014). IEG expression was investigated 90 min after retrieval in rats exposed to the episodes (episodic rats,  $n = 6$ ) and compared with controls exposed to routine sessions only (routine rats,  $n = 6$ ; Fig. 6). We found significant increases in the number of *c-Fos*-immunoreactive neurons in dorsal (Figs. 6B,D) and ventral (Fig. 6C) areas of the hippocampus associated with a concomitant increase in orbitofrontal cortex (OFC; Fig. 6E), PFC, and aCC (Fig. 6F). *Zif268* expression was also increased in the same areas (Fig. 6H,I,K,L), except in OFC, in which *Zif268*

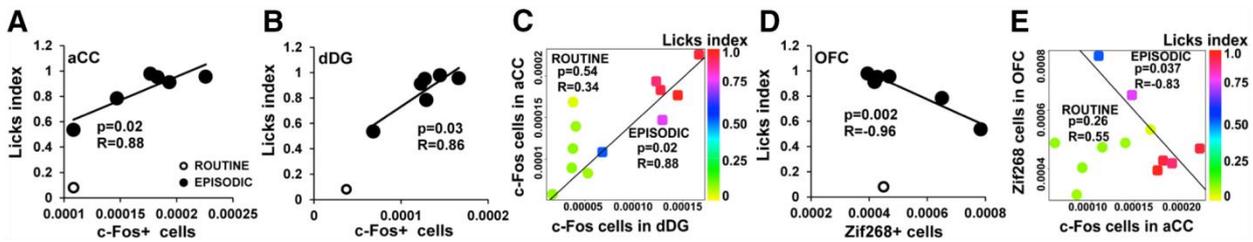


**Figure 5.** Episodic-like memory performance during transient pharmacological inactivation of the dorsal hippocampus. **A**, Licks index for each odor–place–context configuration during encoding of the second session of E2 [E2(2)] and during E2 retrieval test (TE2) in control rats (CONT;  $n = 10$ ) and rats injected with muscimol (MU;  $n = 7$ ) before the retrieval test. **B**, **C**, Individual licks index values of CONT (**B**) and MU (**C**) rats during E2 retrieval test. Medians for each configuration are reported on the graphs. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ . ns, Nonsignificant. Friedman test followed by Wilcoxon test or Mann–Whitney test for comparisons of independent groups.

expression was similar for episodic and routine rats (Fig. 6K). Notably, the absence of observable activation in primary olfactory and lateral entorhinal cortices (piriform cortex: Fos, routine rats,  $0.53 \times 10^{-3}$  cells/ $\mu\text{m}^2$ ; episodic rats,  $0.57 \times 10^{-3}$ ; Zif268, routine rats,  $1.25 \times 10^{-3}$ ; episodic rats,  $1.17 \times 10^{-3}$ ; lateral entorhinal cortex: Fos, routine rats,  $0.25 \times 10^{-3}$  cells/ $\mu\text{m}^2$ ; episodic rats,  $0.23 \times 10^{-3}$ ; Zif268, routine rats,  $0.26 \times 10^{-3}$ ; episodic rats,  $0.28 \times 10^{-3}$ ), suggests that odor processing per se is not a determinant process engaged at recall of the episode, and implies that the OFC participates in retrieval of the integrated memory rather than simply in odor processing. We observed no induction of *c-Fos* or *Zif268* in the perirhinal cortex (data not shown), suggesting that performance in this task is not primarily based on familiarity detection (Brown and Aggleton, 2001). Thus, although brain regions in which recollection-related expression of



**Figure 6.** Recruitment of selective brain areas during recollection of the episodic association. **A**, Schematic drawings of rat brain coronal sections showing the regions of interest (filled areas) selected for counting of IEG-positive nuclei. Distance from bregma is indicated for each coronal section. **B–M**, c-Fos (**B–G**) and Zif268 (**H–M**) cell densities in dorsal (**B, H**) and ventral (**C, I**) hippocampus; medial (MO), ventral (VO), lateral (LO), and dorsolateral (DLO) parts of orbitofrontal (OFC) cortex (**E, K**); and PFC, aCC, mCC (**F, L**). Histograms represent c-Fos and Zif268 cell counts in control (white bars, ROUTINE;  $n = 6$ ) and episode-experienced rats (black bars, EPISODIC;  $n = 6$ ). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.005$ , Student’s  $t$  test. **D, G, J, M**, Photomicrographs showing increased c-Fos and Zif268 expression in episodic rats compared with control rats in dorsal hippocampus (**D, J**) and in aCC (**G, M**). Scale bars: **G, M**, 250  $\mu\text{m}$ ; **D, J, M**, 500  $\mu\text{m}$ .



**Figure 7.** Episodic-like memory performance correlates with the recruitment of prefrontal and hippocampal areas. **A, B, D**, Pearson’s  $r$  correlation between licks index and c-Fos expression in aCC (**A**) and dDG (**B**) and between licks index and Zif268 expression in OFC (**D**). **C**, Pearson’s cross-correlation between c-Fos expression in aCC and dDG and licks index. **E**, Pearson’s cross-correlation between c-Fos expression in aCC and Zif268 expression in OFC and licks index. Control (ROUTINE) rats are represented with circles and episodic rats (EPISODIC) by squares. Right color scales in **C** and **E** indicate licks index level during the E2 recall test for each individual data point. Black line, Regression line for episodic rats.

IEGs were not detected could nevertheless participate in memory processing and recall, these findings reveal a core-distributed neural network recruited during recall of long-term episodic-like memory that involves a dialog between hippocampal and PFC association areas. This neural circuit is highly similar to that identified in human brain imaging studies as a potential network underlying episodic memory recollection (Diana et al., 2007; Daselaar et al., 2008).

**Correlation of brain activation and episodic-like memory performance**

In memory tasks, the behavioral measure used as an index of performance is critical. The present paradigm allows precise quantification of licking behavior in each experimental configuration, a direct operational measure of the ability to recollect the what–where–in–which–context episodic association. The licks index also allows the categorization of individual recollection pro-

files, an ideal situation for investigating correlations between recruitment of selective brain regions (Fig. 6) and accuracy of retrieval performance (Fig. 3F). Among brain regions recruited during memory recollection, significant correlations between c-Fos expression and the memory performance index were selectively obtained in aCC and dDG of the hippocampus (Fig. 7A,B); that is, higher activation of c-Fos in both aCC ( $n = 6$ ,  $r = 0.88$ ,  $F_{(1,4)} = 16.10$ ,  $p = 0.02$ , Pearson’s correlation) and dDG ( $n = 6$ ,  $r = 0.86$ ,  $F_{(1,4)} = 14.22$ ,  $p = 0.03$ ) was commensurate with the most faithful licking performance on P+O+ during retrieval. A further cross-correlation analysis revealed that levels of activation of these two areas were closely related to each other and increased monotonically with performance levels for the correct episodic association ( $n = 6$ ,  $r = 0.88$ ,  $F_{(1,4)} = 13.44$ ,  $p = 0.02$ ; Fig. 7C, squares). No such correlation was found in control rats ( $n = 6$ ,  $r = 0.34$ ,  $F_{(1,4)} = 0.52$ ;  $p = 0.54$ ; Fig. 7C, circles). To control for the specificity of activation of these structures in relation to

episodic-like memory performance, we analyzed in the same way data from routine rats and found no significant correlation (data not shown;  $n = 6$ ; aCC:  $r = -0.71$ ,  $F_{(1,4)} = 3.93$ ,  $p = 0.11$ ; dDG:  $r = -0.15$ ,  $F_{(1,4)} = 0.087$ ,  $p = 0.76$ ). Of note, there was also no significant correlation between c-Fos expression and the total number of licks made by episodic rats during recall, regardless of the configurations, thus excluding the possibility of a bias on correlations due to drinking behavior (data not shown;  $n = 6$ ; aCC:  $r = -0.54$ ,  $F_{(1,4)} = 1.81$ ,  $p = 0.27$ ; dDG:  $r = -0.16$ ,  $F_{(1,4)} = 0.095$ ,  $p = 0.76$ ).

Our analyses additionally revealed a negative correlation between performance of episodic rats and Zif268 expression levels in subareas of the OFC (Fig. 7D;  $n = 6$ ,  $r = -0.96$ ,  $F_{(1,4)} = 48.88$ ,  $p = 0.002$ ), while no such relationship was observed in association with drinking behavior or in routine rats (data not shown;  $n = 6$ ,  $r = 0.40$ ,  $F_{(1,4)} = 0.78$ ,  $p = 0.43$ ;  $r = -0.39$ ,  $F_{(1,4)} = 0.74$ ,  $p = 0.43$ ). Although there was no overall significant increase in Zif268 expression in OFC for the episodic group after recall (Fig. 6K), this nevertheless indicates more OFC Zif268 expression levels in rats that perform less well. This is further illustrated by a negative correlation between OFC Zif268 expression and c-Fos expression in aCC in relation to memory performance (Fig. 7E, EPISODIC, squares:  $n = 6$ ,  $r = -0.83$ ,  $F_{(1,4)} = 9.32$ ,  $p = 0.037$ ; ROUTINE, circles:  $n = 6$ ,  $r = 0.55$ ,  $F_{(1,4)} = 1.69$ ,  $p = 0.26$ ). Collectively, these findings strongly support the idea that the strength of hippocampal-PFC engagement during recall reflects the accuracy of episodic recollection performance during recall.

## Discussion

A primary challenge in the search for the mechanisms underlying complex forms of human memory, such as episodic memory, is to develop adequate animal models amenable to neurobiological investigation. Here, we present an entirely novel paradigm developed in parallel with a task used in humans (Saive et al., 2013, 2014), in which subjects freely explored brief daily episodes composed of different odors at specific locations within distinct visual contexts, to evaluate encoding and recollection of what–where–in-which-context/occasion episodic-like memory in laboratory rats. With this paradigm, we demonstrate that after limited exposure to two different episodes introduced during their daily life, rats, like humans, are able to recollect with individual abilities a unified and robust long-term memory of what happened where on a unique and specific contextual occasion. We confirm that memory recollection in this task requires an intact hippocampus and report that recollection is associated with the recruitment of a specific, distributed hippocampal-PFC network that correlates with the accuracy of memory performance.

The task designed for human participants (Saive et al., 2013, 2014) and the present study in rats present many similarities: each episode was characterized by olfactory stimuli presented in specific spatial locations in a rich environmental context. Episodes were presented on distinct days and during encoding both humans and rats were allowed to freely explore the environment. There were also certain differences, in particular during retrieval: rats, placed in the context of a given episode, must first grasp and process this multidimensional information, then select a place to get odorant information, and then, according to the olfactory stimulus delivered at this place (two different possibilities), to decide to drink or not. This decision indicated whether they remembered the what–where association specific to this context. In the task designed for humans, on each trial an olfactory stimulus was delivered out of the context and participants were asked whether they already had perceived it, and, if yes, then placed it

correctly in the right context. These two retrieval situations differed in the first cue used to trigger episodic recollection: the context in rats and the odor in humans. However, when episodic recollection performance was compared in both tasks in the same condition (one exposure of each episode), the proportion of episodic recollection was  $\sim 30\%$ . Thus, at least in this task, rats and humans shared similar profiles of episodic memory formation and recollection.

Previous studies with rodents addressing the feasibility to assess episodic-like memory using odor cues mainly focused on the ability to remember odor–place sequences (Ergorul and Eichenbaum, 2004). Successful performance provided evidence that rats can combine what/where cues and remember in which order events have been experienced, at least as tested at very short learning-to-retention delays (7 s); however, this paradigm requires rats to learn first an explicit rule by extensive training, which human episodic memory does not require (Tulving, 2002). Here, the way we designed our paradigm allowed minimizing such training effects to more closely match the characteristics of human episodic memory and to engender long-term memory. In that sense, our protocol resembles more certain object-recognition tasks (Eacott et al., 2005), with the determining distinctiveness that we placed emphasis on the ability to separate different components of episodic information the animal can use, an impracticable option in object-recognition tasks. Moreover, in odor–place sequence tasks, sampling odors requires first to go to a given place, and “what” and “where” elements are thus tightly linked. To avoid this, we designed the task so that animals were exposed to the same odor in different places, and to different odors in each place, an important aspect to disambiguate the nature of the recollection information.

Moreover, the present task based on searching for a rewarding drinking solution offers the means to measure recollection accurately and discern the animal’s expectation by directly evaluating what did remain in memory of a given occasionally encountered contextual situation. Further, in contrast to all other episodic-like memory tasks in rodents, this paradigm allows evaluating both long-term and flexible memory in a challenged situation of recall, two main properties of human episodic memory.

One potential compromising factor was the particularly high risk of poor encoding or forgetting, because of the brief exposures and degree of overlap between the two episodes despite the differences in certain contextual information, odors, and locations of the rewarded ports. However, even with a unique exposure of each episode, most rats were able to recollect which place was associated with sugar and nearly a third were able to recollect the combined what–where–in-which-context information. Notably, this inherent degree of variability in the ability of rats to encode or recall the combined settings is strikingly similar to what has been reported in humans, since in an analogous odor–place–context episodic memory task in human subjects the score for a full episodic recollection is 30% on average (Saive et al., 2013, 2014). Crucially, only one repetition of the episodes was sufficient to increase the number of rats that can accurately recollect all relevant information related to the episode 24 h after. Moreover, even 24 d after exposures to the episodes, accurate episodic recollection was still observed in 62% of the animals. This establishes that rats are able to form a robust and long-lasting episodic-like memory. Moreover, when tested in a more challenging situation (four-port test, with distracting odor–port combinations that relate to distinct encoded episodes), 80% of the animals showed correct recollection of the place and context association and 63% of them were able to accurately retrieve all the information con-

tent of the episode. These results confirm that a large proportion of rats had kept a long-term memory of all the elements of the episodes and that, when facing an interfering situation in which elements common to different past episodes are present, they can recall a specific episode on the basis of the context, thus showing their capacity to recall an episodic memory flexibly, a key attribute of episodic memory (Clayton et al., 2003).

It is widely held that the hippocampus is required for recall of episodic memory (Tulving and Markowitsch, 1998; Ergorul and Eichenbaum, 2004; Fortin et al., 2004; Eichenbaum and Fortin, 2005; Eichenbaum et al., 2007). To validate our task, we transiently inactivated the hippocampus during recall and found this indeed prevented recollection of the integrated what–where–in-which-context information. We then explored what brain circuits are engaged when the memory is reactivated during recall. For this, we mapped IEG activation in numerous brain areas after recall and found preferential, coordinated activation of hippocampal and PFC areas that correlated with the accuracy of episodic-like memory recollection across subjects.

Animal studies have to our knowledge never evaluated neural network recruitment in episodic-like memory, and in investigations of other forms of memories, distinct patterns of expression of different IEGs were often observed (Tse et al., 2011; Barbosa et al., 2013), probably because these IEGs have different functions (Davis et al., 2003). *c-Fos* is generally believed to reflect event-induced neuronal activation, while the transcription factor *Zif268* more likely reflects synaptic activation and plasticity mechanisms involved in long-term memory (Jones et al., 2001; Veyrac et al., 2014). Although the precise function of each brain area engaged remains to be elucidated, our imaging data provide evidence for the involvement of a distributed hippocampal-medial PFC network in long-term episodic-like memory and for a role of the hippocampus as a crucial recollection organizing module (Eichenbaum et al., 2007), as previously reported for other types of olfactory associative memories (Lesburguères et al., 2011; Tse et al., 2011). A particular key role of the DG is highlighted, possibly as a key structure involved in pattern-separation function (McHugh et al., 2007; Clelland et al., 2009) related to episodic-like memory (Yassa and Reagh, 2013). Importantly, these brain structures are to a large extent similar to those found by functional MRI to be activated in humans following recall of episodic memory (Diana et al., 2007; Daselaar et al., 2008). Reinforcing the idea that recruitment of this network serves recollection is the finding that specific activation of subareas of this hippocampal-PFC network is predictive of faithful recall of the integrated episodic-like memory.

In conclusion, using this novel paradigm, the present findings provide evidence that rats can form an episodic-like memory with features that satisfy several important criteria attached to human episodic memory in terms of informational content, limited occasional encounter of episodes, encoding and long-term recollection of an integrated what–where–in-which-context information, categorization of individual profiles of recollection, and the capacity for flexible use of this memory. Our results also demonstrate that recall of episodic-like memory recruits a distributed network of hippocampal-PFC structures that correlates with episode recollection performance. This model in conjunction with other neurobiological techniques offers the possibility to investigate genetic, molecular, and neurophysiological mechanisms, and network dynamics that underlie both episodic memory encoding and faithful recollection of specific past events and to further our understanding of the mechanisms that go awry in

models of human conditions associated with episodic memory disorders.

## References

- Barbosa FF, Santos JR, Meurer YS, Macêdo PT, Ferreira LM, Pontes IM, Ribeiro AM, Silva RH (2013) Differential cortical *c-Fos* and *Zif-268* expression after object and spatial memory processing in a standard or episodic-like object recognition task. *Front Behav Neurosci* 7:112. [CrossRef Medline](#)
- Brown MW, Aggleton JP (2001) Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat Rev Neurosci* 2:51–61. [CrossRef Medline](#)
- Clayton NS, Dickinson A (1998) Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature* 395:272–274. [CrossRef Medline](#)
- Clayton NS, Bussey TJ, Dickinson A (2003) Can animals recall the past and plan for the future? *Nat Rev Neurosci* 4:685–691. [CrossRef Medline](#)
- Clelland CD, Choi M, Romberg C, Clemenson GD Jr, Fragniere A, Tyers P, Jessberger S, Saksida LM, Barker RA, Gage FH, Bussey TJ (2009) A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science* 325:210–213. [CrossRef Medline](#)
- Daselaar SM, Rice HJ, Greenberg DL, Cabeza R, LaBar KS, Rubin DC (2008) The spatiotemporal dynamics of autobiographical memory: neural correlates of recall, emotional intensity, and reliving. *Cereb Cortex* 18:217–229. [CrossRef Medline](#)
- Davis S, Bozon B, Laroche S (2003) How necessary is the activation of the immediate early gene *zif268* in synaptic plasticity and learning? *Behav Brain Res* 142:17–30. [CrossRef Medline](#)
- Diana RA, Yonelinas AP, Ranganath C (2007) Imaging recollection and familiarity in the medial temporal lobe: a three-component model. *Trends Cogn Sci* 11:379–386. [CrossRef Medline](#)
- Eacott MJ, Easton A (2010) Episodic memory in animals: remembering which occasion. *Neuropsychologia* 48:2273–2280. [CrossRef Medline](#)
- Eacott MJ, Easton A, Zinkivskaya A (2005) Recollection in an episodic-like memory task in the rat. *Learn Mem* 12:221–223. [CrossRef Medline](#)
- Easton A, Eacott MJ (2008) A new working definition of episodic memory: replacing “when” with “which” In: *Handbook of episodic memory* (Dere E, Easton A, Nadel L, Huston JP, eds), pp 185–196. Amsterdam: Elsevier.
- Easton A, Eacott MJ (2010) Recollection of episodic memory within the medial temporal lobe: behavioural dissociations from other types of memory. *Behav Brain Res* 215:310–317. [CrossRef Medline](#)
- Eichenbaum H, Fortin NJ (2005) Bridging the gap between brain and behavior: cognitive and neural mechanisms of episodic memory. *J Exp Anal Behav* 84:619–629. [CrossRef Medline](#)
- Eichenbaum H, Yonelinas AP, Ranganath C (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* 30:123–152. [CrossRef Medline](#)
- Ergorul C, Eichenbaum H (2004) The hippocampus and memory for “what,” “where,” and “when.” *Learn Mem* 11:397–405. [CrossRef Medline](#)
- Fellini L, Morellini F (2013) Mice create what-where-when hippocampus-dependent memories of unique experiences. *J Neurosci* 33:1038–1043. [CrossRef Medline](#)
- Fleischmann A, Hvalby O, Jensen V, Strekalova T, Zacher C, Lauer LE, Kvello A, Reschke M, Spanagel R, Sprengel R, Wagner EF, Gass P (2003) Impaired long-term memory and NR2A-type NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in mice lacking *c-Fos* in the CNS. *J Neurosci* 23:9116–9122. [Medline](#)
- Fortin NJ, Wright SP, Eichenbaum H (2004) Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature* 431:188–191. [CrossRef Medline](#)
- Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss TV, Garel S, Charnay P, Bozon B, Laroche S, Davis S (2001) A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci* 4:289–296. [CrossRef Medline](#)
- Lesburguères E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempo B (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331:924–928. [CrossRef Medline](#)
- McHugh TJ, Jones MW, Quinn JJ, Balthasar N, Coppari R, Elmquist JK, Lowell BB, Fanselow MS, Wilson MA, Tonegawa S (2007) Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network. *Science* 317:94–99. [CrossRef Medline](#)
- Saive AL, Ravel N, Thévenet M, Royet JP, Plailly J (2013) A novel experi-

- mental approach to episodic memory in humans based on the privileged access of odors to memories. *J Neurosci Methods* 213:22–31. [CrossRef Medline](#)
- Saive AL, Royet JP, Ravel N, Thévenet M, Garcia S, Plailly J (2014) A unique memory process modulated by emotion underpins successful odor recognition and episodic retrieval in humans. *Front Behav Neurosci* 8:203. [CrossRef Medline](#)
- Suddendorf T, Corballis MC (2007) The evolution of foresight: what is mental time travel, and is it unique to humans? *Behav Brain Sci* 30:299–313; discussion 313–351. [Medline](#)
- Templer VL, Hampton RR (2013) Episodic memory in nonhuman animals. *Curr Biol* 23:R801–R806. [CrossRef Medline](#)
- Tse D, Takeuchi T, Kakeyama M, Kajii Y, Okuno H, Tohyama C, Bito H, Morris RG (2011) Schema-dependent gene activation and memory encoding in neocortex. *Science* 333:891–895. [CrossRef Medline](#)
- Tulving E (1972) Episodic and semantic memory. In: *Organization of memory* (Tulving E, Donaldson W, eds), pp 383–403. New York: Academic.
- Tulving E (2002) Episodic memory: from mind to brain. *Annu Rev Psychol* 53:1–25. [CrossRef Medline](#)
- Tulving E, Markowitsch HJ (1998) Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus* 8:198–204. [CrossRef Medline](#)
- Veyrac A, Gros A, Bruel-Jungerman E, Rochefort C, Kleine Borgmann FB, Jessberger S, Laroche S (2013) Zif268/egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:7062–7067. [CrossRef Medline](#)
- Veyrac A, Besnard A, Caboche J, Davis S, Laroche S (2014) The transcription factor zif268/egr1, brain plasticity, and memory. *Prog Mol Biol Transl Sci* 122:89–129. [CrossRef Medline](#)
- Yassa MA, Reagh ZM (2013) Competitive trace theory: a role for the hippocampus in contextual interference during retrieval. *Front Behav Neurosci* 7:107. [CrossRef Medline](#)
- Zhou W, Crystal JD (2011) Validation of a rodent model of episodic memory. *Anim Cogn* 14:325–340. [CrossRef Medline](#)

### III. Le blocage de la neurogenèse adulte hippocampique perturbe-t-il la mémoire épisodique ?

Comme mentionné dans l'introduction, la neurogenèse adulte hippocampique est impliquée dans de nombreux processus mnésiques dépendants de l'hippocampe. Néanmoins, le rôle de la neurogenèse adulte hippocampique n'a jamais été testé dans une mémoire utilisée quotidiennement et qui sollicite de façon très importante l'hippocampe, ses fonctions de séparation et de complétion de patterns ainsi que l'encodage et de rappel à très long terme d'informations complexes mais liées les unes aux autres, comme c'est le cas dans la mémoire épisodique. Nous avons donc exploré le rôle fonctionnel de la neurogenèse adulte de l'hippocampe dans la tâche de mémoire épisodique présentée ci-dessus. Le rôle fonctionnel de la neurogenèse a été étudié grâce à un modèle de blocage par irradiation.

#### A. Modèle de blocage de la neurogenèse adulte

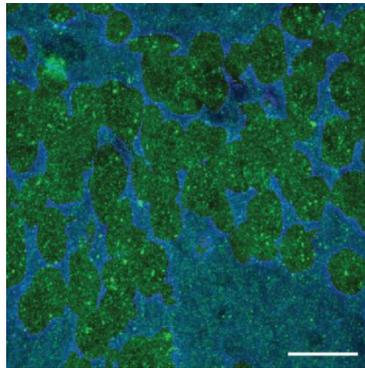
Afin de bloquer la neurogenèse adulte uniquement dans l'hippocampe, nous avons utilisé la technique de l'irradiation focale au niveau de la région hippocampique, selon un protocole mis au point et réalisé par Marc-André Mouthon du laboratoire de Radiopathologie du CEA à Fontenay-aux-roses.

##### 1. Protocole de blocage de la neurogenèse adulte

Une fois adulte (8 semaines), les rats Long Evans (IR ; n=11) sont soumis à trois séances d'irradiation réparties sur 1 semaine (lundi, mercredi et vendredi). Pour chaque séance d'irradiation, les rats sont anesthésiés avec de la kétamine (100 mg/kg) et du Domitor (125 µg/kg), puis sont réveillés à l'aide d'un antisédan. Les animaux sont irradiés à l'aide d'un irradiateur à rayons gamma (cobalt 60) à raison d'une dose finale de 15 Gray (trois séances de 5 Gray sur 5 minutes, 1 Gray/minute ; Figure 31). L'irradiation focale du cerveau incluant l'hippocampe entier est réalisée grâce à l'utilisation d'un cache en plomb positionné au-dessus de la tête de l'animal, troué afin de laisser passer les rayons au travers de l'hippocampe depuis la partie dorsale jusqu'à la fin de la partie ventrale (Bregma -2,28 mm à -6,72 mm le long de l'axe antéro-postérieur, Atlas Watson & Paxinos 5<sup>ème</sup> édition ; Figure 31).



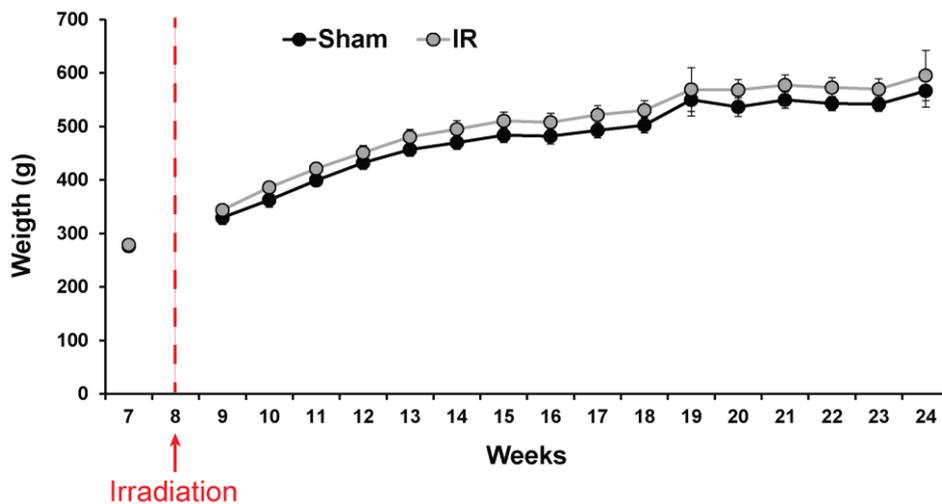
montrent une expression de  $\gamma$ H2AX dans les neurones du GD de l'hippocampe chez les rats irradiés (Figure 32) indiquant que l'irradiation est effective dans cette zone d'intérêt.



**Figure 32 : Expression de  $\gamma$ H2AX dans le GD environ 2 heures après une séance d'irradiation**

L'irradiation induit une expression de  $\gamma$ H2AX (en vert) au sein des cellules du GD de l'hippocampe, indiquant des dommages de l'ADN après irradiation. Barre d'échelle : 10 $\mu$ m

Le poids des rats est suivi durant toute la durée du protocole afin de vérifier leur état général de santé après irradiation et au cours de la restriction hydrique. De l'âge de 8 à 24 semaines, les rats Sham et IR ne montrent pas de différence de poids (Sham n=11, IR n=11 ; Test de Student : Sham vs IR  $p > 0,05$  aux différents temps ; Figure 33).

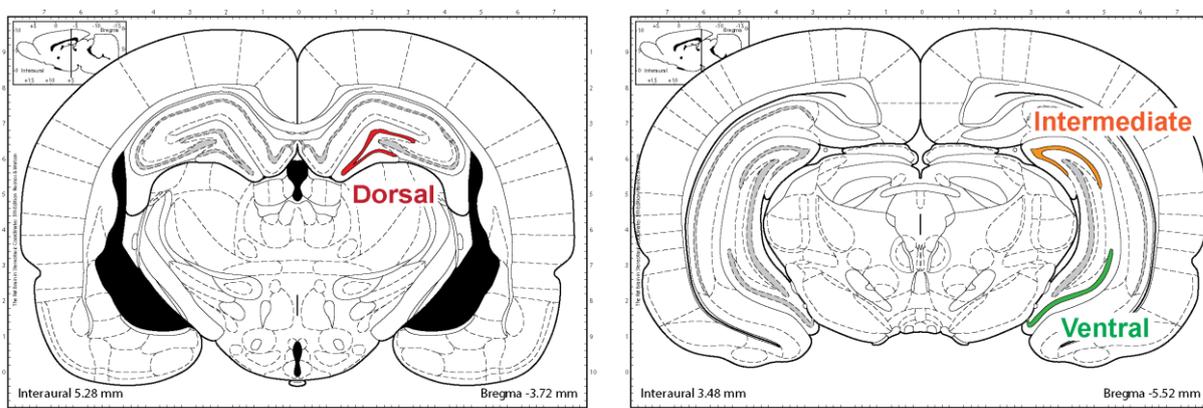


**Figure 33 : Poids des animaux durant toute la procédure**

Le poids des rats irradiés (IR, gris) est identique à celui des rats Sham (noir) aux différents temps analysés. Sham n=11 ; IR n=11

Le blocage de la neurogenèse adulte hippocampique a été vérifié 15-16 semaines après irradiation sur l'ensemble des animaux soumis à la tâche de mémoire épisodique (âgés de 23-24 semaines au moment du sacrifice). Pour cela nous avons analysé l'expression du

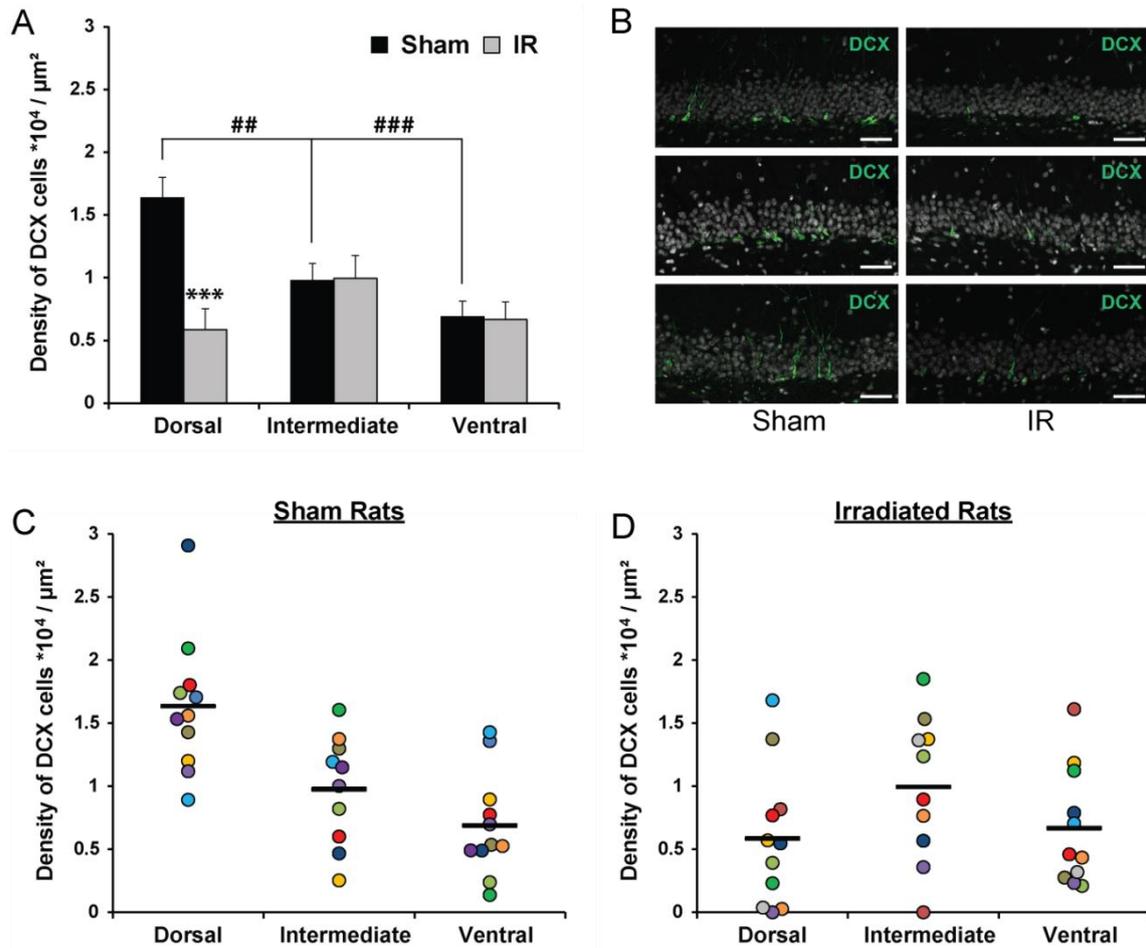
marqueur de neurones néoformés DCX en immunohistochimie dans les parties dorsale, intermédiaire et ventrale du GD (Figure 34 ; selon le protocole décrit dans Veyrac *et al.*, 2013). La densité moyenne des cellules exprimant DCX a été analysée à ces différents niveaux sur 3 sections d'hippocampe espacées de 140µm.



**Figure 34 : Régions d'analyse de l'expression de DCX dans le GD de l'hippocampe**

En rouge : partie dorsale du GD, en orange : partie intermédiaire du GD, et en vert : partie ventrale du GD.

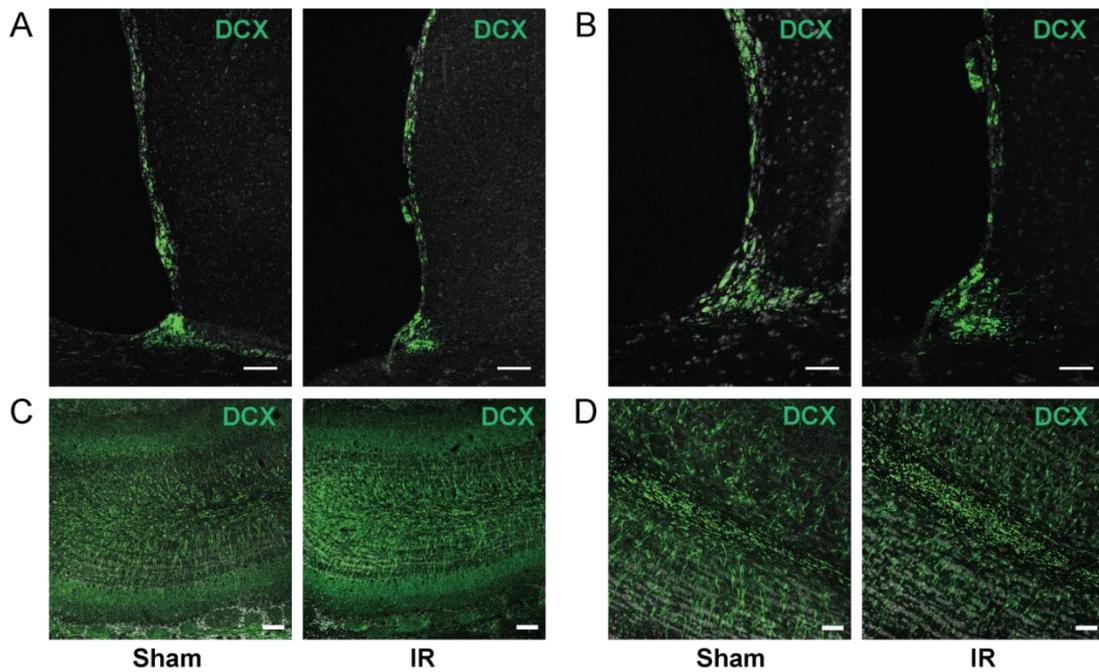
Chez les rats Sham, nous observons un plus grand nombre de cellules exprimant DCX dans la partie dorsale comparé aux parties intermédiaire et ventrale (Test de Student Sham : dorsal vs intermédiaire  $p=0,006$ , dorsal vs ventrale  $p<0,001$ , intermédiaire vs ventrale  $p=0,13$  ; Figure 35A), ce qui est en accord avec les données de la littérature sur l'hétérogénéité de la neurogenèse adulte hippocampique selon l'axe antéro-postérieur (Snyder, 2009; Jinno, 2011a; Bekiari *et al.*, 2014). Par ailleurs, l'irradiation induit une diminution significative de 64% de la densité de cellules exprimant DCX dans la partie dorsale du GD des rats irradiés comparée aux rats Sham, mais aucune différence significative n'a été observée dans les parties intermédiaire et ventrale du GD (Test de Student : Sham vs IR : dorsal  $p<0,001$ , intermédiaire  $p=0,94$  et ventral  $p=0,91$  ; Figure 35A et B). Ces résultats indiquent que l'irradiation a fortement réduit la neurogenèse adulte dans la partie dorsale du GD, mais elle reste identique à celles des rats Sham du même âge dans les parties intermédiaire et ventrale.



### Figure 35 : Blocage de la neurogenèse hippocampique par irradiation

**A.** Densité de cellules exprimant DCX par  $\mu\text{m}^2$  dans le GD de l'hippocampe chez les rats Sham (noir) et irradiés (gris). Le niveau de neurogenèse est plus important dans la partie dorsale du GD comparé aux parties intermédiaire et ventrale chez les rats Sham. **B.** L'irradiation affecte la neurogenèse adulte hippocampique dans la partie dorsale du GD mais pas dans la partie intermédiaire (milieu) ni ventrale (bas) du GD. Barre d'échelle : 50 $\mu\text{m}$ . **C, D.** Valeurs individuelles de la densité de cellules DCX+ dans le GD chez les rats Sham (**C**) et irradiés (**D**). \*\*\* : Test de Student, Sham vs IR,  $p < 0,005$ . ## : Test de Student, Dorsal vs Intermediaire,  $p < 0,01$ . ### : Test de Student, Dorsal vs Ventral,  $p < 0,005$ . Sham  $n = 11$ , IR  $n = 11$ .

Par ailleurs, nous observons dans la population des rats Sham et irradiés une variabilité relative du niveau de la neurogenèse adulte hippocampique (Figure 35C et D), indiquant que la neurogenèse adulte basale varie d'un individu à l'autre et que le blocage par irradiation bien qu'efficace dans la partie dorsale, n'est pas homogène pour tous les rats. Nous avons également vérifié que la neurogenèse dans la SVZ et le BO n'est pas affectée par l'irradiation au niveau de l'hippocampe (Figure 36).



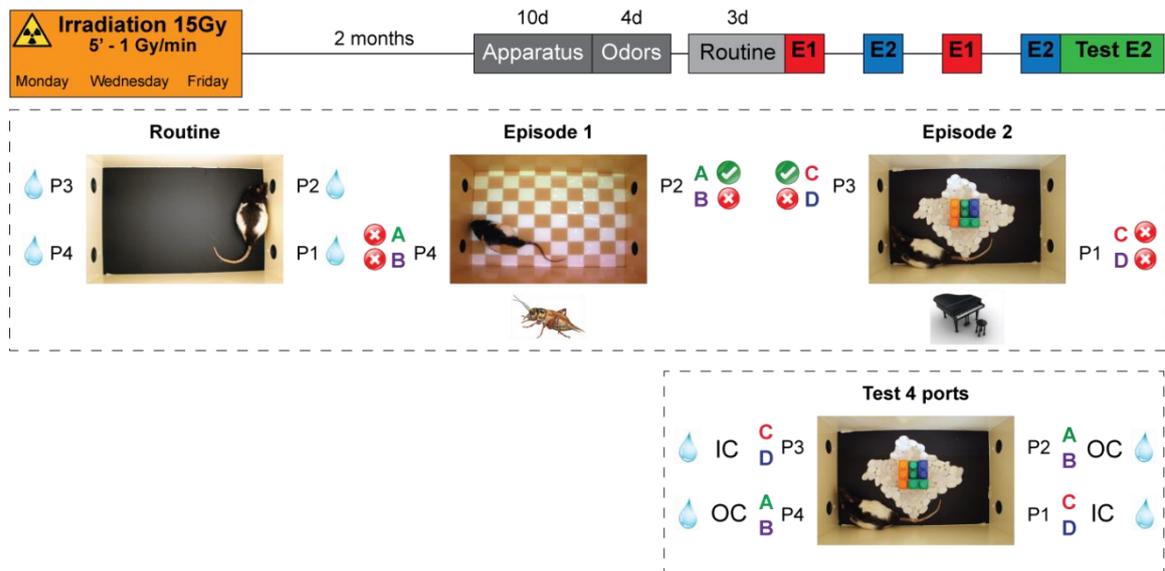
**Figure 36 : Effet de l'irradiation sur la neurogenèse du bulbe olfactif**

L'irradiation de la région cérébrale incluant l'hippocampe n'altère pas l'expression de DCX dans la SVZ (A et B) ni dans le BO (C et D). A et C. x10. Barre d'échelle : 100µm. B et D. x20. Barre d'échelle : 50µm.

En conclusion, l'utilisation du modèle de blocage de la neurogenèse adulte hippocampique par irradiation focale, avec le protocole que nous avons utilisé, permet d'obtenir une diminution importante de la neurogenèse adulte dans la partie dorsale du GD uniquement.

## B. Effets de l'irradiation focale sur les performances dans une tâche de mémoire épisodique

Deux mois après irradiation, les animaux (Sham n=11, IR n=11) âgés de 15 semaines sont soumis à la tâche de mémoire épisodique selon un protocole identique à celui décrit dans la partie I.A et ont été sacrifiés à la fin de la procédure comportementale à l'âge de 23-24 semaines (Figure 37).



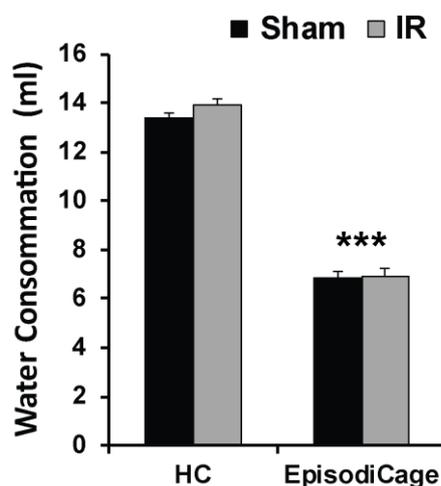
**Figure 37 : Protocole comportemental utilisé pour tester les performances en mémoire épisodique chez les rats Sham et irradiés**

Deux mois après irradiation, les rats sont soumis à la tâche de mémoire épisodique composée d'une phase d'habituation au fonctionnement de l'arène expérimentale et aux odeurs, et d'une phase de présentation des épisodes 1 (E1) et 2 (E2). Le rappel est testé 24 heures après la deuxième présentation de E2. Les trois séances de routine se déroulent sur un fond noir en présence uniquement d'un objet. L'épisode E1 est constitué d'un sol granuleux sur lequel une image de damier noir et blanc est projetée ainsi que de la diffusion d'un son de grillons chantant pendant la nuit. Dans cet épisode, les odeurs A (Carvone) et B (Iso) sont délivrées sur les ports 2 et 4 (P2 et P4), mais seule l'odeur A est associée à une solution d'eau sucrée et ce uniquement sur le port 2. L'odeur B est associée à la quinine sur les deux ports, ainsi que l'odeur A en P4. L'épisode E2 est constitué d'un sol avec des galets, de la présence d'un objet au centre de l'arène ainsi que de la diffusion sonore d'un morceau de piano. Dans cet épisode, les odeurs C (Anethole) et D (Citral) sont délivrées sur les ports 1 et 3 (P1 et P3), mais seule l'odeur C est associée à une solution d'eau sucrée et ce uniquement sur le port P3. L'odeur D est associée à la quinine sur les deux ports, ainsi que l'odeur C en P1. Le rappel de l'épisode E2 est testé 24 heures après la deuxième présentation de E2 dans le test interférent à 4 ports (voir I.A, page 104).

Après la phase d'habituation, les rats sont soumis à trois séances de routine (15 minutes) avant la présentation des épisodes. A la différence de l'étude présentée précédemment, les rats n'ont pas été soumis à des séances de routine entre chaque épisode (Figure 37), car nous considérons aujourd'hui que le fait de rester dans leur cage d'habitation entre les épisodes est plus routinier que d'aller dans l'EpisodiCage. Les rats sont soumis à deux présentations des épisodes E1 et E2, puis au test de rappel épisodique 24 heures après la fin des épisodes (Figure 37). Compte tenu des données de la littérature sur l'implication des nouveaux neurones hippocampiques dans des processus de séparation de patterns proches, nous avons choisi de tester les animaux dans la situation la plus complexe de rappel, en test à 4 ports.

Nous avons dans un premier temps analysé la consommation d'eau des rats Sham et irradiés dans leur cage d'habitation (HC) et dans l'EpisodiCage. Celle-ci montre que la consommation d'eau est deux fois plus importante dans leur cage que dans l'arène expérimentale (Figure

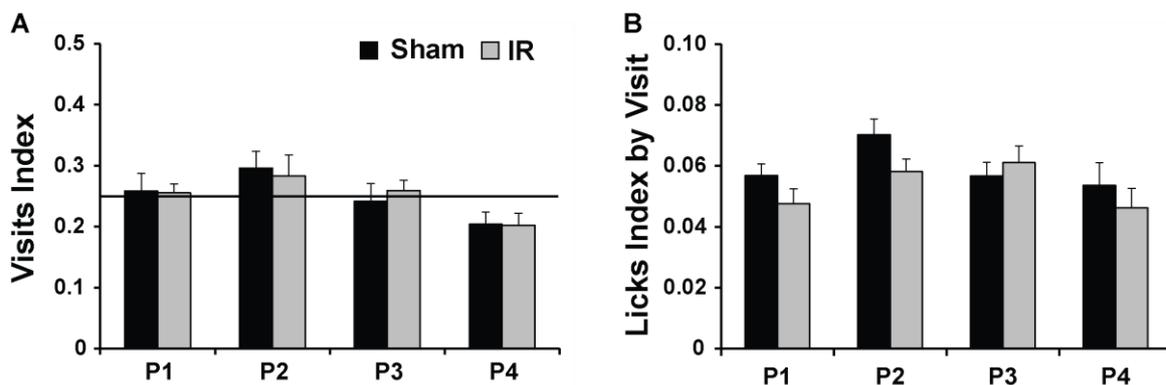
38), ce qui s'explique par le fait que les animaux ne passent que 20 minutes par jour dans l'arène alors qu'ils ont accès à l'eau pendant 40 minutes dans leur cage d'habitation (Test de Student : HC vs EpisodiCage  $p < 0,005$  ; Figure 38). L'irradiation n'influence par contre pas la consommation d'eau des rats et ce quel que soit le contexte dans lequel ils boivent (Test de Student : Sham vs IR : HC  $p = 0,13$  ; EpisodiCage  $p = 0,91$  ; Figure 38).



**Figure 38 : Consommation d'eau par les rats Sham et irradiés**

L'irradiation ne perturbe pas la consommation d'eau des rats Sham et IR dans leur cage et dans l'arène expérimentale. \*\*\* : Test de Student HC vs Episodicage  $p < 0,005$ . Sham  $n = 11$ , IR  $n = 11$ .

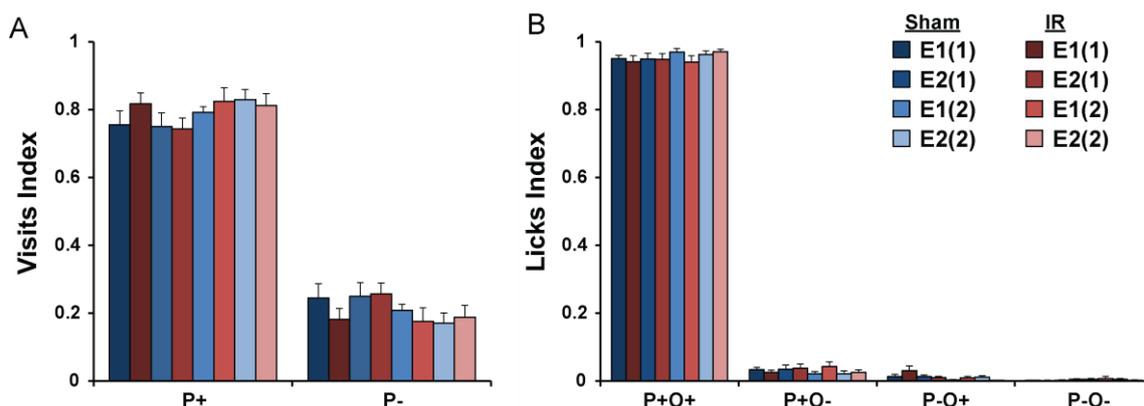
Nous avons également vérifié durant les 3 jours de routine que les rats ne présentent pas de préférence pour un des ports de l'arène expérimentale (Figure 39A). Pour cela le nombre de visites réalisées sur chacun des 4 ports a été normalisé par rapport au nombre total de visites lors de la séance afin d'obtenir le « *Visits Index* », puis moyenné sur l'ensemble des séances de routines (Test de Friedman : Sham  $p = 0,23$  ; IR  $p = 0,41$  ; Figure 39A). Nous avons également vérifié que les rats boivent de la même façon sur chacune des pipettes. Pour cela, le nombre de coups de langue réalisés sur chaque port est normalisé par rapport au nombre total de coups de langue réalisés durant la séance, puis divisé par le nombre de visites effectuées sur ce port afin d'obtenir le « *Licks index by visit* » (Test de Friedman, Sham  $p = 0,08$  ; IR  $p = 0,10$  ; Figure 39B). Ces résultats indiquent par ailleurs que les pipettes détectent la même quantité de coups de langue et délivrent la même quantité de boisson.



**Figure 39 : Performances des rats Sham et irradiés avant l'exposition aux épisodes**

Les rats Sham et irradiés ne montrent pas de préférence pour un des ports de l'arène expérimentale avant l'exposition aux épisodes. **A.** Nombre de visites pour chacun des ports durant les 3 jours de routine. La barre horizontale représente le niveau de chance de visites des ports dans l'EpisodiCage. **B.** Nombre de coups de langue effectués par visite sur chacun des ports. Sham n=11, IR n=11.

Lors de la présentation des épisodes, le nombre de coups de langue réalisés pour chaque configuration (Bon port-Bonne odeur P+O+ ; Bon port-Mauvaise odeur P+O-, Mauvais port-Bonne odeur P-O+ ; Mauvais port-Mauvaise odeur P-O-) est enregistré et normalisé par rapport au nombre total de coups de langue réalisés sur la totalité de la séance afin d'obtenir le « *Licks Index* ». L'analyse des performances montre que les rats Sham et irradiés visitent plus le bon port (P+) pour chacun des deux épisodes et ce dès les premières expositions de E1 et E2 (Test de Wilcoxon : Sham  $p < 0,005$  pour chaque épisode ; IR  $p < 0,005$  pour chaque épisode ; Figure 40A). Ils boivent également plus sur la configuration P+O+ qui délivre de l'eau sucrée que sur les autres configurations qui délivrent de la quinine (Test de Friedman, Sham  $p < 0,005$  pour chaque épisode ; IR  $p < 0,005$  pour chaque épisode ; Figure 40B).

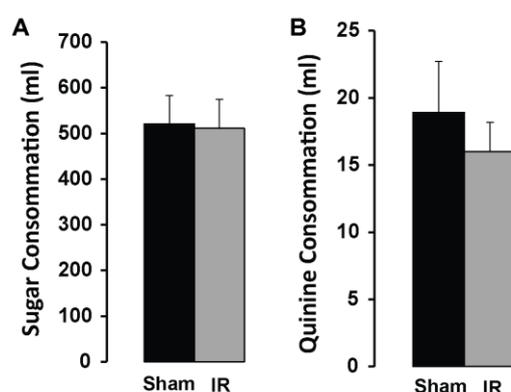


**Figure 40 : Performances des rats Sham et irradiés lors de l'exposition aux épisodes E1 et E2**

Les performances sont analysées pour chaque exposition aux épisodes (première exposition E1(1) et E2(1) et deuxième exposition E1(2) et E2(2)). **A.** Nombre de visites normalisé pour les 2 ports. Les rats visitent plus le bon port (P+) qui délivre de l'eau sucrée que le port qui délivre de la quinine (P-). **B.** Nombre de coups de langue normalisé pour chaque configuration. Les rats boivent plus sur la configuration P+O+ qui délivre de l'eau sucrée. P+O+ : Bon port-Bonne odeur, P+O- : Bon port-Mauvaise odeur, P-O+ : Mauvais port-Bonne odeur, P-O- : Mauvais port-Mauvaise odeur. Sham n=11, IR n=11.

Ces résultats indiquent que durant la phase d'exposition, les rats Sham et IR associent très rapidement le bon port avec la bonne odeur associée à l'eau sucrée pour les épisodes E1 et E2, en évitant l'autre port ainsi que l'autre odeur associée à la quinine.

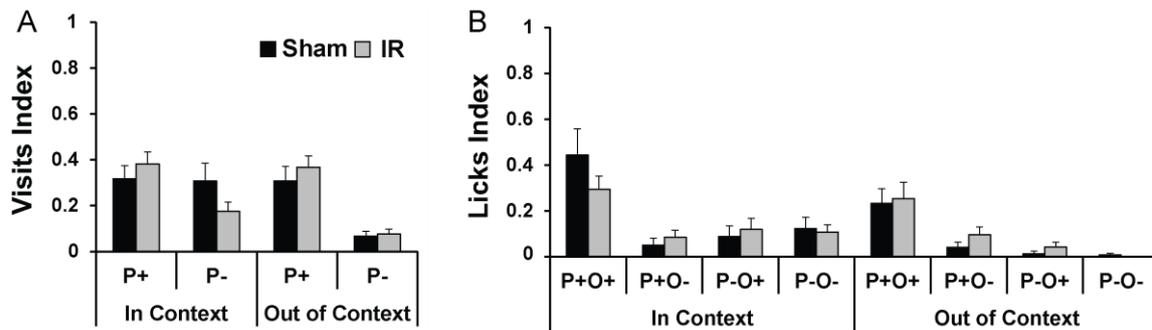
Nous avons par ailleurs vérifié l'absence d'impact de l'irradiation sur le comportement des rats face à un renforcement. L'analyse des coups de langue totaux effectués pour l'eau sucrée et pour l'eau contenant la quinine durant l'exposition aux épisodes ne montrent aucune différence entre les rats Sham et irradiés, validant ainsi que le blocage de la neurogenèse hippocampique n'altère pas la motivation des rats à chercher le sucre ou à éviter la quinine (Figure 41).



**Figure 41 : Consommation de sucre et de quinine par les rats Sham et irradiés**

La consommation de sucre (A) et de quinine (B) n'est pas altérée par l'irradiation lors de l'exposition aux épisodes dans l'arène expérimentale. Sham n=11, IR n=11.

Après l'exposition aux épisodes, les performances de rappel des rats Sham et irradiés sont testées 24 heures après la deuxième présentation de E2 dans le test interférent à 4 ports. Les performances des rats lors du test de rappel (Figure 37) sont analysées au travers de l'index de visites sur les ports P+ et P- et de l'index de coups de langue pour chacune des configurations possibles et ceci pour les réponses données dans le contexte E2 (In context, IC) et celles données pour le contexte E1 non testé (*Out of context*, OC) (Figure 42). Sur les 12 essais du test de rappel de l'épisode E2, les rats Sham visitent moins le mauvais port de l'épisode E1 (P-OC; Test de Friedman : Sham  $p < 0,005$ , suivi du test de Wilcoxon : Sham P-OC vs les autres ports  $p < 0,05$  ; Figure 42A) alors qu'en moyenne, ils visitent de façon équivalente les trois autres ports (Test de Wilcoxon : Sham entre les 3 autres ports  $p > 0,05$  ; Figure 42A). Ces résultats suggèrent que lors du test à 4 ports, c'est-à-dire lorsque les ports du contexte E2 sont présentés en même temps que ceux du contexte E1, les rats explorent tous les ports de l'arène à l'exception du mauvais port du contexte non testé E1.



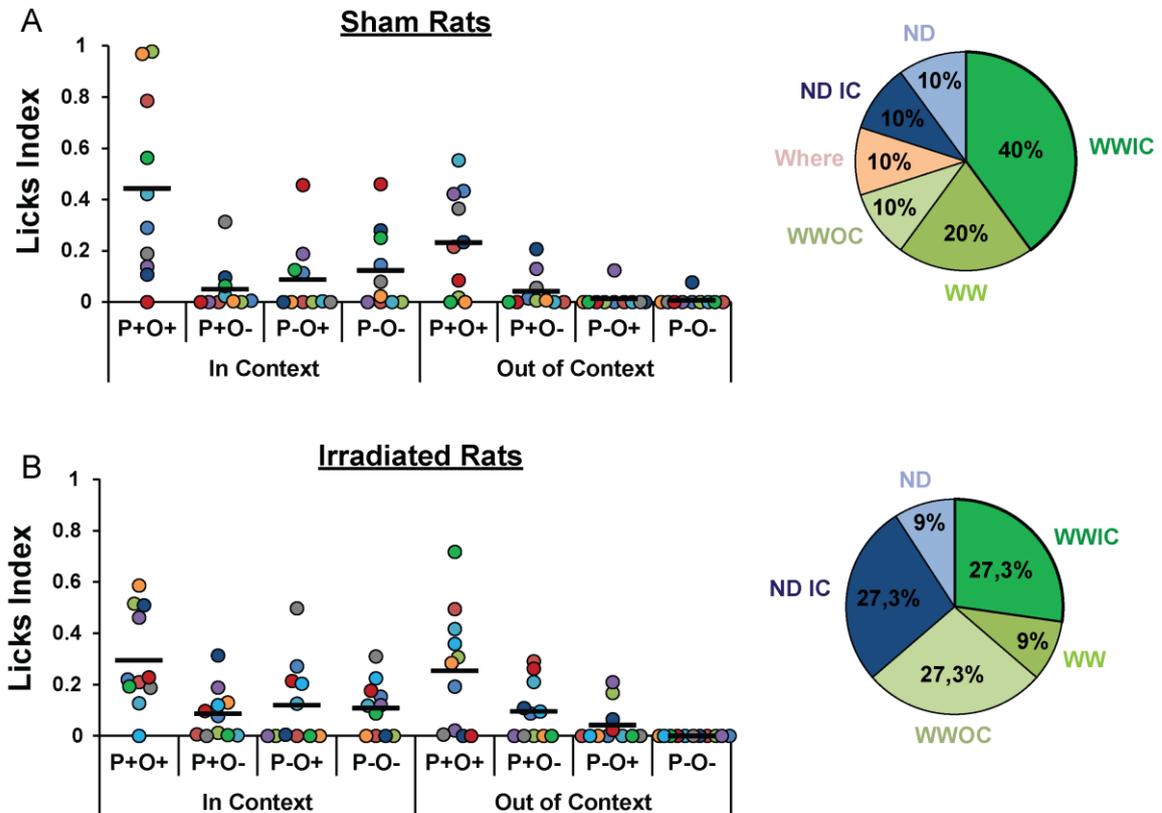
**Figure 42 : Performances des rats Sham et irradiés lors des 12 essais du rappel en test interférent à 4 ports de l'épisode E2, 24 heures après la fin des épisodes**

**A.** Visites sur les quatre ports de l'arène expérimentale (P+IC : Bon port contexte E2, P-IC : Mauvais port contexte E2, P+OC : Bon port contexte E1, P-OC : Mauvais port contexte E1). **B.** Nombre de coups de langue réalisés pour chaque configuration (P+O+IC : Bon port-bonne odeur contexte E2, P+O-IC : Bon port-mauvaise odeur contexte E2, P-O+IC : Mauvais port-bonne odeur contexte E2, P-O-IC : Mauvais port-mauvaise odeur contexte E2, P+O+OC : Bon port-bonne odeur contexte E1, P+O-OC : Bon port-mauvaise odeur contexte E1, P-O+OC : Mauvais port-bonne odeur contexte E1, P-O-OC : Mauvais port-mauvaise odeur du contexte E1). Sham n=11, IR n=11.

Les rats irradiés montrent un profil moyen similaire et visitent moins les 2 mauvais ports des deux contextes (Test de Wilcoxon : IR P-IC vs P+IC  $p < 0,05$  ; IR P-OC vs P+IC et P+OC  $p < 0,05$  ; Figure 42A). L'exploration de chacun des ports n'est par contre pas différente entre les rats Sham et les rats irradiés (Test de Mann-Whitney : Sham vs IR  $p > 0,05$  pour chacun des ports ; Figure 42A). Ces résultats indiquent que les rats Sham comme les irradiés se souviennent des deux bons ports des deux contextes qui délivraient de l'eau sucrée. Le blocage de la neurogenèse n'induit pas d'altération du souvenir de la composante spatiale.

Concernant les « *Licks index* », sur l'ensemble de la séance de rappel de l'épisode E2, les rats Sham comme les rats irradiés boivent plus sur le bon port du contexte E2 testé (P+O+IC), mais également sur le bon port du contexte E1 (P+O+OC) lorsque la bonne odeur est présentée (Test de Friedman : Sham  $p < 0,005$  suivi du test de Wilcoxon : Sham P+O+IC vs autres configurations  $p < 0,05$  à l'exception de P+O+IC vs P-O-IC  $p = 0,09$  et P+O+OC  $p = 0,51$  ; Test de Friedman : IR  $p < 0,005$  suivi du test de Wilcoxon : Sham P+O+IC vs autres configurations  $p < 0,05$  à l'exception de P+O+IC vs P-O+IC  $p = 0,11$ , P-O-IC  $p = 0,06$  et P+O+OC  $p = 0,79$  ; Test de Mann-Whitney : Sham vs IR  $p > 0,05$  pour chaque configuration ; Figure 42B). Ces résultats indiquent que lorsque les rats sont placés dans une situation de test de rappel de l'épisode E2 avec les ports et odeurs du contexte E1 accessibles, les Sham comme les irradiés montrent une mémoire des deux associations odeur – place (P+O+) rencontrées lors des épisodes E1 et E2. Néanmoins, comme nous l'avons décrit précédemment (voir I.C, page 109), cette situation nouvelle par rapport aux situations rencontrées lors des épisodes crée une importante variabilité des performances qu'il est nécessaire d'exprimer en profils individuels de réponses pour comprendre le phénotype comportemental des deux groupes de rats (Figure 43). En utilisant les mêmes critères que ceux précédemment décrits dans la partie

I.B, les performances individuelles des rats peuvent être classées selon différents profils de réponses (Figure 43A et B).



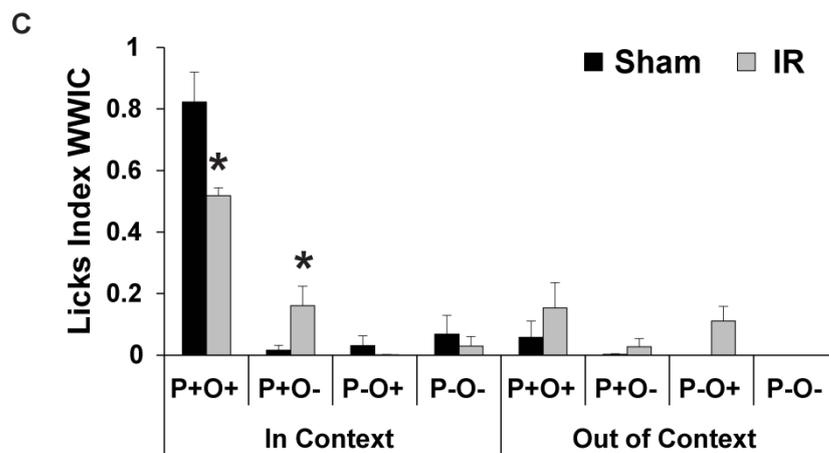
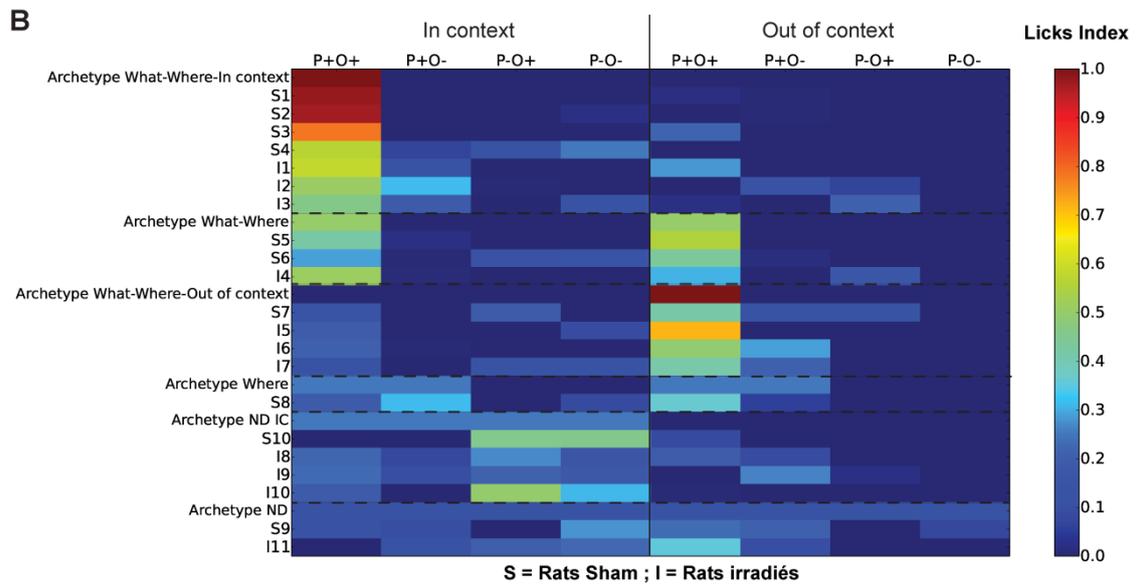
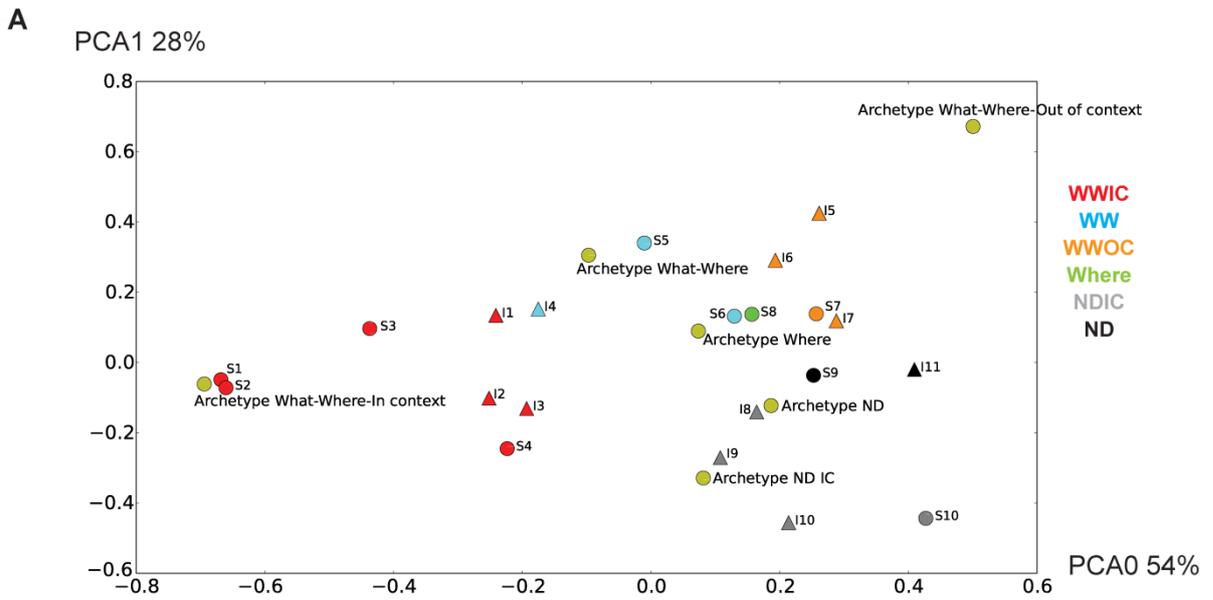
**Figure 43 : Performances individuelles des rats Sham et irradiés lors des 12 essais du test de rappel à 4 ports de l'épisode E2**

Chaque point de couleur représente les performances d'un rat sur les différentes configurations possibles. **A.** Dans le groupe Sham (n=11), 40% des rats présentent un profil de type « *What – Where – In which context* » (WWIC), 10% de type « *What – Where* » (WW), 20% un profil de type « *What – Where – Out of context* » (WWOC), 10% de type « *Where* » (Where), 10% de type Indéterminé mais avec une prédominance pour le bon contexte (ND IC) et 10% de type indéterminé (ND). **B.** Dans le groupe IR (n=11), 27,3% des rats présentent un profil de type WWIC, 9% de type WW, 27,3% de type WWOC, 27,3% de type ND IC et 9% de type ND. Les barres horizontales correspondent à la moyenne du groupe.

Dans le groupe Sham, 40% des rats présentent un profil « *Quoi – Où – Dans quel contexte* » (WWIC) c'est-à-dire qu'ils boivent plus sur le bon port du contexte E2 seulement avec la bonne odeur (Figure 43A), contre 27,3% des rats irradiés (Figure 43B). Les autres rats Sham et irradiés se répartissent selon différentes proportions sur des profils de type : « *Quoi – Où* » (WW) quand ils boivent de la même façon sur l'association odeur – port correcte de E1 et de E2 ; « *Quoi – Où – Autre contexte* » (WWOC) quand ils boivent préférentiellement sur l'association odeur – port du contexte non testé E1 ; « *Où* » (Where) quand ils boivent sur les bons ports des contextes E1 et E2 indépendamment de l'odeur ; ou enfin « *Indéterminé* » dans le contexte (NDIC) ou indépendamment du contexte (ND) (Figure 43A et B). Il est par

contre à noter qu'au final 60% des rats Sham répondent de façon adaptée au test interférent à 4 ports puisque 40% sont WWIC (association correcte de E2) et 20% sont WW (associations correctes de E2 et E1) alors que seulement 36.3% des irradiés donnent ces types de réponses (27.3% WWIC et 9% WW). A l'opposé, alors que seulement 10% des Sham répondent dans le contexte en ayant oublié l'association odeur – port (NDIC) et 10% se trompent de contexte (WWOC), 54.6% des irradiés montrent ces deux types de réponses (27.3% NDIC et 27.3% WWOC).

Ces résultats montrent que malgré la variabilité des réponses exprimées dans ce test de rappel, au contraire des rats Sham, une grande majorité de rats irradiés ne se souvient pas des associations odeur – port – contexte des épisodes rencontrés, mais répondent soit sur le contexte non testé, soit sur le contexte testé sans pour autant pouvoir y associer le port et l'odeur. Le fait que cette altération du souvenir chez les rats irradiés ne soit pas liée à une altération du comportement face aux renforcements associés aux éléments épisodiques lors de l'exposition aux épisodes (Figure 41A et B), suggère un effet spécifique de l'irradiation sur la consolidation mnésique. Etant donné la variabilité et la complexité des réponses possibles et de leur analyse dans le test de rappel à 4 ports, nous avons réalisé une analyse plus fine des profils en composantes principales (PCA) afin d'obtenir une représentation graphique des performances des rats selon deux composantes (PCA0 et PCA1 ; Figure 44A). Cette analyse permet de visualiser les performances de tous les rats Sham (ronds) et irradiés (IR ; triangles) dans un même espace et de les comparer individuellement aux archétypes de réponses attendues de chaque profil obtenu expérimentalement (points vert clair). La PCA réalisée sur deux dimensions a été validée par le fait que PCA0 et PCA1 ont une variance expliquée de 0,54 et de 0,28 respectivement, indiquant que ces deux composantes expliquent à 82% la variance des données. Cette analyse permet de révéler que les rats Sham WWIC (Rats S1 à S4) sont très proches de l'archétype WWIC alors que les rats irradiés WWIC (Rats I1 à I3) sont dans un espace situé entre différents archétypes (What – Where – In Which Context / What – Where / Where / Indeterminate) (Figure 44A). Ceci suggère que les rats irradiés qui ont gardé une mémoire de l'association odeur – port – contexte ont des profils de réponses plus éloignées des réponses attendues que les rats Sham.



**Figure 44 : Analyse des performances individuelles des rats Sham et irradiés dans le test de mémoire épisodique**

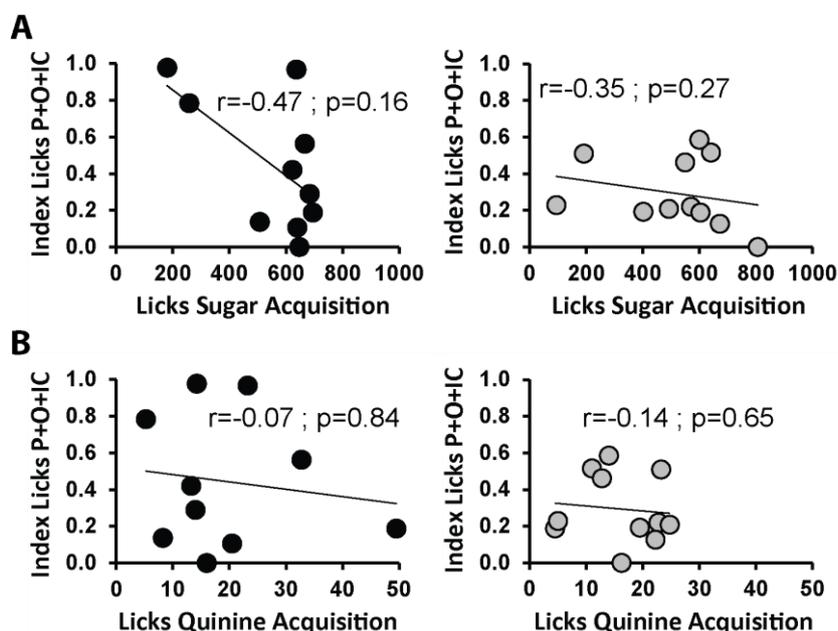
**A.** Les composantes PCA0 et PCA1 permettent d'expliquer 82% de la variance des données. Cette analyse permet de réaliser une représentation graphique des performances des rats Sham (Sx) et Irradiés (Ix) en deux dimensions et de les comparer aux archétypes de réponses attendues (points vert clair). En rouge : rats classés en profil WWIC ; en bleu : profil WW ; en orange : profil WWOC ; en vert : profil *Where* ; en gris : profil NDIC et en noir : profil ND. **B.** Matrices de couleurs permettant de visualiser les performances des rats Sham et irradiés et de les comparer avec les valeurs des archétypes de réponses attendus. Cette représentation permet de voir que les rats Sham (Sx) classés dans le profil WWIC présentent un couleur orange ou rouge sur la configuration P+O+IC traduisant un fort « Licks index » proche de 1,0 sur le bon port du contexte E2 avec la bonne odeur. *A contrario*, les rats irradiés (Ix) présentent une couleur verte sur la configuration P+O+IC traduisant un « Licks Index » proche de 0,5. **C.** « Licks Index » des rats WWIC uniquement (Sham n=4 ; IR n=3). \* : Test de Mann-Whitney Sham vs IR p<0,05.

---

Ce résultat est aussi identifié dans un autre type de représentation graphique des performances des rats, sous la forme de matrices de couleurs, comparées aux archétypes de réponses attendues (Figure 44B, WWIC, WW, WWOC, *Where*, NDIC, ND). Dans ces matrices, les couleurs codent du bleu vers le rouge les valeurs des « *Licks Index* » des rats qui sont représentés individuellement sur chaque ligne (S=Sham ; I=Irradié). Des couleurs allant vers le rouge signifient que le « *Licks index* » est très élevé (>0,75) alors que les couleurs allant vers le bleu signifient que le « *Licks Index* » est très faible (<0,25). Les archétypes des différents profils sont représentés sur la matrice afin de comparer les performances des rats aux performances attendues (Figure 44B). Par exemple, l'archétype WWIC présente une couleur rouge-brun sur la configuration P+O+IC et une couleur bleue sur l'ensemble des autres configurations. Cet archétype de rat WWIC est défini par des valeurs de Licks index de 1,0 sur P+O+IC et de 0 sur toutes les autres configurations. Cette analyse de matrices individuelles permet de visualiser plus clairement la façon dont se distribue le nombre de rats Sham et irradiés dans chaque profil de réponse en fonction de leur performances, avec par exemple un nombre plus important de rats irradiés pour le profil NDIC et WWOC que de rats Sham. Cette analyse renforce par ailleurs l'analyse PCA (Figure 44A) en montrant que les performances des rats irradiés WWIC sont nettement moins bonnes, car plus éloignées de la représentation de l'archétype, que celles des Sham WWIC. La moyenne des « Licks index » des rats Sham WWIC (Figure 44C) est d'ailleurs significativement différente de celle des rats irradiés WWIC sur le bon port du contexte E2 avec la bonne odeur (0,82 pour les rats Sham vs 0,52 pour les rats IR ; Test de Mann-Whitney : Sham vs IR : P+O+IC p=0,0433, P+O-IC p=0,0433, autres configurations p>0,05 ; Figure 44C).

Il est par ailleurs à noter que les différences de performances individuelles, des rats irradiés comme celles des Sham lors du test de rappel ne sont pas simplement dues à une consommation différente du renforcement positif associé à la configuration P+O+ lors de l'exposition aux épisodes. En effet, nous n'avons observé aucune corrélation entre le « Licks index » sur la configuration P+O+IC lors du rappel et le nombre total de coups de langue

effectués sur la solution sucrée lors des épisodes E1 et E2 chez les sham (Figure 45A), ni chez les irradiés (Figure 45B).

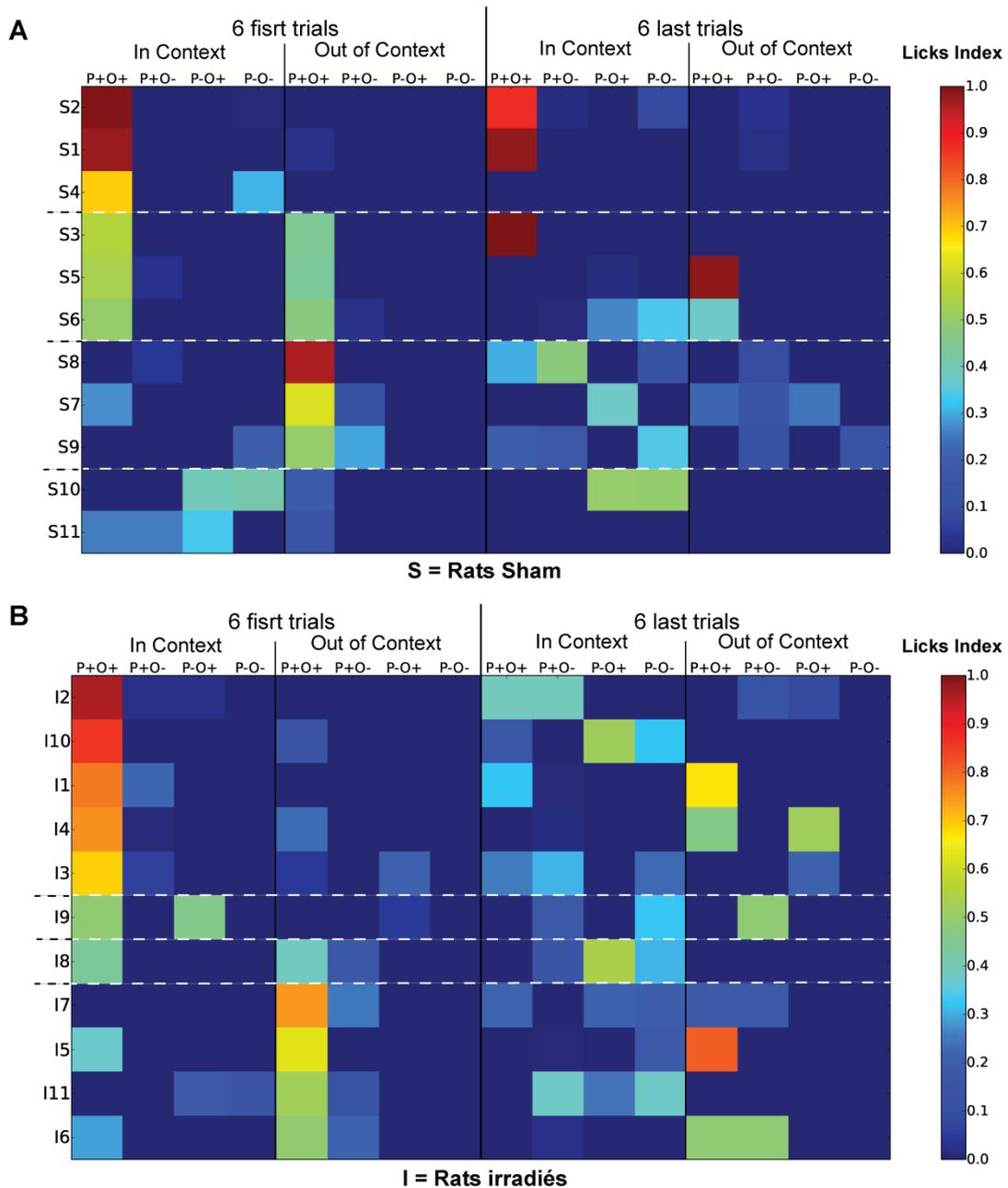


**Figure 45 : Corrélations entre la consommation de sucre et de quinine lors de l'exposition aux épisodes et les performances des rats sur le bon port du contexte testé avec la bonne odeur**

Il n'existe pas de corrélations entre la consommation de sucre (A) ou de quinine (B) lors de l'exposition aux épisodes E1 et E2 et les performances des rats lors du rappel de la mémoire épisodique en test interférent à 4 ports. Sham  $n=11$ , IR  $n=11$ .

Cet ensemble d'analyses montre que moins de rats irradiés ont mémorisé l'association odeur – port – contexte comparé aux rats Sham, et que les seuls rats irradiés ayant gardé en mémoire l'association épisodique montrent une mémoire fragile du souvenir qu'ils en ont.

Durant le test de rappel, les rats sont placés dans une situation d'extinction puisqu'ils ne reçoivent que de l'eau, et ceci est accentué dans la situation du test interférent à 4 ports puisque l'animal est placé en plus dans une situation nouvelle. L'analyse des performances des rats au fur et à mesure des essais du test permet d'estimer la « certitude » des réponses exprimées et d'accéder à une caractérisation de la force du souvenir épisodique. Nous avons donc comparé les matrices de performances individuelles des rats Sham et irradiés sur les 6 premiers et les 6 derniers essais du test (Figure 46). Cette représentation montre que les performances des rats Sham WWIC se maintiennent entre les 6 premiers et les 6 derniers essais du test (Figure 46A) et se précisent pour les rats Sham initialement classés WW (S3 et S5) sur le choix du contexte testé par rapport à celui non testé. Au contraire, les performances des rats irradiés WWIC ou WW se dégradent complètement au cours du test en se diluant dans des réponses « *In context* » incomplètes (I2, I10, I3, I8) ou en se transformant en réponses « *Out of context* » (I1, I4, I9) (Figure 46B).



**Figure 46 : La force et la précision de la mémoire épisodique sont diminuées en l'absence de neurogenèse adulte hippocampique**

Les performances des rats Sham et irradiés sont représentées en matrices de couleur pour les 6 premiers et les 6 derniers essais du test. Alors que les performances des rats Sham WWIC ou WW se maintiennent ou se précisent sur le choix du contexte au cours des essais (A), les performances des rats irradiés WWIC et WW se dégradent dans la deuxième partie du test (B).

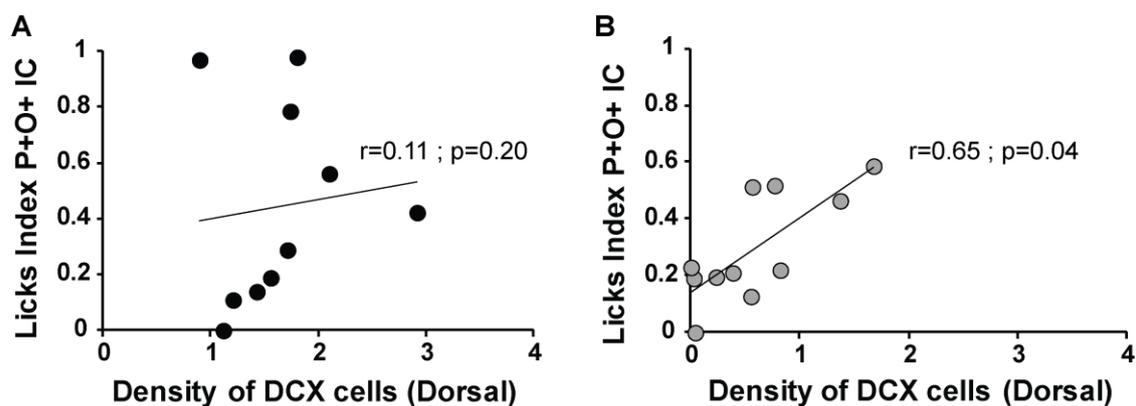
En conclusion, l'analyse des performances dans la tâche de mémoire épisodique montre que 60% des rats Sham ont mémorisé les associations odeur – port – contexte et que 40% ont gardé en mémoire l'association correcte sur le contexte testé E2, proportion comparable à celle observée dans la partie I.C pour des animaux contrôle dans ce même test. La diminution

du niveau de neurogenèse adulte hippocampique chez les rats irradiés diminue la proportion de rats qui se souvient des informations liées aux épisodes (36,3%) et celles liées spécifiquement à l'épisode testé (27,3%). Par ailleurs, l'absence de neurogenèse hippocampique semble diminuer la force de la mémoire épisodique puisque les performances des rats irradiés présentant un profil WWIC sont nettement moins bonnes que celles des rats Sham présentant ce même profil. Enfin, une analyse précise des blocs d'essais du test révèle que l'absence de neurogenèse hippocampique fragilise le maintien des performances WWIC sur la totalité de la séance, indiquant une mémoire épisodique moins robuste et plus sensible à l'interférence chez les rats irradiés que chez les rats Sham.

Ces données montrent que la neurogenèse adulte hippocampique joue un rôle clé dans le rappel fiable des éléments épisodiques mémorisés. Alors que 60% des rats Sham sont capables de se souvenir des associations épisodiques liées au contexte, 63,6% des rats irradiés n'y parviennent pas. Par ailleurs, la mémoire des seuls rats irradiés qui parviennent à reconstruire l'association épisodique semble fragile et sensible à l'interférence car elle n'est pas maintenue lorsque les rats doivent préciser leur réponse au cours du test de rappel. En l'absence de nouveaux neurones, les éléments qui composent le souvenir de l'association épisodique et leur intégration semblent plus flous, et son rappel fiable dans son ensemble est compromis dans cette situation qui n'est pas strictement identique à celle rencontrée durant l'encodage. Ces données pourraient illustrer, de façon élégante dans le cadre de la mémoire épisodique, l'hypothèse actuelle sur le rôle des nouveaux neurones dans l'augmentation de la résolution des souvenirs encodés afin de pouvoir les mémoriser de façon discriminante.

### C. Corrélations entre neurogenèse hippocampique et performances lors du test de rappel de la mémoire épisodique

Nous avons vu dans la partie III.A.2 que les rats irradiés présentent une diminution de la neurogenèse adulte dans la partie dorsale de l'hippocampe. Par ailleurs, nous avons vu qu'il existe des différences interindividuelles de niveau de neurogenèse chez les rats Sham et irradiés ainsi que dans leurs profils et niveaux de performances en rappel épisodique. Nous avons donc recherché s'il existait des corrélations entre le niveau de réponses exprimées sur le bon port du contexte testé avec la bonne odeur (configuration P+O+IC ; voir III.B, page 130) et le niveau de neurogenèse hippocampique (densité de neurones DCX+ ; voir III.A.2, page 126). Chez les rats Sham, nous n'observons pas de corrélation significative entre le niveau de neurogenèse dans la partie dorsale de l'hippocampe et les performances en rappel (Test de Spearman  $p=0,2$  ; Figure 47A), suggérant que les performances de rappel épisodique des rats Sham ne sont pas liées stricto sensu au niveau de neurogenèse.



**Figure 47 : Corrélations entre le niveau de neurogenèse de l'hippocampe dorsal et les performances des rats sur le bon port du contexte testé avec la bonne odeur (P+O+IC)**

**A.** Chez les rats Sham, lorsque la neurogenèse adulte hippocampique n'est pas altérée, on n'observe pas de corrélation significative entre le niveau de neurogenèse et les performances en rappel de la tâche de mémoire épisodique. **B.** Chez les rats irradiés, alors que le blocage de la neurogenèse n'est pas homogène, le niveau restant de neurogenèse dans la partie dorsale de l'hippocampe est prédictif des performances épisodiques des rats irradiés lors du test à 4 ports. En effet, plus le niveau de neurogenèse résiduelle est important et plus les performances de rappel de l'association épisodique des rats irradiés sont bonnes.

Au contraire, chez les rats irradiées, chez lesquels le niveau de neurogenèse est moindre que chez les rats Sham, il existe une corrélation positive significative entre le niveau de neurogenèse résiduelle dans la partie dorsale de l'hippocampe après irradiation et les performances de rappel de l'association épisodique (Test de Spearman  $p=0,04$ ,  $r=0,65$  ; Figure 47B). Ces résultats indiquent que les animaux irradiés qui présentent les meilleures performances durant le test de rappel sont ceux qui ont, au final, le plus fort taux de neurogenèse résiduelle avec un niveau qui est d'ailleurs comparable à celui des Sham (Figure 35A). Ce résultat en complément des résultats comportementaux renforce l'idée qu'un niveau minimal de neurogenèse hippocampique est nécessaire au rappel épisodique.

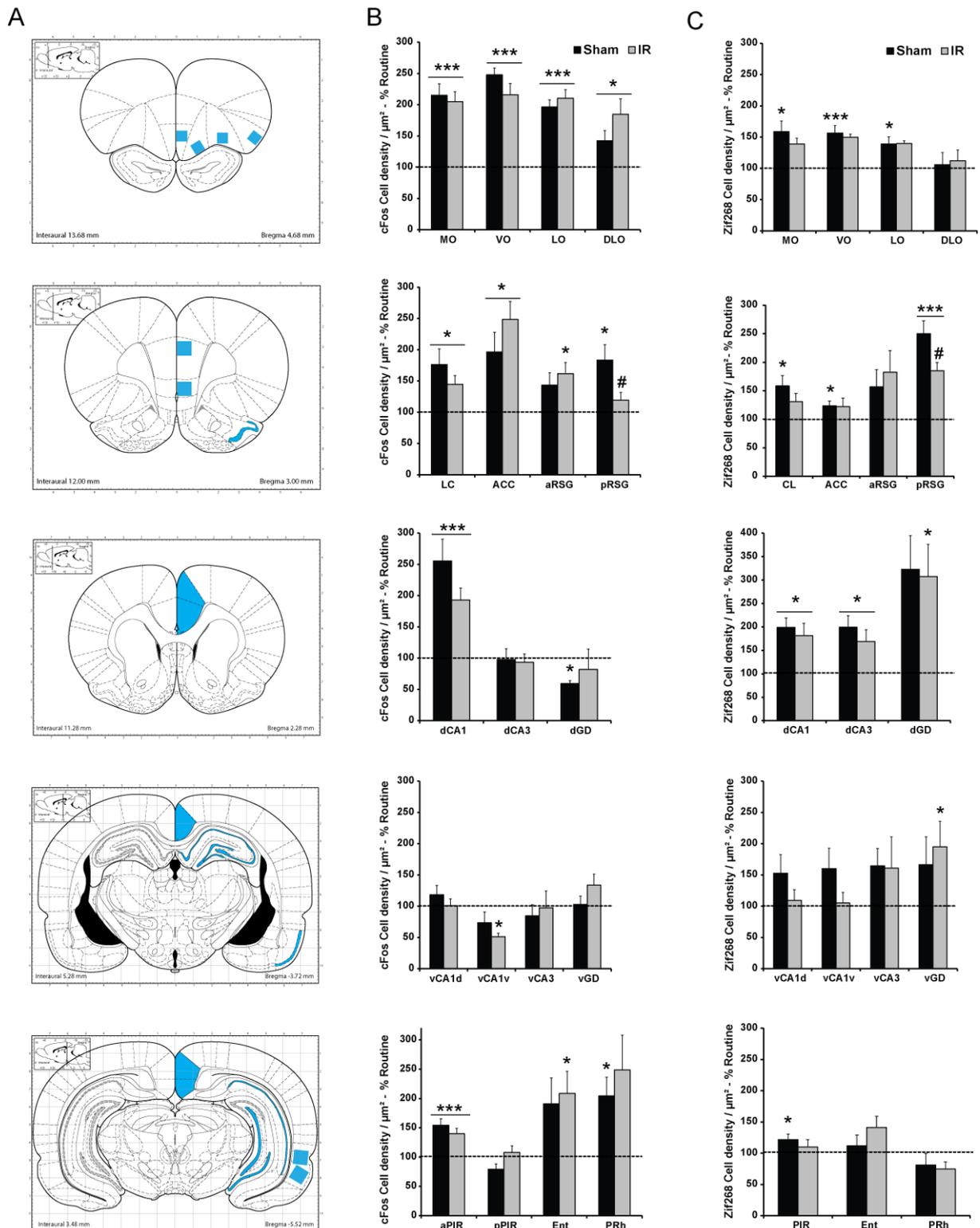
#### D. Réseau neuronal activé après le rappel en test à 4 ports de la mémoire épisodique

De la même façon que dans la partie I.D, nous avons analysé l'activation de différentes aires cérébrales impliquées dans le rappel de la mémoire épisodique en test à 4 ports. Pour cela, des rats Routine ( $n=5$ ), Sham ( $n=7$ ) et irradiés ( $n=7$ ) ont été sacrifiés 90 minutes après la fin du test de rappel afin de quantifier l'expression des IEGs Zif268 et c-Fos dans différentes aires cérébrales (Figure 48) : le cortex orbitofrontal (MO, VO, LO et DLO), le cortex limbique (prélimbique et infralimbique ; LC), le cortex cingulaire (antérieur et postérieur ; ACC), le cortex rétrosplénial (antérieur et postérieur ; RSG), le cortex piriforme (antérieur et postérieur ;

PIR), l'hippocampe dorsal et ventral (CA1, CA2-CA3 et GD) et les cortex entorhinal latéral (ENT) et périrhinal (PRh). Les aires sélectionnées sont analysées sur deux coupes de 14µm d'épaisseur séparées par 140µm dont les résultats ont été moyennés pour chaque rat. Les rats Routine ont été uniquement soumis à des séances de routine après la phase d'habituation, alors que les rats Sham et irradiés ont été exposés aux épisodes et au test de rappel (voir I.A, page 106). Les résultats des rats Sham et irradiés sont exprimés en pourcentage de l'expression de c-Fos ou Zif268 des rats Routine (100%, ligne en pointillé horizontale sur les graphes ; Figure 48).

Tout d'abord, dans le groupe des rats Sham, les résultats montrent que le rappel dans le test à 4 ports induit une augmentation de l'expression de c-Fos dans le cortex orbitofrontal, le cortex limbique, le cortex cingulaire, le RSG postérieur, le cortex piriforme antérieur, l'aire CA1 et le PRh (One Sample Sign Test (OSST) par rapport à 100% : MO, VO, LO  $p < 0,005$  ; DLO  $p < 0,05$  ; LC  $p < 0,05$  ; ACC  $< 0,05$  ; aRSG  $p = 0,0615$  ; pRSG  $p = 0,0152$  ; aPIR  $p = 0,0027$  ; pPIR  $p = 0,0652$  ; dCA1  $p = 0,0043$  ; PRh  $p = 0,0174$  ; ENT  $p = 0,0854$  ; Sham  $n = 7$ , Routine  $n = 5$ ). Par contre le rappel est associé à une diminution de l'expression de c-Fos dans le GD dorsal (OSST par rapport à 100% : GD  $p < 0,0001$ ). Concernant l'expression de Zif268 chez les rats Sham, le rappel induit à quelques exceptions près le même patterns d'activation que celui obtenu en c-Fos avec une augmentation de l'expression dans le cortex orbitofrontal, le cortex limbique, le cortex cingulaire, le cortex piriforme, la partie postérieure du RSG et dans la partie dorsale des aires CA1 et CA3 (OSST par rapport à 100% : MO, VO, LO  $p < 0,05$  ; DLO  $p = 0,7781$  ; LC  $p = 0,0191$  ; ACC  $p = 0,0354$  ; PIR  $p = 0,0477$  ; aRSG  $p = 0,1089$  ; pRSG  $p = 0,0011$  ; dCA1  $p = 0,0028$  ; dCA3  $p = 0,0072$  ; Sham  $n = 7$ , Routine  $n = 5$ ).

Le blocage de la neurogenèse adulte hippocampique ne modifie pas fondamentalement l'activation de ces deux gènes dans les mêmes aires cérébrales par rapport aux rats Sham, que ce soit pour c-Fos (OSST par rapport à 100% : MO, VO, LO  $p < 0,005$  ; DLO  $p = 0,014$  ; CL  $p = 0,018$  ; ACC  $p = 0,002$  ; aPIR  $p = 0,005$  ; pPIR  $p = 0,065$  ; dCA1  $p = 0,003$  ; vCA1  $p < 0,0001$  ; ENT  $p = 0,035$  ; PRh  $p = 0,053$  ; IR  $n = 7$ , Routine  $n = 5$ ) ou pour Zif268 (OSST par rapport à 100% : MO, VO, LO  $p < 0,001$  ; aRSG  $p = 0,073$  ; pRSG  $p = 0,0011$  ; dCA  $p = 0,022$  ; dCA3  $p = 0,034$  ; dGD  $p = 0,023$  ; vGD  $p = 0,046$  ; IR  $n = 7$ , Routine  $n = 5$ ). Toutefois, l'analyse montre quelques différences. C'est le cas dans le RSG postérieur où l'expression de c-Fos et de Zif268 est significativement plus basse pour les rats irradiés que pour les Sham (OSST IR par rapport à 100% : pRSG  $p = 0,1728$  ; Test de Mann-Whitney Sham vs IR  $p = 0,0396$  ; Sham  $n = 7$ , IR  $n = 7$ , Routine  $n = 5$ ).



**Figure 48 : Expression de c-Fos et Zif268 dans les différentes structures cérébrales analysées**

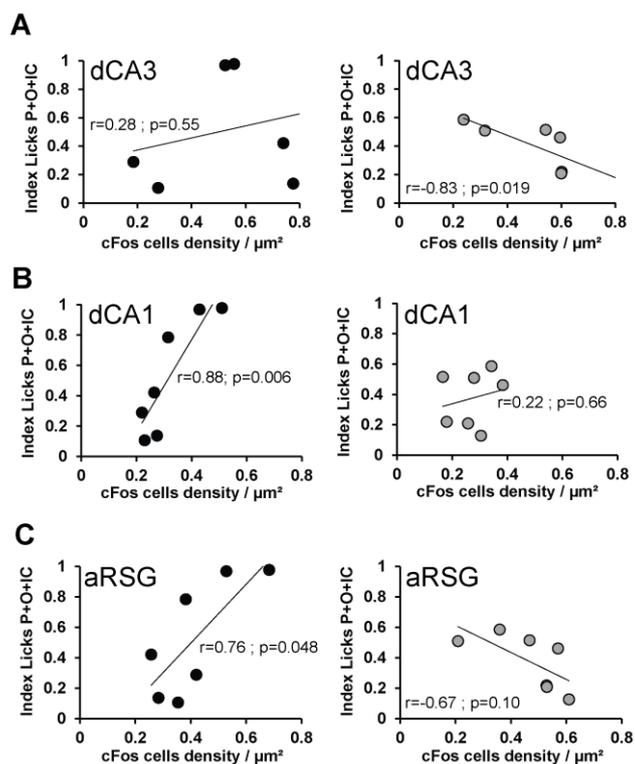
**A.** Schémas de coupes frontales de cerveau illustrant les différentes régions (en bleu) de comptage des cellules Zif268 et c-Fos positives. L'expression de c-Fos (**B**) et de Zif268 (**C**) a été analysée dans le cortex orbitofrontal, le cortex préfrontal (limbique et cingulaire), le cortex piriforme, le cortex rétrosplénial, la partie dorsale et ventrale de l'hippocampe et dans le cortex entorhinal et périrhinal. La ligne pointillée horizontale représente le niveau d'expression dans chaque structure chez les rats contrôle Routine (100%). \* : OSST par rapport à 100%  $p < 0,05$ , \*\*\* : OSST par rapport à 100%  $p < 0,005$ . # : Test de Mann-Whitney Sham vs IR  $p < 0,05$ .

Ces données indiquent que le rappel de la mémoire épisodique dans le test à 4 ports active un vaste réseau neuronal impliquant l'hippocampe, les cortex préfrontal et rétrosplénial et le cortex orbitofrontal. Ces nouvelles données d'activation dans ce test renforce les données précédemment obtenues en situation plus facile du test à 2 ports (voir I.D, page 109) tout en y ajoutant des éléments nouveaux sur l'implication du GD, de CA1 et du RSG dans ces différents tests. Le blocage de la neurogenèse hippocampique influence peu l'activation de ce réseau à l'exception du RSG. Il est à noter toutefois qu'à l'opposé de ce que nous avons observé pour le test à 2 ports, les rats Sham et irradiés ont exprimé différents profils de réponses de rappel épisodique qui sont difficilement exploitables en terme de moyennes de groupe. Ceci suggère qu'une analyse de réseau devra être faite en lien avec les différents profils de réponses épisodiques obtenus, avant de conclure définitivement sur le réseau impliqué et les différences en l'absence de neurogenèse.

## E. Corrélations entre activation du réseau neuronal et performances lors du test de rappel de la mémoire épisodique

Cette notion d'analyse du réseau impliqué en fonction des profils individuels de rappel épisodique a fait l'objet d'une recherche préliminaire de corrélations entre l'activation de c-Fos dans différentes structures et les performances de rappel épisodique exprimées lors des 12 essais du test sur la configuration P+O+IC (Figure 49) chez les rats Sham et irradiés.

Les résultats montrent une corrélation positive entre les performances de rappel épisodique des rats Sham et l'activation en c-Fos de la partie antérieure du cortex rétrosplénial et de la partie dorsale de l'aire CA1 (Corrélation Sham : dCA1 :  $r=0,879$ , Test de Pearson  $p=0,0061$  ; aRSG :  $r=0,75$  ; Test de Pearson  $p=0,0482$  ; Figure 49B et C). Ceci indique que plus les rats Sham présentent de bonnes performances lors du rappel de la mémoire épisodique et plus l'aire CA1 de l'hippocampe et la partie antérieure du RSG sont activées. Le blocage de la neurogenèse de l'hippocampe abolit la corrélation dans l'aire dCA1 et dans le RSG (Corrélation IR : dCA1 :  $r=0,218$ , Test de Pearson  $p=0,6574$  ; aRSG :  $r=-0,674$ , Test de Pearson  $p=0,1017$  ; Figure 49B et C). Par ailleurs, le blocage de la neurogenèse est associé à une corrélation négative chez les rats irradiés entre les performances et l'activation de la partie dorsale de l'aire CA3 de l'hippocampe (Corrélation IR : dCA3 :  $r=-0,825$  ; Test de Pearson  $p=0,0189$  ; Figure 49A) qui est absente chez les rats Sham (Corrélation Sham : dCA3 :  $r=0,288$  ; Test de Pearson  $p=0,5529$  ; Figure 49A). Ceci indique que plus les performances des rats irradiés lors du rappel de la mémoire épisodique sont mauvaises et plus la partie dorsale de l'aire CA3 de l'hippocampe est activée.



**Figure 49 : Corrélations entre les performances des rats lors du test de rappel à 4 ports sur la configuration P+O+IC et l'activation du réseau neuronal en c-Fos**

Les performances des rats irradiés, mais pas des rats Sham, sont corrélées négativement avec l'activation du CA3 dans la partie dorsale de l'hippocampe (A). Les performances des rats Sham, mais pas des rats irradiés, sont corrélées positivement avec l'activation de la partie dorsale de l'aire CA1 et du RSG antérieur (B et C). Chaque point représente un rat (noir : Sham et en gris : IR).

En conclusion, alors que la force du rappel épisodique en test à 4 ports est corrélée à l'activation de la partie antérieure du cortex rétrosplénial et de l'aire dCA1, le blocage de la neurogenèse hippocampique abolit cette relation. Ceci suggère que le recrutement de ces aires cérébrales en lien avec les performances est dépendant de la présence des nouveaux neurones. De façon concomitante, l'absence de neurogenèse modifie également le recrutement de l'aire dCA3 de l'hippocampe qui devient négativement corrélé au rappel de l'association épisodique.

L'ensemble de ces résultats indique que la neurogenèse adulte hippocampique contribue de façon significative à la consolidation et au rappel fiable du souvenir lors d'une situation interférente dans une tâche de mémoire épisodique. Les résultats suggèrent que la neurogenèse adulte pourrait jouer un rôle dans la résolution de la mise en mémoire d'événements occasionnels afin de pouvoir discriminer deux épisodes proches en lien avec les fonctions de séparation et complétion de patterns de l'hippocampe.



## **Partie 2**

*Zif268*, neurogenèse et  
mémoire



# Introduction

---

## Le gène *Zif268*

Les hypothèses actuelles suggèrent que la formation d'une trace mnésique stable à long terme nécessite des régulations géniques et la synthèse de protéines. L'apprentissage entraîne l'activation de plusieurs gènes impliqués dans la plasticité synaptique et parmi toutes les voies de signalisation neuronale étudiées dans le cadre de la plasticité synaptique et de la mémoire, la voie des MAPK semble constituer une voie essentielle de transmission du signal vers le noyau (Seger & Krebs, 1995). Suite à l'activation d'une série de kinases, cette cascade aboutit à l'expression de **gènes immédiats précoces** (IEGs). Ce sont des gènes dont l'expression est induite rapidement mais transitoirement en réponse à des signaux extracellulaires et dont l'induction ne nécessite pas de synthèse protéique. Il existe de nombreux IEGs qui répondent à divers stimuli et qui sont impliqués dans de nombreuses fonctions cellulaires *via* l'expression de différents types de protéines : des facteurs de croissance et leurs récepteurs, des protéines du cytosquelette et des facteurs de transcription (Sheng & Greenberg, 1990; Hughes & Dragunow, 1995). Certains IEGs jouent un rôle majeur dans le maintien et la stabilité des phases tardives de la plasticité synaptique et dans la consolidation mnésique puisque l'induction de ces gènes active des programmes génomiques contrôlant des changements à long terme dans le système nerveux (Goelet *et al.*, 1986). Les IEGs sont classés en deux catégories : les IEGs effecteurs (*Arc*, *BDNF* ou *Homer*) lorsque les protéines correspondantes agissent directement au niveau de la synapse ; et les IEGs régulateurs (*c-Fos*, *Jun* ou *Zif268*) lorsqu'ils codent des protéines appelées **facteurs de transcription** qui modulent l'expression de gènes cibles (dits effecteurs tardifs) en se liant à des séquences cibles présentes sur leur promoteur. Ceci confère aux IEGs régulateurs un rôle dans les changements de la machinerie génique pouvant aboutir à une restructuration anatomique et fonctionnelle à long terme de la synapse, mécanisme important pour la formation d'une trace mnésique. Il existe deux catégories de facteurs de transcription : les facteurs de transcription inductibles tels que *c-Fos* ou *Zif268* qui sont les produits de la transcription et de la traduction des IEGs régulateurs et les facteurs de transcription constitutifs comme CREB ou Elk-1 qui sont régulés par des modifications post-traductionnelles telles que les phosphorylations (Sheng & Greenberg, 1990; Hughes & Dragunow, 1995).

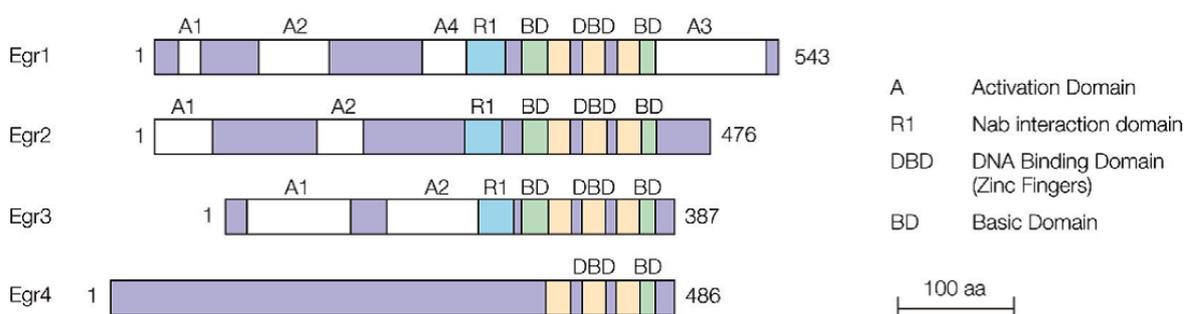
Ce chapitre s'intéresse au gène immédiat précoce régulateur *Zif268* codant le facteur de transcription *Zif268* et qui joue un rôle important dans les mécanismes de plasticité, d'apprentissage et de mémoire (Jones *et al.*, 2001; Bozon *et al.*, 2002, 2003a, 2003b).

## I. Le gène immédiat précoce *Zif268*

### A. Le découverte de *Zif268*

Le gène *Zif268* (*zinc finger binding protein 268*), aussi connu sous le nom de *Egr-1*, *Krox-24*, *NGF1-A*, *TIS8* et *Zenk*, fait partie de la famille des *Egr* (*Early growth response*) découverte entre la fin des années 1980 et le début des années 1990 (Lau & Nathans, 1987; Milbrandt, 1987) et qui appartient à la catégorie IEGs.

La famille des *Egr*, composée de 4 gènes, *Egr-1*, *Egr-2*, *Egr-3* et *Egr-4*, code une famille de facteurs de transcription inductibles tous caractérisés par la présence d'un domaine de liaison à l'ADN composé d'un motif à trois doigts de zinc  $Cys_2-Hys_2$  (Figure 50; Chavrier *et al.*, 1988; Sukhatme *et al.*, 1988; Gashler & Sukhatme, 1995; Beckmann & Wilce, 1997; Knapska & Kaczmarek, 2004). Ce motif à doigts de zinc permet aux facteurs de transcription *Egr-1*, *Egr-2*, *Egr-3* et *Egr-4* de se lier à l'ADN au niveau d'un motif consensus de 9 paires de bases GCG(G/T)GGGCG appelé séquence ERE (*egr response element*) au niveau du promoteur de certains gènes cibles permettant ainsi la régulation de leur expression (Christy & Nathans, 1989; Swirnoff & Milbrandt, 1995). Le gène *Egr-1* lui-même possède une séquence ERE sur son promoteur, ce qui suggère qu'il est capable de réguler sa propre expression. Le gène *Egr-1*, présent en une seule copie dans le génome des mammifères (Chavrier *et al.*, 1988), code une protéine de 82-88 kDA en fonction de la séquence d'initialisation, c'est le facteur de transcription *Zif268* (Lemaire *et al.*, 1990).



**Figure 50 : Représentation schématique des quatre membres de la famille des *Egr***

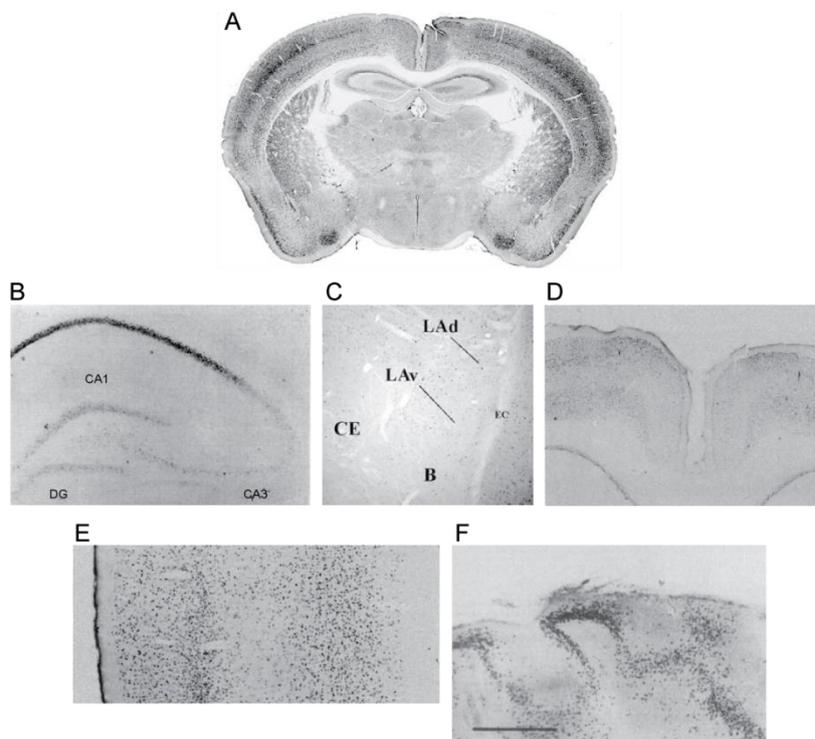
La séquence de liaison à l'ADN en trois doigts de zinc (séquence DBD) est conservée chez les quatre membres de la famille des *Egr*. Extrait de Poirier *et al.*, 2008b.

## B. Expression de *Zif268* dans le cerveau adulte

L'expression des IEGs a été beaucoup étudiée dans le système nerveux des mammifères pour deux raisons. Premièrement, ils sont souvent utilisés pour cartographier l'activation neuronale dans le cerveau suite à une stimulation neuronale. Et deuxièmement, ils ont été étudiés pour comprendre leur rôle dans la régulation de l'expression des gènes impliqués dans la mise en place à long terme de la plasticité neuronale.

### 1. Expression basale de *Zif268*

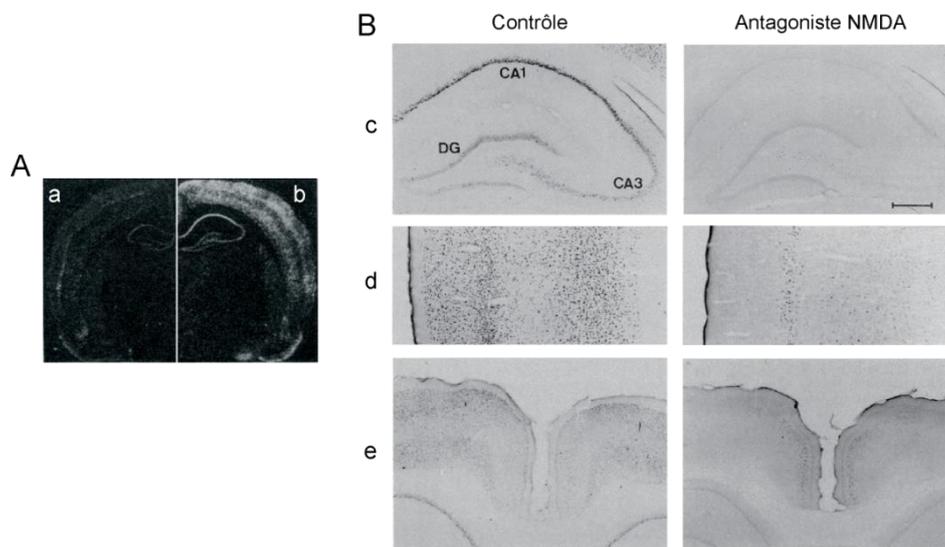
Au cours du développement embryonnaire, le gène *Zif268* n'est pas exprimé dans le système nerveux. Ce n'est qu'après la naissance, lors de la période post-natale, que son expression est effective dans différentes zones cérébrales. Dès la première semaine après la naissance, l'expression de *Zif268* augmente progressivement dans le cortex et le cervelet ; on trouve une expression très faible de *Zif268* dans l'hippocampe dès la naissance mais cette dernière augmente fortement dans l'aire CA1 et diminue dans les aires CA2-4 et le GD à partir de P17 (voir pour revue Beckmann & Wilce, 1997; Herdegen & Leah, 1998; Knapska & Kaczmarek, 2004; Veyrac *et al.*, 2014).



**Figure 51 : Expression basale de la protéine *Zif268* dans différentes aires du cerveau de souris**

Expression basale de *Zif268* dans le cerveau (A ; Extrait de Knapska & Kaczmarek, 2004), l'hippocampe (B ; Extrait de Hughes *et al.*, 1992), l'amygdale (C ; Extrait de Maddox *et al.*, 2011), le cortex cingulaire (D ; Extrait de Gass *et al.*, 1993a), le néocortex (E ; Extrait de Gass *et al.*, 1993a) et le cortex primaire olfactif (F ; Extrait de Herdegen *et al.*, 1990).

En condition basale dans le cerveau adulte, l'ARNm et la protéine du gène *Zif268* sont exprimés dans plusieurs régions cérébrales : les couches IV et VI du cortex cérébral, dans le noyau accumbens, le thalamus, le cervelet, le striatum, l'amygdale, les cortex visuel, olfactif et entorhinal et l'hippocampe (Figure 51). Au niveau de l'hippocampe, l'expression basale de l'ARNm et de la protéine *Zif268* est importante dans l'aire CA1, faible dans les aires CA2-4 et très faible dans le GD (Figure 51). Les motifs spatiaux d'expression de la protéine *Zif268* et de l'ARNm sont fortement corrélés entre eux, suggérant que le niveau d'expression de la protéine est régulé principalement à partir de la transcription de ce gène (Worley *et al.*, 1991). L'expression basale de *Zif268* est sous la dépendance de l'activité des récepteurs NMDA puisqu'en présence de MK-801, un antagoniste des récepteurs NMDA, l'expression de l'ARNm et de la protéine est rapidement abolie au niveau du cortex, de l'hippocampe et du striatum (Figure 52 ; Worley *et al.*, 1991 ; Gass *et al.*, 1993a). De même, l'expression basale de *Zif268* peut être modulée par les récepteurs Kainate/AMPA dans le cortex sensorimoteur (Wang *et al.*, 1994). D'autres études ont montré que la dopamine *via* les récepteurs D1 dans le striatum, ou les afférences noradrénergiques du cortex sont impliquées dans le contrôle de l'expression basale de *Zif268* (Bhat & Baraban, 1992 ; Mailleux *et al.*, 1992 ; Daunais & McGinty, 1996). L'ensemble de ces données suggère que la régulation de l'expression basale de *Zif268* est dépendante de l'activité synaptique.



**Figure 52 : L'expression de *Zif268* est dépendante de l'activité des récepteurs NMDA**

**A.** Expression de l'ARNm de *Zif268* : en présence d'un antagoniste NMDA (a) et chez les contrôles (b). Extrait de Worley *et al.* 1991. **B.** Expression de la protéine *Zif268* dans l'hippocampe (c), le néocortex (d) et le cortex rétrosplénial en présence d'antagoniste NMDA (gauche) ou chez les contrôles (droite). Modifié d'après Gass *et al.* 1993b.

## 2. Induction de l'expression de *Zif268*

L'expression de *Zif268*, comme c'est le cas pour tous les facteurs de transcription inductibles, est induite de façon rapide et transitoire par une multitude de stimuli pharmacologiques et physiologiques comme des neuromédiateurs, certaines drogues, des dommages cérébraux, l'ischémie ou encore le stress (voir pour revue (voir pour revue Hughes & Dragunow, 1995; Beckmann & Wilce, 1997; Herdegen & Leah, 1998; Knapska & Kaczmarek, 2004; Veyrac *et al.*, 2014). Concernant les neuromédiateurs, le glutamate, neuromédiateur excitateur, induit l'expression de *Zif268* dans plusieurs structures cérébrales dont l'hippocampe (Lourdes *et al.*, 1992; Gass *et al.*, 1993b; voir pour revue Beckmann *et al.*, 1997), alors que le GABA, neuromédiateur inhibiteur, inhibe son expression *via* les récepteurs GABA<sub>A</sub> dans ces mêmes structures (Saffen *et al.*, 1988; Gass *et al.*, 1992). La dopamine est également impliquée dans la régulation de l'expression de l'ARNm et de la protéine *Zif268* (Bhat & Baraban, 1992; Cole *et al.*, 1992; Gangarossa *et al.*, 2011). Concernant les drogues, certaines molécules telles que les dérivés de la morphine, l'éthanol, *via* l'inhibition des récepteurs NMDA et GABA<sub>A</sub>, les amphétamines ou encore la cocaïne, diminuent l'expression de *Zif268* (Matsumoto *et al.*, 1993; voir pour revue Beckmann & Wilce, 1997).

L'expression de *Zif268* peut également être induite par des stimulations physiologiques non pharmacologiques. Par exemple, des changements de l'environnement (visuel ou tactile) ou l'exploration d'un nouvel environnement induisent des modifications de l'expression de *Zif268* dans les cortex sensoriels et l'hippocampe (Mohammed *et al.*, 1990; Mack & Mack, 1992; Olsson *et al.*, 1994; Wallace *et al.*, 1995; Kaczmarek & Chaudhuri, 1997; Staiger *et al.*, 2000; voir pour revue Knapska & Kaczmarek, 2004). Un stress aigu ou des lésions cérébrales augmentent l'expression de l'ARNm et de la protéine *Zif268* dans différentes structures cérébrales dont l'hippocampe (voir pour revue Hughes & Dragunow, 1995; Beckmann & Wilce, 1997; Herdegen & Leah, 1998; Knapska & Kaczmarek, 2004). L'induction de l'expression de *Zif268* est également observée suite à des stimulations électriques ou suite à l'induction d'une PLT (voir II.A, page 158).

### C. Gènes cibles du facteur de transcription *Zif268*

Suite à la transcription du gène *Zif268*, l'ARNm est transporté vers le cytoplasme où il est traduit en protéine. La protéine *Zif268* retourne alors dans le noyau où elle agit comme facteur de transcription en entraînant l'expression de gènes cibles dont les promoteurs contiennent une séquence ERE. Bien qu'un certain nombre de gènes aient été identifiés comme ayant des séquences ERE dans leur région promotrice, il n'existe qu'un nombre restreint d'études qui démontrent la régulation directe par *Zif268* de la transcription de gènes cibles (Thiel *et al.*,

1994; Petersohn & Schoch, 1995; Ehrenguber *et al.*, 2000; Kumbrink *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2005; Baumgärtel *et al.*, 2009).

En 2005, James et coll. ont transfecté des cellules neuronales PC12 avec le gène *Zif268* puis ont effectué des analyses génomiques *via* l'utilisation de puces ADN afin de mettre en évidence les gènes exprimés après induction de l'expression de *Zif268* (James *et al.*, 2005). Ils ont répertorié 146 gènes différents, qui peuvent être classés selon diverses catégories fonctionnelles, notamment dans la neurotransmission, la formation des synapses, l'expression de récepteurs de certains facteurs de croissance, diverses voies de signalisation, le trafic vésiculaire, le protéasome, le complexe majeur d'histocompatibilité, la réponse immunitaire, l'expression de protéines du cytosquelette, la traduction, certaines voies métaboliques et enfin dans l'expression de facteurs de transcription dont *Zif268* lui-même (James *et al.*, 2005). De façon surprenante, dans cette étude, James et coll. montrent que dans ces conditions, la transcription d'un certain nombre de gènes cibles de *Zif268* est régulée négativement, résultat à l'opposé de la vision générale du rôle de ce gène que l'on considèrerait comme ayant plutôt une action positive sur la régulation de ses gènes cibles. Cette vision est fondée principalement sur un grand nombre d'études réalisées à partir de constructions de promoteurs minimaux synthétiques du gène *Zif268* qui ne reflètent pas exactement sa régulation dans des conditions physiologiques. De même, bien que l'étude de James et coll. ait été réalisée avec le promoteur entier, le fait que ce soit sur des cellules en culture ne permet pas d'extrapoler au rôle de *Zif268* *in vivo*. De plus, sachant que le gène *Zif268* est capable de réguler son expression positivement ou négativement *via* l'activation de régulateurs négatifs comme les protéines Nab, il est possible que son induction artificielle dans des cellules en culture entraîne des perturbations de la régulation des gènes cibles. Malgré tout, plusieurs autres études montrent le même rôle répresseur du gène *Zif268* sur la transcription de certains gènes cibles (Fukada & Tonks, 2001; Bahouth *et al.*, 2002; Davis *et al.*, 2003b; Zhang & Liu, 2003; Wang *et al.*, 2005a; Baumgärtel *et al.*, 2009). La technique des puces à ADN permet d'avoir une vision relativement large des gènes cibles de *Zif268* dans des conditions spécifiques, mais les résultats obtenus pourraient ne pas être représentatifs d'une situation physiologique *in vivo*. Plus récemment, grâce à l'utilisation d'une souris surexprimant le gène *Zif268*, Baumgärtel et coll. ont identifié dans le cerveau 215 gènes cibles impliqués dans la phosphorylation, la division cellulaire, la modification et la dégradation des protéines, le métabolisme ou encore le transport d'ions métalliques (Baumgärtel *et al.*, 2009).

Selon les cellules étudiées ou le type de stimulus utilisé, l'induction de *Zif268* peut avoir des effets antagonistes et dose-dépendants (Svaren *et al.*, 2000; Fu *et al.*, 2003; Virolle *et al.*, 2003; James *et al.*, 2005). C'est le cas par exemple des gènes qui codent p300 et CREB Binding Protein (CPB). Ces derniers possèdent respectivement six et sept séquences ERE dans leur région promotrice. Dans les cellules cancéreuses de la prostate, lors d'une faible activation de l'expression de *Zif268* par des facteurs de croissance, *Zif268* est acétylé et

active la transcription de p300/CBP induisant ainsi la survie des cellules. A l'inverse, avec une forte activation de l'expression de *Zif268* par irradiation aux UVs, *Zif268* est phosphorylé, réprime la transcription de p300/CBP et active la transcription de gènes pro-apoptotiques comme p53 et PTEN induisant la mort cellulaire (Yu *et al.*, 2004; Adamson *et al.*, 2005). Enfin, *Zif268* peut induire des modifications épigénétiques telles que la déméthylation de l'ADN et des modifications des histones influençant la transcription de gènes cibles (Weaver *et al.*, 2007).

En résumé, en fonction du type de stimulus et du type cellulaire, différentes voies de signalisation sont activées et entraînent des modifications post-traductionnelles de *Zif268* différentes qui jouent ensuite un rôle clé sur la fonction de ce facteur de transcription. Un même stimulus peut induire l'expression d'un grand nombre de facteurs qui s'influencent les uns les autres, modifiant ainsi l'environnement moléculaire dans lequel la protéine *Zif268* se trouve au moment de sa traduction et potentiellement aussi sa fonction d'activateur ou de répresseur des gènes cibles.

#### D. Les différents rôles biologiques de *Zif268*

Au vu des nombreux gènes cibles de *Zif268* et de son induction à la fois par des stimuli positifs induisant la plasticité synaptique et l'activation neuronale dans des contextes d'apprentissage et de mémorisation, ainsi que par des stimuli nocifs comme des ischémies, des lésions cérébrales ou des crises épileptiques, il apparaît clair que ce facteur de transcription est impliqué dans de nombreuses fonctions biologiques.

Le rôle du gène *Zif268* a beaucoup été étudié dans le cadre de la prolifération et la croissance cellulaire en raison de son expression induite dans de nombreux types cellulaires en réponse à des éléments mitogènes ou par l'activation de la voie des MAPK/ERK, protéines kinases activées par des mitogènes (Gashler & Sukhatme, 1995; Kaufmann & Thiel, 2001, 2002; Kaufmann *et al.*, 2001). Ce gène est notamment impliqué dans la croissance des neurites (Harada *et al.*, 2001). L'expression de *Zif268* a également été associée au développement de cancers chez l'Homme, notamment dans le cancer de la prostate où une surexpression de *Zif268* a été observée (Eid *et al.*, 1998). De même, en l'absence du gène *Zif268*, la progression des tumeurs chez des souris transgéniques de ce type de cancer est significativement réduite (Abdulkadir *et al.*, 2001; Baron *et al.*, 2003). A l'opposé, le gène *Zif268* est également étudié comme facteur pro-apoptotique puisque dans certaines conditions, notamment en présence de radiations ionisantes, *Zif268* induit l'expression de gènes pro-apoptotiques tels que PTEN, TNF- $\alpha$ , p53, Rb et Bax (Thiel & Cibelli, 2002; Baron *et al.*, 2006). Le gène *Zif268* est également impliqué dans divers processus comme les capacités reproductives des femelles puisque son absence entraîne une infertilité (Lee *et al.*, 1996).

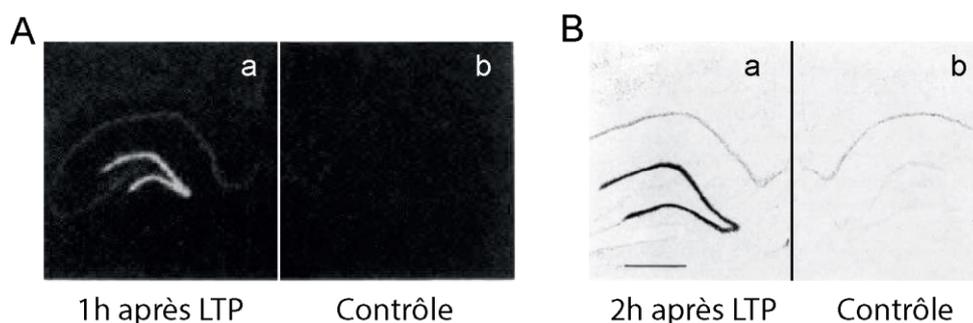
Le gène *Zif268* est un gène immédiat précoce codant un facteur de transcription dont l'expression, transitoire, est induite lors de diverses formes d'activation neuronale, aboutissant à la modification de l'expression de nombreux gènes impliqués dans diverses fonctions biologiques qui vont de la prolifération cellulaire jusqu'aux mécanismes pro-apoptotiques. C'est au laboratoire qu'il a été montré que le gène *Zif268* est aussi impliqué dans la plasticité synaptique et les processus cognitifs (voir II et III, page 158 et 161).

## II. *Zif268* et plasticité synaptique

### A. Potentialisation à long terme

Dans les années 90, il a été montré pour la première fois qu'une induction de l'expression de *Zif268* peut être observée suite à l'induction d'une PLT. Celle-ci entraîne la transcription et la traduction rapides et robustes de *Zif268* dans les cellules granulaires du GD de l'hippocampe (Figure 53; Cole *et al.*, 1989; Wisden *et al.*, 1990).

Cette régulation transitoire de l'induction de l'ARNm de *Zif268* (entre 10 minutes et 2 heures après l'induction de la PLT), nécessite l'activation des récepteurs NMDA. La protéine Zif268 présente quant à elle un pic d'expression autour de 2 heures après l'induction de la PLT et retourne à son niveau basal au bout de 8 heures (Abraham *et al.*, 1991; Richardson *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1995). Par ailleurs, grâce à des études de liaison à l'ADN, Williams et coll. ont montré que Zif268 se lie à des séquences consensus ERE sur l'ADN de gènes cibles dès 2 heures après induction de la PLT *in vivo* dans le GD (Williams *et al.*, 2000).



**Figure 53 : L'induction d'une PLT dans l'hippocampe induit une expression robuste de *Zif268***  
Expression de l'ARNm de *Zif268* dans le GD 1h après induction de la PLT (A ; Extrait de Cole *et al.* 1989) et de la protéine Zif268 2h après induction (B ; Extrait de Richardson *et al.*, 1992).

L'expression de l'ARNm et de la protéine Zif268 est corrélée au maintien de la PLT (phase tardive de la PLT) et non à l'amplitude de celle-ci lors de son induction (Abraham *et al.*, 1991, 1993; Richardson *et al.*, 1992; Worley *et al.*, 1993; Dragunow, 1996). Ces données suggèrent que le gène *Zif268* est un élément primordial de l'expression génique nécessaire à la

stabilisation de la phase tardive de la PLT dans le GD de l'hippocampe, phase qui dépend de la synthèse de nouvelles protéines. Par contre, les effets de l'induction d'une PLT dans l'aire CA1 de l'hippocampe sont contradictoires. En effet, alors que French et coll. n'ont pas observé de régulation de l'expression de *Zif268* dans l'aire CA1 suite à l'induction d'une PLT in vitro ou in vivo (French *et al.*, 2001), d'autres auteurs montrent une augmentation de l'expression de *Zif268* dans cette structure après induction d'une PLT in vitro (Mackler *et al.*, 1992; Roberts *et al.*, 1996). Plus récemment, des travaux menés dans l'équipe ont montré une induction de l'expression de *Zif268* dans l'aire CA1 in vivo suite à l'induction d'une PLT (Cheval *et al.*, 2011). Il est possible que les différences observées dans l'aire CA1 soient liées au délai d'analyse de l'expression de ce gène après induction de la PLT, aux modèles utilisés in vitro ou in vivo, et à la différence de sensibilité des techniques de détection de l'ARNm. On notera également qu'une stimulation électrique tétanique de l'amygdale basolatérale induit une PLT dans le cortex insulaire associée à une surexpression de *Zif268* (Jones *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2003a). De même, une stimulation électrique tétanique du tractus thalamique entraîne une surexpression de *Zif268* dans le cortex visuel (Heynen & Bear, 2001; Davis *et al.*, 2003a). L'ensemble de ces données montre que l'expression du gène *Zif268* est régulée après l'induction d'une PLT dans diverses structures cérébrales, mais aucune ne montre que ce gène est requis pour cette forme de plasticité synaptique.

C'est la génération d'une souris invalidée pour le gène *Zif268* (Topilko *et al.*, 1997) qui a permis d'étudier plus précisément l'importance du rôle de ce gène dans la PLT et les processus mnésiques. Premièrement, les souris *Zif268*<sup>-/-</sup> ne présentent pas de problèmes développementaux majeurs, ni d'anomalies structurelles au niveau de l'hippocampe bien qu'elles présentent un poids moyen plus faible que les souris sauvages et qu'elles soient stériles (Jones *et al.*, 2001). Jones et coll. ont alors observé chez des souris *Zif268*<sup>-/-</sup> vigiles que la PLT dans le GD de l'hippocampe présente une induction normale et qu'elle est maintenue jusqu'à 60 minutes au même niveau que chez des souris sauvages. Par contre, 24 heures après, l'amplitude de la PLT chez les souris *Zif268*<sup>-/-</sup> est revenue à un niveau basal contrairement aux souris sauvages qui présentent toujours une PLT (Jones *et al.*, 2001; Bozon *et al.*, 2002). Ces résultats indiquent donc que le gène *Zif268* n'est pas impliqué dans l'induction de la phase précoce de la PLT mais est nécessaire au maintien de la phase tardive de la PLT. Le même résultat a également été montré par ces auteurs sur des souris hétérozygotes pour le gène *Zif268*, suggérant que la présence d'un seul allèle du gène n'est pas suffisante pour maintenir à long terme une PLT (Jones *et al.*, 2001; Bozon *et al.*, 2002). Plus récemment, sur des souris conditionnelles qui surexpriment le gène *Zif268* en présence de Tamoxifen (Baumgärtel *et al.*, 2008), j'ai participé à une étude qui montre que la surexpression de ce gène ne modifie pas la transmission synaptique basale mais entraîne une augmentation de l'amplitude et de la durée de la PLT dans le GD de l'hippocampe in vivo, au moins jusqu'à 90 minutes après induction (voir article 3 en annexe, page 291).

L'ensemble de ces résultats reposant sur la perte ou le gain de fonction montre que le gène *Zif268* joue un rôle majeur dans le maintien à long terme de la PLT.

## B. Autres formes de plasticité

Comme nous l'avons vu précédemment, l'expression de *Zif268* peut être régulée lors de crises d'épilepsie, de stimulations électriques, de situations pathologiques (tolérance et dépendance aux drogues, stress physiologiques ou stress induit par des drogues, dépression) ou encore des lésions cérébrales (ischémie, hypoxie, sections des nerfs, neurodégénération, apoptose) (voir pour revue Hughes & Dragunow, 1995; Beckmann & Wilce, 1997; Herdegen & Leah, 1998; Veyrac *et al.*, 2014).

Des stimulations magnétiques transcraniennes *in vivo*, technique capable d'entraîner des changements de plasticité, induisent l'expression de *Zif268* dans diverses aires corticales (Aydin-Abidin *et al.*, 2008), comme c'est aussi le cas sur tranches de cerveau après induction de la PLT dans l'aire CA1 de l'hippocampe (Ranieri *et al.*, 2012). Des études réalisées sur la moelle épinière ont rapporté qu'un type particulier de PLT présent dans des neurones de la corne dorsale est associé à une augmentation de l'expression de *Zif268* et qu'au contraire cette PLT est sensible à la perte d'expression de ce gène (Rygh *et al.*, 2006).

A l'opposé de la PLT, il existe une autre forme de plasticité synaptique, la dépression à long terme (DLT) qui correspond à une diminution induite et durable de l'efficacité synaptique d'une population de neurones (Lynch *et al.*, 1977; Dudek & Bear, 1992). Plusieurs études ont analysé l'expression de *Zif268* dans ce type de plasticité mais les données disponibles n'ont pas fournies de conclusion claire. En effet, une DLT induite chimiquement sur des tranches organotypiques d'hippocampe *via* l'utilisation d'agonistes des récepteurs métabotropiques glutamatergiques de groupe I entraîne l'expression de plusieurs gènes immédiats précoces dont *Zif268* (Lindecke *et al.*, 2006), alors que l'induction d'une DLT dans l'aire CA1 *in vivo* par stimulations électriques n'entraîne aucune modification de l'expression de *Zif268* (Yilmaz-Rastoder *et al.*, 2011).

En conclusion, les études actuelles montrent que différentes formes de plasticité sont associées à une expression de *Zif268* dans les neurones activés et que la plasticité neuronale de type PLT dans le GD de l'hippocampe est dépendante de la présence de *Zif268*. La formation de traces mnésiques nécessitant des changements d'efficacité synaptique dans les réseaux de neurones activés et la PLT étant considérée comme un modèle de mécanismes cellulaires qui sous-tend la mise en mémoire d'informations nouvelles *via* des modifications d'efficacité synaptique (voir partie 1, chapitre 1, II.D, page 25), plusieurs études ont cherché à comprendre le rôle de ce gène dans les processus d'apprentissage et de mémoire.

### III. Zif268 et mémoire

#### A. Apprentissage et consolidation mnésique

De nombreuses données ont montré que l'expression de *Zif268* est sensible à différentes modifications de l'environnement comme la détection de nouveauté ou des expériences dans divers contextes d'apprentissage et ce dans différentes structures du cerveau de différentes espèces (voir pour revue Davis *et al.*, 2003a; Knapska & Kaczmarek, 2004; Veyrac *et al.*, 2014).

Chez le primate, le cortex temporal est impliqué dans l'encodage et le stockage de la mémoire associative visuelle, une forme de mémoire déclarative (voir pour revue Davis *et al.* 2003). Un apprentissage associatif de paires d'items visuels chez le macaque induit une expression de l'ARNm et de la protéine *Zif268* dans le lobe temporal antérieur mais pas de *c-Fos* ni de *JunD*, et cette expression de *Zif268* est spécifique de l'apprentissage puisqu'une tâche de discrimination visuelle sans apprentissage n'induit pas l'expression de ce gène (Okuno & Miyashita, 1996; Tokuyama *et al.*, 2002).

Chez les oiseaux, l'expression du gène *Zenk*, l'homologue aviaire de *Zif268*, est régulée dans différents contextes d'apprentissage (voir pour revue Clayton, 2013). Par exemple, chez les canaris et les diamants mandarins, la présentation du chant d'un oiseau de la même espèce ou d'un chant familier, l'apprentissage du chant du tuteur ou encore un apprentissage associatif d'un son avec un choc électrique augmentent l'expression de *Zenk* (ARNm et protéine) dans le Nidopallium caudomedian (NCM), une aire auditive analogue du cortex auditif, et le HVC, structure impliquée dans l'apprentissage du chant (Mello *et al.*, 1992; Jarvis *et al.*, 1995; Bolhuis *et al.*, 2000; Kruse *et al.*, 2004; Vignal *et al.*, 2005; Gobes *et al.*, 2009). Ces données suggèrent que *Zenk* est impliqué dans différents processus requis pour la perception et l'apprentissage du chant.

Le plus grand nombre d'études qui se sont intéressées au rôle du gène *Zif268* dans les processus mnésiques ont été réalisées chez les rongeurs (voir pour revue Davis *et al.*, 2003a; Knapska & Kaczmarek, 2004; Veyrac *et al.*, 2014).

#### 1. *Zif268* et conditionnement de peur

Plusieurs études de l'expression de *Zif268* en lien avec l'apprentissage ont été réalisées dans le paradigme de peur conditionnée. Les premières études montraient que l'expression de *Zif268* augmente dans l'aire CA1 de l'hippocampe après acquisition dans une tâche de peur conditionnée au contexte, mais cette activation semblait non spécifique de l'apprentissage et plutôt due à la détection de la nouveauté (Hall *et al.*, 2000, 2001). De plus, Malkani & Rosen ne montraient pas d'expression de *Zif268* dans l'hippocampe après cette même tâche

(Malkani & Rosen, 2000). Néanmoins, un certain nombre d'auteurs ont pu détecter une expression du gène *Zif268* dans l'hippocampe après une tâche de conditionnement de peur. En effet, Lonergan et coll. montrent que 30 minutes après un conditionnement de peur, l'expression de *Zif268* augmente graduellement dans l'aire CA1 et le GD de l'hippocampe dorsal pour atteindre un pic d'expression au bout de 60 minutes (Lonergan *et al.*, 2010), délai correspondant à la période de synthèse protéique en lien avec la consolidation mnésique. De même, une étude récente réalisée au laboratoire montre que l'expression de *Zif268* augmente dans le GD de l'hippocampe après l'apprentissage et le rappel d'une tâche de conditionnement de peur (Besnard *et al.*, 2013b). Une augmentation de la liaison de *Zif268* sur ses séquences d'ADN cibles ERE a d'ailleurs été observée dans l'aire CA1 de l'hippocampe suite à l'acquisition et au rappel d'un conditionnement aversif en 1 essai (Cheval *et al.*, 2011), indiquant ainsi une expression fonctionnelle de ce gène dans l'hippocampe lors de la consolidation de ce type de mémoire. Au niveau de l'amygdale, les données présentent également des divergences puisqu'il a été montré une augmentation de l'expression de *Zif268* spécifique de l'apprentissage d'une tâche de conditionnement de peur au contexte ou à un son dans le noyau latéral (Malkani & Rosen, 2000; Maddox *et al.*, 2011), alors que Hall et coll. montrent que cette augmentation n'est pas spécifique de l'apprentissage car elle est également observée chez les sujets contrôles (Hall *et al.*, 2000). Les résultats sur le rappel de l'information sont également contradictoires : Malkani & Rosen montrent que l'expression de *Zif268* dans l'amygdale n'est pas modifiée lors du rappel 24 heures après apprentissage (Rosen *et al.*, 1998; Malkani & Rosen, 2000), tandis que d'autres auteurs observent une augmentation de l'expression de *Zif268* dans l'amygdale ainsi que dans l'aire CA1 de l'hippocampe (Hall *et al.*, 2001; Maddox *et al.*, 2011). Thomas et coll. ont montré que le rappel dans une tâche de peur conditionnée au contexte s'accompagne de l'activation de *Zif268* dans des circuits cérébraux plus larges, incluant l'hippocampe, le noyau accumbens et le cortex cingulaire (Thomas *et al.*, 2002). Les différences de résultats observées au niveau de l'amygdale et de l'hippocampe entre ces études peuvent être expliquées par les différents protocoles comportementaux et techniques d'analyse de l'expression de *Zif268* (ARNm et protéine) utilisés dans les différentes études (Davis *et al.* 2003; Knapska & Kaczmarek 2004; Weitemier & Ryabinin 2004; Maddox *et al.* 2011).

L'inactivation de l'expression du gène *Zif268* permet de tester directement le rôle fonctionnel de ce gène dans l'acquisition et la rétention d'un conditionnement de peur. Les études menées au laboratoire sur cette tâche chez les souris *Zif268*<sup>-/-</sup> ne montrent pas d'altération d'acquisition de l'association mais montrent un déficit de consolidation à long terme (Besnard *et al.*, 2013a). De plus, les souris *Zif268*<sup>+/-</sup> ne présentent pas de déficit de consolidation d'une tâche de conditionnement de peur (Besnard *et al.*, 2013a) suggérant que 50% de l'expression de *Zif268* est suffisante pour la consolidation de ce type de mémoire. Néanmoins, l'utilisation d'un modèle de souris transgénique n'exprimant pas le gène *Zif268* de façon globale ne

permet pas d'identifier précisément les structures dans lesquelles ce gène est essentiel pour la formation de ce type de mémoire. Certains auteurs ont donc bloqué spécifiquement l'expression de ce gène dans l'amygdale et/ou l'hippocampe *via* l'utilisation d'oligonucléotides antisens (Lee *et al.*, 2004; Malkani *et al.*, 2004; Maddox *et al.*, 2011). Lee et coll. ont testé l'effet de ce blocage au niveau de l'hippocampe mais, avec une diminution de 66% de l'expression de la protéine Zif268 *in fine* dans l'aire CA1, ils ne montrent aucun effet sur la consolidation, alors qu'ils montrent un effet sur la reconsolidation (voir III.C, page 168; Lee *et al.* 2004), suggérant que Zif268 dans l'aire CA1 de l'hippocampe n'est pas nécessaire à la consolidation d'une mémoire de conditionnement de peur au contexte. Il est toutefois possible que les 30 à 40% des protéines encore exprimés soient suffisants pour la consolidation de ce type de mémoire. En utilisant la même approche, Malkani et coll. ont infusé des oligonucléotides antisens dans l'amygdale et ont montré que le blocage de 11 à 25% de l'expression de la protéine Zif268 avant le conditionnement suffit à induire un déficit de consolidation mnésique dépendant de la dose (Malkani *et al.*, 2004). De même, Maddox et coll. montrent que le blocage de 50% de l'expression de la protéine Zif268 dans l'amygdale altère la rétention à long terme d'une mémoire de peur associée à un son mais pas de l'apprentissage ni de la rétention à court terme (Maddox *et al.*, 2011).

Le gène Zif268 est nécessaire à la consolidation d'une mémoire de peur. Néanmoins l'implication de ce gène dans l'amygdale, l'hippocampe et dans d'autres structures lors des différentes phases de la consolidation mnésique reste à préciser car la quantité du gène Zif268 nécessaire dans ces aires cérébrales semble différente en fonction de la phase de mémorisation.

## 2. Zif268 et mémoires non spatiales

L'induction de l'expression et le rôle de Zif268 ont aussi été étudiés dans différentes mémoires non-spatiales comme la mémoire olfactive, la transmission sociale de préférence alimentaire, l'aversion gustative conditionnée ainsi que la reconnaissance d'objets. Dans la plupart de ces tâches, la mémorisation de l'information est rapide et nécessite un nombre d'essais limité. La première mise en évidence de la régulation de Zif268 dans un contexte d'apprentissage simple a été réalisée par Nikolaev et coll. en 1992 en montrant une augmentation rapide et transitoire de l'expression de ce gène dans l'hippocampe suite à un apprentissage d'évitement actif (Nikolaev *et al.*, 1992). Le même résultat a été observé dans le cas d'un apprentissage de discrimination lumineuse (Grimm & Tischmeyer, 1997).

Les rongeurs présentent une tendance naturelle à l'exploration de nouveaux objets et cette faculté est souvent utilisée dans les tâches de mémoire de reconnaissance d'objets. En

l'absence du gène *Zif268*, les souris ne présentent pas de déficit d'exploration du nouvel objet 10 minutes après sa présentation, alors que 24 heures après l'objet familier a été oublié (Jones *et al.*, 2001; Bozon *et al.*, 2002), suggérant que ce gène est nécessaire à la mémoire de reconnaissance d'objets à long terme. Néanmoins, chez les souris *Zif268*<sup>-/-</sup>, le sur-apprentissage dans cette tâche permet la formation d'une mémoire à long terme (Bozon *et al.*, 2003a), suggérant que le sur-apprentissage pourrait recruter d'autres voies de régulations transcriptionnelles permettant de compenser l'absence de *Zif268*. De plus, la réduction de l'expression de ce gène chez les souris *Zif268*<sup>+/-</sup> ne perturbe pas la reconnaissance du nouvel objet à 24 heures (Bozon *et al.*, 2002), suggérant que l'expression partielle de *Zif268* est suffisante pour la consolidation à long terme de ce type de mémoire.

Les rongeurs présentent également une prédisposition naturelle à la préférence d'odeurs nouvelles lorsqu'elles sont présentées en même temps que des odeurs déjà rencontrées, c'est une forme de mémoire olfactive. L'exposition à une odeur nouvelle induit une augmentation de l'expression de *Zif268* dans les cellules granulaires du BO jusqu'à ce que celle-ci devienne familière (Busto *et al.*, 2009), suggérant un rôle du gène *Zif268* dans la familiarisation des odeurs. De plus, un apprentissage associatif de discrimination d'odeurs, même s'il n'entraîne pas d'augmentation globale de l'expression de *Zif268* dans les cellules granulaires, induit une réorganisation spatiale de son expression au sein de cette population cellulaire en lien avec les odeurs discriminées (Busto *et al.*, 2009). De même, un apprentissage perceptif olfactif induit une augmentation régionalisée de l'expression de *Zif268* dans les cellules granulaires du BO qui pourrait être impliquée dans l'inhibition des cellules mitrales et favoriser la discrimination d'odeurs proches (Mandairon *et al.*, 2008; Mandairon & Linster, 2009). Par ailleurs, les femelles sont capables de former une mémoire des odeurs des mâles avec lesquels elles se sont accouplées afin de les reconnaître par la suite. Brennan *et coll.* ont montré que l'expression de *Zif268* augmente de façon transitoire dans les cellules granulaires et mitrales du BO accessoire impliqué dans le traitement des phéromones suite à l'accouplement (Brennan *et al.*, 1990) et pendant la formation de ce type de mémoire (Brennan *et al.*, 1992). Ces mêmes auteurs ont également observé une augmentation de l'expression de *Zif268* dans le BO accessoire de souris femelles en réponse à l'exposition à des constituants phéromonaux (Brennan *et al.*, 1999), renforçant ainsi le lien entre l'expression de *Zif268* dans cette structure cérébrale olfactive et la formation d'une mémoire de ce type d'odeurs chez la femelle. A contrario, une étude réalisée chez la ratte montre une augmentation de l'expression de *Zif268* en association avec l'accouplement dans l'amygdale, l'hypothalamus mais pas dans le BO accessoire (Polston & Erskine, 1995). L'ensemble de ces données montre un lien entre l'induction de l'expression du gène *Zif268* dans le BO et la formation d'une mémoire des odeurs biologiques ou associées à un conditionnement.

En aversion gustative conditionnée, une augmentation de l'expression de *Zif268* a été mise en évidence dans diverses aires cérébrales dont l'amygdale et l'hippocampe (Lamprecht &

Dudai, 1995; Dardou *et al.*, 2006). De plus, l'absence de *Zif268*, même partielle, induit un déficit de cette association à long terme (Jones *et al.*, 2001), alors que sa surexpression dans l'amygdale lors de l'acquisition de l'association induit un renforcement de la trace permettant une meilleure résistance à l'extinction (Baumgärtel *et al.*, 2008). Dans une autre tâche associative – la transmission sociale de préférences alimentaires – l'absence de *Zif268*, même partielle, entraîne un déficit de mémoire à long terme, sans atteinte de la mémoire à court terme (Jones *et al.*, 2001).

Récemment, le rôle du gène *Zif268* a été étudié dans une tâche de conditionnement opérant dans laquelle des souris sont conditionnées à mettre leur museau dans un port afin d'obtenir de la nourriture. Les auteurs montrent une augmentation de l'expression de *Zif268* dans le striatum et le noyau accumbens uniquement lors de la première phase du conditionnement, c'est-à-dire avant que la tâche ne soit acquise. À l'inverse, l'absence de *Zif268* chez les souris mutantes induit un déficit d'apprentissage lors des premières séances uniquement, suggérant que le gène *Zif268* est requis au début du conditionnement opérant (Maroteaux *et al.*, 2014).

L'ensemble de ces données indique que le gène *Zif268* participe à la formation et à la consolidation de mémoires non spatiales dans différentes aires cérébrales.

### 3. *Zif268* et mémoires spatiales

Dans la tâche de piscine de Morris (Morris *et al.*, 1982; Moser *et al.*, 1993, 1995), plusieurs groupes montrent l'existence de corrélations entre l'induction rapide et transitoire de l'expression de *Zif268* dans l'hippocampe et les performances mnésiques des animaux dans cette tâche, et ce dans sa version spatiale (plate-forme invisible) dépendante de l'hippocampe comme dans la version indiquée (plate-forme visible) indépendante de l'hippocampe (Guzowski *et al.*, 2001; Feldman *et al.*, 2010). Dans la version spatiale, l'induction de l'expression de *Zif268* est importante lors des 3 premières séances d'apprentissage mais pas lors des suivantes, suggérant un rôle important de ce gène dans les premières phases de l'apprentissage (Guzowski *et al.*, 2001). De plus, l'induction de l'expression de *Zif268* dans l'hippocampe dorsal est plus forte dans un protocole d'apprentissage massé sur une journée que dans un protocole distribué sur plusieurs jours, renforçant l'idée que *Zif268* pourrait être nécessaire dès les phases précoces de l'apprentissage. En utilisant des protocoles de mémoire spatiale en labyrinthe radial (Olton & Samuelson, 1976; Olton *et al.*, 1977; Olton & Papas, 1979; Suzuki *et al.*, 1980), l'apprentissage induit également une expression de *Zif268* dans l'hippocampe (Maviel *et al.*, 2004; Poirier *et al.*, 2008a). De même, l'expression de *Zif268* dans les cellules granulaires du GD de l'hippocampe est augmentée lorsque les animaux explorent plusieurs objets dans une enceinte puis qu'ils y sont remis en présence d'un des objets déjà rencontrés dans une position spatiale différente (Soulé *et al.*, 2008; Winters *et al.*, 2008). Plus récemment, une étude montre une modification des motifs d'expression de *Zif268*

dans des cellules granulaires du GD de l'hippocampe en fonction de la trace mnésique réactivée (Satvat *et al.*, 2011).

L'ensemble de ces données suggère que le gène *Zif268* pourrait être impliqué dans la mémoire spatiale mais ne démontre pas qu'il est nécessaire à la formation de cette mémoire. Le rôle fonctionnel de *Zif268* dans la mémoire spatiale a été étudié pour la première fois chez des souris *Zif268*<sup>-/-</sup>. L'absence de *Zif268*, même partielle chez les souris *Zif268*<sup>+/-</sup>, entraîne un déficit sévère de rétention à long terme (48 heures) dans un protocole massé en piscine de Morris (Jones *et al.*, 2001), ainsi qu'un déficit de rétention à long terme (24 heures) dans la tâche de reconnaissance d'objets en version spatiale (Bozon *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent que le gène *Zif268* est nécessaire à l'acquisition et à la consolidation d'une mémoire spatiale à long terme. Plus récemment, j'ai participé à une étude sur des souris surexprimant le gène *Zif268*, et nous avons montré que dans la tâche de reconnaissance de la localisation spatiale d'objets, ces souris présentent des capacités de mémorisation à long terme (1 et 3 jours) améliorées par rapport à des souris sauvages (voir article Penke *et al.* 2013 en annexe, page 291), renforçant ainsi l'idée que *Zif268* joue un rôle crucial dans la consolidation mnésique.

La mémoire spatiale repose sur l'exploration de l'environnement et la formation au sein de l'hippocampe d'une carte spatiale de cet environnement *via* les décharges des cellules pyramidales de l'aire CA1 de l'hippocampe. Ces cellules, appelées les cellules de lieu, présentent la particularité d'émettre préférentiellement des potentiels d'action lorsque l'animal se situe à un endroit particulier dans un environnement donné et ce de façon particulièrement stable sur le long terme (O'Keefe & Dostrovsky, 1971; Muller & Kubie, 1987; Muller *et al.*, 1987; Thompson & Best, 1990; Wilson & McNaughton, 1993; Poucet *et al.*, 1994). Ces cellules sont essentielles à la formation d'une mémoire spatiale (voir pour revue Moser *et al.* 2015). Alors que les propriétés électrophysiologiques de base de ces cellules ne sont pas altérées en l'absence de *Zif268* chez la souris, la carte des cellules de lieu d'un environnement familier après une exposition à un nouvel environnement est déstabilisée à court terme. De plus, les souris présentent un déficit de formation et de stabilisation d'une représentation neuronale d'un environnement nouveau (Renaudineau *et al.*, 2009). Ces données suggèrent que les déficits de mémoire spatiale en l'absence de *Zif268* pourraient être dus à une altération de la stabilité des représentations neuronales des environnements encodés.

En résumé, de nombreuses données montrent que le gène *Zif268* est essentiel à la consolidation à long terme de différentes formes de mémoires spatiales.

## B. *Zif268* et consolidation systémique

Comme nous l'avons déjà vu dans l'introduction (voir partie 1, chapitre 1, I.C, page 12), certaines données suggèrent que l'hippocampe serait majoritairement impliqué dans la formation et le stockage initial de mémoires récentes (quelques jours), alors que le cortex préfrontal incluant le cortex cingulaire antérieur et des aires prélimbiques pourrait prendre en charge le stockage de mémoires plus anciennes (quelques semaines) (Frankland & Bontempi, 2005). Nous avons vu dans la partie précédente que le gène *Zif268* participe à la consolidation d'une mémoire récente notamment au niveau de l'hippocampe ; plusieurs études se sont donc intéressées à l'expression de ce gène dans diverses aires corticales afin de savoir s'il participe à la consolidation de mémoires anciennes. Vingt-quatre heures après un apprentissage spatial en labyrinthe radial, Maviel et coll. montrent une surexpression post-rappel de *Zif268* dans l'hippocampe et le cortex cingulaire postérieur, mais pas dans le cortex préfrontal (prélimbique et infralimbique), le cortex retrosplénial, ni dans le cortex cingulaire antérieur. A l'inverse, ils montrent une surexpression de *Zif268* dans le cortex préfrontal (prélimbique et infralimbique), dans le cortex retrosplénial et dans le cortex cingulaire antérieur lors du rappel à très long terme (30 jours) (Maviel *et al.*, 2004). Comme l'inactivation de l'hippocampe et du cortex cingulaire postérieur avec de la lidocaïne induit un déficit de mémoire récente, alors que l'inactivation du cortex préfrontal (prélimbique et infralimbique) et du cortex cingulaire antérieur induit uniquement un déficit de mémoire ancienne (Maviel *et al.*, 2004), ces données suggèrent que l'induction différentielle de *Zif268* dans les aires hippocampiques et préfrontales pourrait participer à la consolidation systémique d'une mémoire ancienne. Néanmoins, Tse et coll. montrent que l'intégration de nouvelles informations associatives dépendantes de l'hippocampe qui sont intégrées dans un schéma cortical préexistant est immédiatement associée à une expression rapide de *Zif268* dans le cortex cingulaire (Tse *et al.*, 2011). Plus récemment, il a été montré que la consolidation mnésique induit des modifications épigénétiques au niveau du promoteur de *Zif268* de façon rapide et transitoire dans l'hippocampe et plus tardive et durable dans le cortex préfrontal (Gräff *et al.*, 2012). Par ailleurs, le blocage de ces modifications altère la consolidation mnésique alors que leur renforcement la favorise (Gräff *et al.*, 2012), suggérant que *Zif268* joue un rôle majeur dans les processus épigénétiques qui sous-tendent la consolidation systémique.

Ces quelques données montrent que le gène *Zif268* est impliqué dans la consolidation d'une mémoire récente ou ancienne dans diverses aires du cerveau. Néanmoins, les mécanismes qui sous-tendent la consolidation systémique sont à ce jour largement méconnus et le rôle fonctionnel de l'induction de l'expression du gène *Zif268* dans les aires préfrontales lorsqu'elles deviennent importantes pour le rappel d'un souvenir ancien, restent à déterminer.

## C. Reconsolidation mnésique

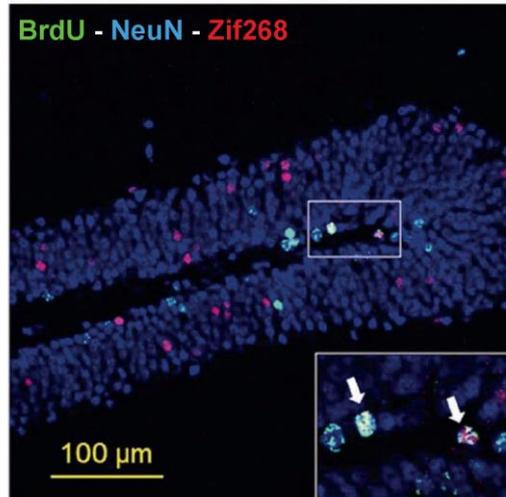
Pendant longtemps, l'idée dominante était qu'une fois consolidés, les souvenirs sont stockés de façon permanente dans les circuits neuronaux. Cependant, malgré quelques données anciennes, c'est seulement au cours des dix dernières années que ce dogme a été largement contesté et que l'idée que la mémoire est un processus dynamique en reconstruction permanente a émergé. Alors que la consolidation systémique est considérée comme un processus lent de remodelage des circuits cérébraux de la mémoire au cours du temps, il existe de nombreuses évidences que lors du rappel, les souvenirs peuvent entrer de nouveau dans un état d'instabilité transitoire après quoi ils peuvent être renforcés, modifiés ou perdus (Lee, 2009; Nader & Hardt, 2009; Besnard *et al.*, 2012). Pendant le rappel, la réactivation d'une mémoire précédemment consolidée peut la déstabiliser et initier un nouveau processus de consolidation appelé reconsolidation. Bien que de nombreuses études soutiennent l'idée que les mécanismes qui sous-tendent la reconsolidation ne sont pas strictement les mêmes que ceux impliqués dans la consolidation, la mise en évidence d'une induction de l'expression de *Zif268* après le rappel dans plusieurs tâches d'apprentissage (Hall *et al.*, 2001; Thomas *et al.*, 2002; voir pour revue Veyrac *et al.*, 2014) et ce dans plusieurs régions du cerveau (hippocampe, amygdale, noyau accumbens, cortex préfrontal) pose la question du rôle de ce gène dans les processus qui suivent le rappel mnésique. Suite au rappel d'une mémoire de peur au contexte, le promoteur de *Zif268* subit des modifications épigénétiques (phosphorylation et acétylation des histones H3), suggérant une régulation transcriptionnelle de l'expression de ce gène (Lubin & Sweatt, 2007; Gräff *et al.*, 2012) et donc un rôle potentiel de ce dernier dans la reconsolidation mnésique. Dans le cas de la reconsolidation d'une mémoire de peur, le blocage de l'expression de *Zif268* par des oligonucléotides antisens dans l'hippocampe ou dans l'amygdale entraîne un déficit de reconsolidation (Lee *et al.*, 2004, 2005; Maddox *et al.*, 2011). En outre, l'absence de *Zif268* chez les souris mutantes entraîne un déficit de reconsolidation à long terme dans une tâche de reconnaissance d'objets dans ses versions spatiale et non-spatiale (Bozon *et al.*, 2003a; voir pour revue Davis *et al.*, 2010). Cependant, l'induction de l'expression de *Zif268* suite au rappel d'une mémoire de peur ne suit pas la même cinétique que lors de sa consolidation. En effet, dans l'aire CA1 de l'hippocampe, la fixation de *Zif268* à sa séquence consensus ERE est plus rapide lors du rappel d'une mémoire de peur que lors de son acquisition (Cheval *et al.*, 2011). De même, l'induction de l'expression de *Zif268*, bien que présente après la consolidation et la reconsolidation d'une mémoire de peur liée au contexte, est plus faible dans le GD de l'hippocampe lors de la reconsolidation (Besnard *et al.*, 2013b). Ces mêmes auteurs montrent que les souris *Zif268*<sup>-/+</sup>, alors qu'elle ne présentent pas de déficit lors de la consolidation mnésique d'une mémoire de peur, montrent un déficit de reconsolidation (Besnard *et al.*, 2013a).

L'ensemble de ces données suggèrent que le niveau d'expression de *Zif268* est finement régulé lors des différentes phases de la formation d'une mémoire et que l'induction de ce gène est tout aussi critique au moment de la reconsolidation que lors de sa consolidation initiale (Bozon *et al.*, 2003a; Besnard *et al.*, 2012).

En résumé, le gène *Zif268* est exprimé lors de l'acquisition et du rappel de nombreuses formes de mémoires et dans différentes structures cérébrales en fonction de l'implication de ces structures dans les tâches en jeu. C'est en particulier le cas dans l'hippocampe lorsque les tâches présentent une composante spatiale ou contextuelle. L'activation de *Zif268* est nécessaire à la consolidation uniquement à long terme de ces différentes formes de mémoires ainsi qu'à la reconsolidation post-rappel, alors que la surexpression de ce gène peut à l'inverse renforcer certaines formes de mémoires. De plus, même s'il n'existe pas une relation simple entre la « quantité » de la protéine dans les neurones et le niveau des performances comportementales, un seuil minimum d'activation du gène *Zif268* est nécessaire à la consolidation des souvenirs et ce seuil est différent en fonction de la complexité de la tâche ou du type de mémoire impliqué, avec une sensibilité particulièrement importante à l'absence de *Zif268* lorsque la demande spatiale de la tâche augmente. Enfin, nous avons vu que le maintien de la plasticité synaptique est fortement altéré en l'absence de *Zif268*. Ceci suggère que l'induction rapide et transitoire de *Zif268* joue un rôle essentiel dans les mécanismes moléculaires qui sous-tendent le remodelage fonctionnel des réseaux neuronaux nécessaires à la consolidation mnésique.

#### IV. *Zif268* et neurogenèse hippocampique

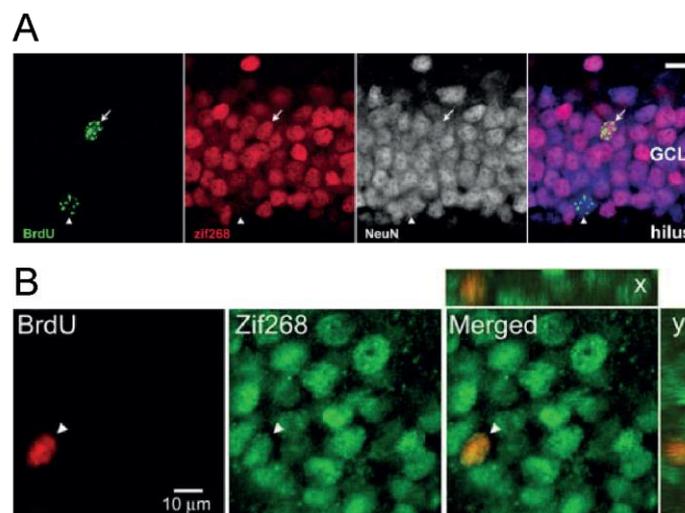
Le rôle de *Zif268* dans la neurogenèse adulte n'est pas connu, mais son expression dans les neurones néoformés de l'hippocampe a été utilisée comme un marqueur d'activation de ces neurones dans diverses situations. Quelques études fournissent des précisions sur sa cinétique d'expression en relation avec la maturation des neurones néoformés du GD de l'hippocampe. Dans des conditions basales, une faible proportion (2%) de neurones néoformés âgés de 4 à 6 semaines exprime *Zif268*. Néanmoins, cette proportion est plus importante que la proportion des neurones matures préexistants exprimant *Zif268*, qui est d'environ 0,5% (Figure 54; Tashiro *et al.*, 2007; Clark *et al.*, 2012; Snyder *et al.*, 2012a).



**Figure 54 : Expression basale de Zif268 dans des nouveaux neurones du GD**

Exemple de nouveaux neurones âgés de 30 – 40 jours. Bleu : NeuN ; Rouge : Zif268 ; Vert : BrdU. Extrait de Clark *et al.* 2012.

L'expression de Zif268 dans les neurones néoformés peut cependant être régulée par différentes manipulations, comme l'induction de crises épileptiques, l'induction d'une PLT, l'exposition à un nouvel environnement ou à un environnement enrichi, l'exercice, l'apprentissage spatial ou encore le rappel d'une mémoire (Figure 55; voir pour revue Marín-Burgin & Schinder, 2012; Veyrac *et al.*, 2014).



**Figure 55 : Induction de l'expression de Zif268 dans des nouveaux neurones du GD**

**A.** Expression de Zif268 dans des nouveaux neurones âgés de 21 jours suite à l'induction de crises épileptiques par le kainate. Gris : NeuN ; Rouge : Zif268 ; Vert : BrdU. Extrait de Snyder *et al.* 2009. **B.** Expression de Zif268 dans des nouvelles cellules âgées de 2 semaines suite à l'induction d'une PLT par stimulation du faisceau perforant. Rouge : BrdU ; Vert : Zif268. Extrait de Bruel-Jungermann *et al.* 2006.

Expérimentalement, Zif268 est induit de façon massive dans les neurones néoformés de l'hippocampe suite à des crises épileptiques consécutives à l'injection d'acide kaïnique ou du Pentylentetrazol, à l'induction d'une PLT ou encore par le stress (Figure 55; Jessberger & Kempermann, 2003; Snyder *et al.*, 2009a, 2009b; Jungenitz *et al.*, 2013). Ces stimulations induisent aussi une forte expression de Zif268 au sein de la population des neurones matures préexistants du GD (50 à 100% de la population des neurones préexistants) (voir I.B.2, page 152 ; Jessberger & Kempermann 2003; Jungenitz *et al.* 2013). Dans tous ces cas la proportion de jeunes nouveaux neurones exprimant Zif268 est relativement faible au regard de l'ensemble de la population neuronale, mais elle augmente au cours de leur maturation jusqu'à atteindre un niveau d'activation comparable à celui des neurones préexistants (Jessberger & Kempermann, 2003; Snyder *et al.*, 2009a; Jungenitz *et al.*, 2013). Jungenitz *et al.* montrent que l'expression de Zif268 est présente principalement dans des cellules DCX positives de stade 6, c'est-à-dire ayant déjà atteint un certain stade de maturation, lorsque qu'elles présentent des prolongements dendritiques qui atteignent la couche moléculaire du GD (Jungenitz *et al.*, 2013). Néanmoins, Snyder et coll. montrent que l'expression de Zif268 peut être aussi observée dans des nouveaux neurones dès l'âge de 2 semaines après leur naissance chez le rat et de 3 semaines chez la souris (Snyder *et al.*, 2009a), c'est-à-dire dès le début de leur période critique d'intégration fonctionnelle au sein des réseaux hippocampiques. De même, au laboratoire, il a été montré que l'induction d'une PLT dans le GD de l'hippocampe induit une augmentation de l'expression de Zif268 dans les cellules néoformées dès l'âge de 2 semaines, mais pas dans celles âgées de 1 semaine, encore trop immatures (Figure 55 ; Bruel-Jungerman *et al.* 2006), suggérant que les nouveaux neurones doivent avoir atteint un niveau de maturation suffisant pour qu'ils induisent Zif268.

Lors de manipulations comportementales, la proportion de nouveaux neurones exprimant Zif268 est généralement faible. Par exemple, l'exposition à un nouvel environnement ou à un environnement enrichi induit une expression de Zif268 dans les nouveaux neurones âgés de 6 semaines, mais cette induction n'est pas quantitativement différente de celle observée dans les neurones préexistants de l'hippocampe (Tashiro *et al.*, 2007). Par contre, l'exposition à un nouvel environnement, l'exercice ou la nage induisent une activation préférentielle de Zif268 dans les neurones néoformés âgés de 4 à 5 semaines (Clark *et al.*, 2012). Ces données semblent indiquer que lorsque les nouveaux neurones ont achevé leur maturation et qu'ils sont intégrés aux réseaux neuronaux hippocampiques, Zif268 peut être induit de la même façon que dans les neurones préexistants, alors que lorsqu'ils sont plus jeunes, la proportion de ces nouveaux neurones exprimant Zif268 est plus importante, quelle que soit la manipulation comportementale considérée. Lors d'un apprentissage spatial en piscine de Morris, une augmentation de l'expression de Zif268 est observée dans les cellules néoformées dès l'âge de 3 semaines chez la souris et dès 2 semaines chez le rat (Snyder *et al.*, 2009a, 2009b). Alors que chez la souris, l'expression de Zif268 augmente

progressivement au cours de la maturation des cellules néoformées dans cette tâche, elle présente un pic d'expression chez le rat lors de la troisième semaine de maturation (Snyder *et al.*, 2009a). Ces données suggèrent que l'expression de *Zif268* pourrait être induite de façon préférentielle dans les nouveaux neurones dès le début de leur période critique d'intégration au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe. Par ailleurs, une étude montre que le rappel d'une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris induit une expression de *Zif268* dans les nouveaux neurones, principalement de l'hippocampe dorsal, âgés de 20 jours au moment du rappel (Chow *et al.*, 2013). Enfin, Trouche *et al.* montrent que des neurones âgés de seulement 9 jours au moment d'un apprentissage massé en piscine de Morris, expriment fortement *Zif268* lorsque les souris sont soumises au réapprentissage du même emplacement de la plate-forme 6 semaines après (Trouche *et al.* 2009). Ces données laissent penser que l'induction préférentielle de *Zif268* dans des nouveaux neurones qui étaient très jeunes au moment de l'acquisition pourrait refléter leur participation dans un processus de renforcement de la trace à long terme et/ou à la reconsolidation d'une mémoire spatiale.

L'ensemble de ces données indique que l'expression de *Zif268* est induite dans les nouveaux neurones dans différentes situations expérimentales d'activation neuronale et suite à diverses modifications environnementales liées à l'exercice physique, l'encodage de la nouveauté, de la complexité et de la consolidation d'informations nouvelles impliquant l'hippocampe. Néanmoins, l'expression de *Zif268* se fait préférentiellement dans les nouveaux neurones uniquement durant leur période critique d'intégration au sein des réseaux neuronaux préexistants (1 à 3 semaines après la naissance des neurones néoformés) (voir pour revue Aasebø *et al.*, 2011).

En conclusion, l'ensemble des recherches effectuées à ce jour sur le rôle fonctionnel du gène *Zif268* dans le domaine montre que celui-ci est un acteur essentiel de la plasticité synaptique et des processus mnésiques. Le fait que *Zif268* puisse par ailleurs être préférentiellement induit dans les nouveaux neurones engagés dans la consolidation d'une mémoire spatiale amène à proposer que l'induction de ce gène pourrait conditionner la participation des nouveaux neurones de l'hippocampe aux processus de plasticité synaptique qui sous-tendent la formation de mémoires à long terme dépendantes de l'hippocampe.

# Objectifs

---

## ***Zif268*, neurogenèse et mémoire**

La plasticité neuronale de type PLT ainsi que la consolidation et la reconsolidation de mémoires anciennes dépendantes de l'hippocampe nécessitent l'expression du gène immédiat précoce *Zif268*. Etant donné l'implication de la neurogenèse adulte hippocampique dans les processus mnésiques dépendants de l'hippocampe, nous nous sommes intéressés au rôle de ce gène dans le processus de neurogenèse adulte. Dans le cadre de l'étude de la neurogenèse adulte, le gène immédiat précoce *Zif268* est principalement utilisé comme marqueur d'activation et d'intégration des nouveaux neurones lors de leur participation aux processus mnésiques dépendants de l'hippocampe. Néanmoins, le rôle de ce gène dans la neurogenèse adulte hippocampique n'a jamais été étudié. La deuxième partie du travail de recherche présenté dans ce manuscrit a consisté à analyser pour la première fois le rôle du gène immédiat précoce *Zif268* dans les différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique, depuis la prolifération des cellules progénitrices jusqu'à l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe. Il s'est articulé autour de plusieurs objectifs :

- 1/ Etudier le rôle du gène immédiat précoce *Zif268* dans la prolifération et la survie des nouvelles cellules du GD de l'hippocampe.
- 2/ Etudier le rôle de ce gène dans la maturation fonctionnelle des nouveaux neurones du GD de l'hippocampe.
- 3/ Etudier le rôle potentiel de ce gène dans les mécanismes moléculaires de recrutement des nouveaux neurones lors de la formation d'une mémoire spatiale en piscine de Morris et de son rappel à long terme.



## Résultats

---

# Le rôle du gène *Zif268* dans la neurogenèse adulte hippocampique

Comme mentionné dans l'introduction, l'induction de l'expression de *Zif268* dans le cadre des études sur la neurogenèse adulte est toujours utilisée comme un marqueur d'activation et d'intégration des neurones néoformés suite à des manipulations comportementales. Or, le rôle fonctionnel du gène *Zif268* et de son expression dans les processus de neurogenèse adulte hippocampique n'a jamais été étudié. Dans cette étude, nous avons donc exploré le rôle de ce gène dans les différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique, depuis la prolifération des cellules progénitrices jusqu'à à l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe. Par ailleurs, comme le gène *Zif268* joue un rôle critique dans les processus mnésiques liés aux fonctions de l'hippocampe, nous avons recherché si ce gène participait aux mécanismes moléculaires qui sous-tendent l'implication des nouveaux neurones hippocampiques dans la formation d'une mémoire spatiale et son rappel à long terme.

### I. Le gène *Zif268* contrôle la sélection des nouveaux neurones durant une période critique de leur maturation

La première série d'expériences visait à évaluer l'impact de l'absence du gène *Zif268* sur les différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique. Pour cela, nous avons utilisé les souris mutantes homozygotes *Zif268*<sup>-/-</sup> (KO), chez lesquelles l'expression de *Zif268* est absente, et les souris hétérozygote *Zif268*<sup>+/-</sup> (HET), chez lesquelles l'expression de *Zif268* est de moitié inférieure à celle des animaux sauvages (WT). Dans un premier temps, nous avons étudié la prolifération des cellules progénitrices chez les souris WT et KO 4 heures après une seule injection de BrdU (50 mg/kg). La quantification stéréologique des noyaux ayant incorporé la BrdU indique que l'absence du gène *Zif268* ne perturbe pas la prolifération des cellules progénitrices dans le GD (Figure S1A). Nous avons ensuite étudié l'implication de ce gène dans la survie des nouvelles cellules générées 7, 14, 21, 28, 34 et 43 jours après injections de BrdU (5 injections de 50 mg/kg espacées de 2 heures pour les temps 7, 14, 21 et 28 jours ou 3 injections de 100 mg/kg espacées de 4 heures pour les temps 34 et 43 jours). Dans des conditions basales, la proportion de nouveaux neurones exprimant *Zif268* chez les

souris WT devient plus importante que celle observée dans les neurones préexistants du GD une fois que ces derniers sont âgés de 21 jours (Figure 1A). La quantification stéréologique des noyaux ayant incorporé la BrdU montre que l'absence du gène *Zif268* diminue significativement la survie des neurones âgés de 21 jours (Figure 1C). Malgré un léger effet homéostatique transitoire à 28 jours, la survie des nouveaux neurones restants est ensuite identique chez les souris KO et WT. L'implication du gène *Zif268* dans la survie des nouvelles cellules âgées de 21 jours est renforcée par le fait que cet effet est également observé chez les souris HET (Figure 1C), suggérant que 50% d'expression n'est pas suffisante pour empêcher la mort accélérée des nouveaux neurones pendant cette période critique de maturation. Ces données montrent que l'absence du gène *Zif268* influence la survie des nouveaux neurones durant la période critique durant laquelle ils sont sélectionnés pour mourir ou survivre afin de s'intégrer à long terme au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe.

## II. Le gène *Zif268* contrôle la maturation fonctionnelle et morphologique des nouveaux neurones

L'accélération de la mort des nouveaux neurones en l'absence de *Zif268* durant la période au cours de laquelle ils présentent le plus de modifications de leur morphologie et de leurs propriétés synaptiques, nous a amené à évaluer l'impact de l'absence de ce gène sur la maturation fonctionnelle et morphologique des nouveaux neurones âgés de 21 jours. Nos résultats montrent que la différenciation et la maturation neuronale estimées par les marqueurs GFAP, DCX et NeuN ne sont pas affectées. Par contre, l'absence de *Zif268* est associée à une plus faible expression des récepteurs GluR1 (GluA1) par les nouveaux neurones âgés de 21 jours, suggérant un déficit de la transmission glutamatergique (Figure 4A). De plus, ils présentent un retard de maturation de la transmission GABAergique puisqu'ils expriment plus le co-transporteur dépolarisant NKCC1, exprimé lorsque les neurones sont immatures, et moins le co-transporteur hyperpolarisant KCC2b, exprimé lorsque les neurones sont matures (Figure 4B et C). Ces résultats indiquent que le gène *Zif268* est nécessaire à la mise en place effective des fonctions glutamatergiques et GABAergiques pendant la période critique de maturation des nouveaux neurones.

Nous avons ensuite étudié l'impact de l'absence du gène *Zif268* sur la maturation morphologique de nouveaux neurones âgés de 21 et 43 jours. Pour cela, un vecteur rétroviral exprimant la GFP a été injecté dans le GD afin de pouvoir étudier l'arborisation dendritique des nouveaux neurones 21 et 43 jours après injection. L'absence du gène *Zif268* ne perturbe pas la croissance axonale des nouveaux neurones en direction de l'aire CA3 (Figure S4A). L'analyse de l'arborisation dendritique à ces deux temps montre par contre que l'absence de ce gène perturbe fortement leur morphologie dendritique (Figure 5B). En effet, 21 jours après

injection, l'absence du gène *Zif268* est associée à une augmentation du nombre de points de branchement (Figure 5C) sans pour autant perturber la longueur totale des arborisations dendritiques (Figure 5D) qui, par contre, est affectée à plus long terme, 43 jours après injection (Figure 5G). L'analyse de la densité des épines dendritiques montre que l'absence du gène *Zif268* induit une diminution de moitié du nombre d'épines des nouveaux neurones âgés de 21 jours (Figure 5I et 5K). La densité des épines augmente jusqu'à 43 jours mais elle reste toutefois inférieure chez les souris KO (Figure 5J et 5K). L'ensemble de ces données suggère que le gène *Zif268* joue un rôle important dans la maturation fonctionnelle des nouveaux neurones durant leur période critique d'intégration au sein des réseaux neuronaux du GD de l'hippocampe.

### III. Le gène *Zif268* contrôle le recrutement des nouveaux neurones dans les réseaux impliqués dans les processus mnésiques

L'implication du gène *Zif268* dans la survie et la maturation fonctionnelle durant la période critique au cours de laquelle les nouveaux neurones participent aux processus mnésiques nous a amené à évaluer l'impact de l'absence de ce gène sur le recrutement des nouveaux neurones lors d'une tâche de mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe. Pour cela, les souris WT et KO ont été soumises à une tâche de mémoire spatiale en piscine de Morris selon un protocole massé sur une journée. Nous avons choisi un protocole massé car les souris KO présentent un déficit de mémoire dans cette tâche à long terme alors qu'un apprentissage selon un protocole distribué sur plusieurs jours n'induit pas de déficits mnésiques chez ces souris (Jones *et al.*, 2001). Nous avons ainsi évalué l'influence d'un apprentissage spatial massé sur le recrutement des nouveaux neurones âgés de 18 jours en présence ou en absence du gène *Zif268* (Figure 2A), c'est-à-dire durant la période critique de leur maturation au cours de laquelle nous avons observé que le gène *Zif268* est nécessaire. Le recrutement à long terme des nouveaux neurones est évalué 25 jours après l'apprentissage lors du rappel mnésique. Nos résultats confirment que l'absence de *Zif268* n'affecte que marginalement l'acquisition mais induit un déficit sévère de mémoire à long terme. De plus, ils montrent que l'absence du gène *Zif268* bloque l'amélioration de la survie à long terme des nouveaux neurones âgés de 18 jours au moment de l'apprentissage (Figure 1E et F). Enfin, alors que les nouveaux neurones chez les souris WT sont préférentiellement activés (expression de *Zif268* et de *c-Fos* dans les neurones BrdU+/NeuN+) par rapport aux neurones préexistants (NeuN+) lors du rappel 25 jours après l'apprentissage, l'absence du gène *Zif268* empêche le recrutement à long terme des nouveaux neurones chez les souris KO (Figure 3). Par contre, lorsque les nouveaux neurones sont âgés de seulement 9 jours au

moment de l'apprentissage, celui-ci n'induit pas d'augmentation de la survie à long terme ni de recrutement préférentiel de ces nouveaux neurones chez les souris WT comme KO (Figure S2 et S3). L'ensemble de ces résultats indique que le gène *Zif268* est nécessaire au recrutement des nouveaux neurones par l'apprentissage durant leur période critique d'intégration aux réseaux neuronaux de l'hippocampe et à leur réactivation lors du rappel à long terme de cette mémoire.

En conclusion, nous proposons un modèle du rôle du gène *Zif268* dans la neurogenèse adulte (Figure S7). Dans des conditions basales (partie gauche Figure S7), le gène *Zif268* favorise la sélection ainsi que différentes étapes de la maturation fonctionnelle et morphologique des nouveaux neurones durant leur période critique d'intégration au sein des réseaux neuronaux du GD. Lors d'un apprentissage (partie droite Figure S7), l'expression de *Zif268* est induite au sein des réseaux neuronaux et permet le recrutement à long terme des nouveaux neurones activés afin de participer à la formation d'une mémoire à long terme. L'absence de ce gène empêche le recrutement des nouveaux neurones par l'apprentissage, et ceci est associé à des déficits mnésiques à long terme.

#### IV. Article 2 : *Zif268/Egr1* controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning

# Zif268/egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning

Alexandra Veyrac<sup>a,b,1,2</sup>, Alexandra Gros<sup>a,b,2</sup>, Elodie Bruel-Jungerman<sup>a,b,3</sup>, Christelle Rochefort<sup>a,b,4</sup>, Felix B. Kleine Borgmann<sup>c</sup>, Sebastian Jessberger<sup>c</sup>, and Serge Laroche<sup>a,b,1</sup>

<sup>a</sup>Centre de Neurosciences Paris-Sud, Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 8195, F-91405 Orsay, France; <sup>b</sup>Université Paris-Sud, Centre de Neurosciences Paris-Sud, F-91405 Orsay, France; and <sup>c</sup>Brain Research Institute, University of Zurich, 8057 Zurich, Switzerland

Edited by Bruce S. McEwen, The Rockefeller University, New York, NY, and approved March 18, 2013 (received for review November 26, 2012)

**New neurons are continuously added to the dentate gyrus of the adult mammalian brain. During the critical period of a few weeks after birth when newborn neurons progressively mature, a restricted fraction is competitively selected to survive in an experience-dependent manner, a condition for their contribution to memory processes. The mechanisms that control critical stages of experience-dependent functional incorporation of adult newborn neurons remain largely unknown. Here, we identify a unique transcriptional regulator of the functional integration of newborn neurons, the inducible immediate early gene *zif268/egr1*. We show that newborn neurons in *zif268*-KO mice undergo accelerated death during the critical period of 2–3 wk around their birth and exhibit deficient neurochemical and morphological maturation, including reduced GluR1 expression, increased NKCC1/KCC2b chloride cotransporter ratio, altered dendritic development, and marked spine growth defect. Investigating responsiveness of newborn neurons to activity-dependent expression of *zif268* in learning, we demonstrate that in the absence of *zif268*, training in a spatial learning task during this critical period fails to recruit newborn neurons and promote their survival, leading to impaired long-term memory. This study reveals a previously unknown mechanism for the control of the selection, functional maturation, and experience-dependent recruitment of dentate gyrus newborn neurons that depends on the inducible immediate early gene *zif268*, processes that are critical for their contribution to hippocampal-dependent long-term memory.**

memory consolidation | neurogenesis | plasticity | hippocampus | transcription factor

**N**ew neurons are continuously generated in adult life in discrete regions of the mammalian brain, including in the dentate gyrus (DG) of the hippocampus (1). After birth, the majority of newborn dentate granule cells (DGCs) follow a 2-mo race of development to become fully mature and integrate into existing circuits (2–4), a condition for their contribution to hippocampal functions, in particular to hippocampal-dependent learning and memory and spatial pattern discrimination (5). The cells' involvement as part of neuronal networks supporting learning and memory is believed to be time-locked to a critical stage of maturation (6). From the second week after birth, axons of newborn DGCs elongate (3) and contact hilar and CA3 pyramidal cells (7), then dendrites extend in the molecular layer and spines start to appear (2, 3). Newborn DGCs are initially tonically activated by ambient depolarizing GABA and then hyperpolarized after the gradual conversion of Cl<sup>-</sup> cotransporter expression (8), along with expression of glutamate receptors and their progressive responsiveness to glutamatergic inputs (8, 9). At this stage, they are hyperexcitable, display properties of enhanced synaptic plasticity, and are prone to integrate the existing hippocampal neurocircuitry (10–12). As their functional maturation progresses, however, newborn DGCs compete to survive, leaving the majority eliminated by cell death (13). Several behavioral manipulations, in particular hippocampal-dependent learning (14), can regulate their rate of survival. To date, the mechanisms that govern maturation,

selection, and experience-dependent integration of newborn DGCs remains largely unknown.

Immediate early genes (IEGs) encoding inducible transcription factors are interesting candidates because they are transiently and preferentially induced in newborn DGCs during their critical period of maturation in response to synaptic activity and behavioral experience (4, 15–22). *Zif268* (*egr1*, *early growth response 1*) is one such IEG that plays a critical role in hippocampal functions and memory processes. The gene is rapidly induced in the hippocampus by learning and recall of several forms of hippocampal-dependent memories (23) and its inactivation severely compromises the formation of several types of memories (24–27), in particular when a high demand on hippocampal function is required (28). Importantly, several studies have shown that *Zif268* is induced in young newborn DGCs upon the occurrence of synaptic plasticity (16) and during learning or recall of novel information (4, 15, 17, 21, 22), and can thus direct expression of selective gene programs in activated newborn neurons. These data raise the issue as to whether hippocampal-dependent memory deficits in *zif268*-KO mice may in part be because of altered neurogenesis. Therefore, we used the birthdating marker BrdU to follow the fate of newly generated cells in *zif268*-KO mice and asked whether the absence of *zif268* has specific consequences for the neurogenic process and the recruitment of newborn DGCs in relation to learning and memory. We demonstrate that *zif268* actively controls the survival of newborn DGCs during their critical period of maturation in the first 2–3 wk of their birth. We then demonstrate that in the absence of *zif268* the occurrence of spatial learning during this critical period fails to recruit newborn DGCs and to promote their survival, and leads to impaired long-term memory, suggesting that *zif268* is required for their functional incorporation into hippocampal memory networks. Mechanistically, we found that the absence of *zif268* critically affects neurochemical and morphological maturation of newborn DGCs, a cellular phenotype likely related to their inability to be recruited during learning and participate in establishing long-term memory.

Author contributions: A.V. and S.L. designed research; A.V., A.G., E.B.-J., and C.R. performed research; F.B.K.B. and S.J. contributed new reagents/analytic tools; A.V., A.G., C.R., and S.L. analyzed data; and A.V., A.G., and S.L. wrote the paper.

The authors declare no conflict of interest.

<sup>1</sup>To whom correspondence may be addressed. E-mail: alexandra.veyrac@u-psud.fr or serge.laroche@u-psud.fr.

<sup>2</sup>A.V. and A.G. contributed equally to this work.

<sup>3</sup>Present address: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité Mixte de Recherche 5975, Centre Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, F-75013 Paris, France.

<sup>4</sup>Present address: Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7102, Université Pierre et Marie Curie, F-75005 Paris, France.

This article contains supporting information online at [www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1220558110/-DCSupplemental](http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1220558110/-DCSupplemental).

## Results

### Zif268 Controls the Selection of Newborn DGCs During a Critical Period of Maturation

We examined the level of neurogenesis in the DG of adult WT and *zif268*-KO mice 2 h, 7, 14, 21, 28, 34, and 43 d postinjections (dpi) of BrdU and assessed the proportion of new DGCs at each age that express Zif268 in home-cage WT mice (Fig. 1A). In this basal condition, a small proportion of young WT newborn DGCs expressed Zif268, which increased significantly over time ( $F_{5,34} = 10.97$ ,  $P < 0.001$ ). Consistent with previous reports (4, 6), the proportion of Zif268<sup>+</sup>/BrdU<sup>+</sup> cells before 21 dpi was lower than in mature preexisting neurons (Zif268<sup>+</sup> in NeuN<sup>+</sup> mature neurons:  $1.9 \pm 0.2\%$ ), but became significantly higher in 43-d-old newborn DGCs (Zif268<sup>+</sup> in BrdU<sup>+</sup> cells:  $1.1 \pm 0.3\%$ ;  $0.8 \pm 0.3\%$ ;  $3.0 \pm 0.9\%$ ;  $6.9 \pm 2.1\%$ ;  $2.5 \pm 0.6\%$ ;  $25 \pm 2.8\%$ , at 7, 14, 21, 28, 34, and 43 dpi  $P = 0.007$ , respectively).

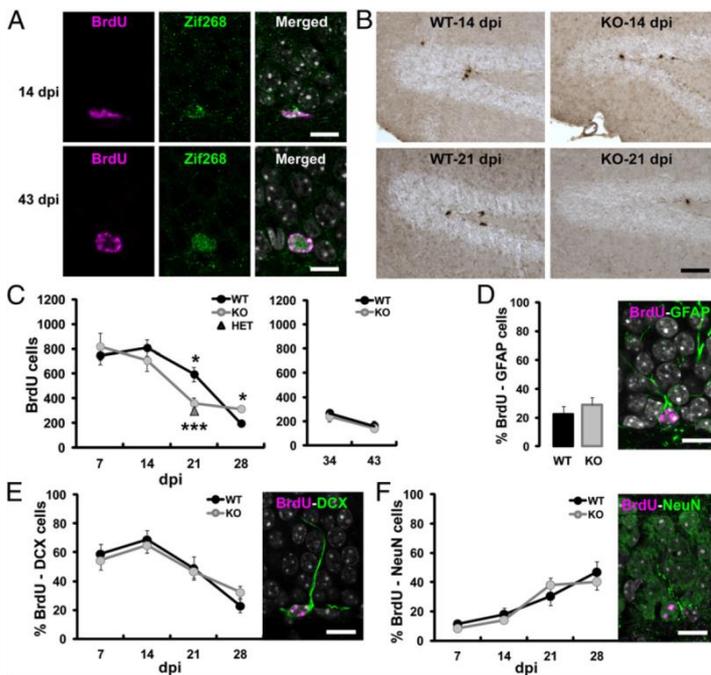
Following progenitor cells proliferation, which was not affected in *zif268*-KO mice (Fig. S1A), a high rate of newborn cells was eliminated both in WT and *zif268*-KO mice within the first few weeks of their birth ( $F_{1,3} = 23$ ,  $P < 0.001$ ) (Fig. 1B and C). Whereas WT mice showed a progressive loss of BrdU<sup>+</sup> cells between 14 and 43 d (14 vs. 21 dpi,  $P = 0.05$ ; 21 vs. 28 dpi,  $P = 0.0002$ ; 34 vs. 43 dpi,  $P = 0.037$ ) with a peak between 14 and 28 d, as previously reported in mice as opposed to the more progressive elimination in rats (4), the selection was drastically accelerated in *zif268*-KO mice, with a salient loss between 14 and 21 d (14 vs. 21 dpi,  $P = 0.009$ ; 21 vs. 28 dpi,  $P = 0.39$ ; 34 vs. 43 dpi,  $P = 0.065$ ; genotype effect at 21 dpi,  $P = 0.011$ ). Remarkably, however, despite a transient homeostatic effect in *zif268*-KO mice observed at 28 dpi ( $P = 0.013$ ), likely because of the preceding accelerated apoptosis, the number of cells that did survive at longer delays was in the end similar for the two genotypes (Fig. 1C) (43 dpi  $P = 0.66$ ). The alteration of neurogenesis in *zif268*-KO mice is unlikely to be a result of developmental anatomic modifications of the hippocampus, because neuronal architecture and basic DG

synaptic functions (25)—as well as DG volume—were not affected (Fig. S1B). The implication of *zif268* in adult neurogenesis during a critical window around 21 d was further reinforced by the finding of a similar accelerated loss in the DG of *zif268* heterozygous mice (Fig. 1C) (WT vs. heterozygous at 21 dpi  $P = 0.001$ ), indicating there is no gene-dosage effect, and by a similar reduction of olfactory bulb neurogenesis, the other neurogenic brain area, in *zif268*-KO mice (Fig. S1C and D). Double labeling with the glial marker GFAP and the early and late neuronal markers, doublecortin (DCX) and NeuN, revealed no difference between genotypes, indicating normal differentiation rate and neuronal maturation over time among the surviving neurons (4) (Fig. 1D–F) (GFAP: genotype  $P = 0.40$ ; DCX:  $F_{1,3} = 0.63$ , time  $P < 0.0001$ , genotype  $P = 0.94$ ; NeuN:  $F_{1,3} = 0.87$ , time  $P < 0.0001$ , genotype  $P = 0.64$ ).

Overall, these results indicate that *zif268* has a key role in the survival of adult newborn DGCs during the critical time window within which they are selected to die or survive for long-term functional integration. In the absence of *zif268*, however, the accelerated death does not affect the whole population of newborn neurons as the number of surviving DGCs several weeks later appears equivalent to that of WT mice.

### Zif268 Is Required for Long-Term Recruitment of Newborn DGCs into Spatial Memory Networks

The accelerated death of newborn DGCs during a critical period of maturation in the absence of *zif268* does not indicate whether *zif268* also controls activity-dependent functional integration of the remaining pool of newborn DGCs when Zif268 is robustly and transiently expressed in these cells upon learning or recall. To address this issue, we examined whether the absence of *Zif268* alters the recruitment of newborn DGCs by spatial learning and their subsequent long-term survival and functional incorporation. We used the spatial Morris water-maze task with a massed protocol that results in long-lasting spatial memory and increased incorporation of new neurons in the adult DG (22). Guided by evidence indicating



Veyrac et al.

PNAS | April 23, 2013 | vol. 110 | no. 17 | 7063

that new neurons within 1–3 wk after birth have a unique role in hippocampal-dependent memory formation (6), and by the differential requirement for *zif268* observed above in populations of newborn DG cells of different ages (Fig. 1C), we submitted WT and *zif268*-KO mice to spatial learning 9 or 18 d after BrdU injections and analyzed memory performance and survival rate 25 d after acquisition (Fig. 2A).

As expected (25), both WT and *zif268*-KO mice from the two groups learned to locate the hidden platform (Fig. 2B) ( $F_{1,28} = 1.22$ , time  $P < 0.0001$ ; genotype  $P = 0.28$ ; interaction  $P = 0.061$ ). In the 18-d group, performance during probe tests in the absence of the platform 25 d after training showed that WT mice formed a long-term spatial memory, whereas *zif268*-KO mice showed no evidence of long-term memory [(Fig. 2C) target quadrant: WT  $P = 0.0024$ , KO  $P = 0.66$ ; genotype  $P = 0.035$  (Fig. 2D) crossings: genotype  $P = 0.007$ ] as previously reported (25). Counting BrdU<sup>+</sup> cells after retention, we found that survival of new cells aged 18 d at the time of learning was largely increased (by ~twofold) in WT mice compared with WT home cage controls (Fig. 2E and F) ( $F_{1,14} = 4.78$ ,  $P = 0.046$ ). In contrast, training did not promote survival of newborn cells of the same age in *zif268*-KO mice (Fig. 2E and F) ( $F_{1,12} = 1.35$ ,  $P = 0.27$ ). In the 9-d group, performance at test replicated the above results showing long-term spatial memory impairment in *zif268*-KO mice (Fig. S24). Although survival of 9-d-old neurons can be enhanced after more prolonged training regimes, such as in distributed spatial learning (29), neither in WT nor in *zif268*-KO mice did massed training have any enhancing effect on survival of 9-d-old cells (Fig. S2B and C). These results indicate that *zif268* plays an essential role

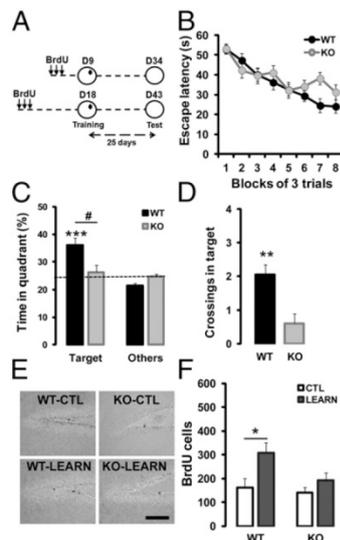
for spatial training-induced survival of 18-d-old, but not 9-d-old newborn neurons.

We next asked whether *zif268* is required for the functional recruitment of newborn neurons by mapping the expression of Zif268 and c-Fos in BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> DG cells, 90 min after memory recall (19, 22). In WT mice, a much higher number of 18-d-old BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> DG cells expressed Zif268 and c-Fos upon retrieval compared with WT controls (Fig. 3A–C) (Zif268:  $P = 0.011$ , c-Fos:  $P = 0.034$ ). Interestingly, the percentage of newborn DG cells expressing Zif268 or c-Fos postrecall was for both genes much higher than the percentage of preexisting DG cells expressing Zif268 or c-Fos [(Fig. 3D) Zif268:  $P < 0.001$ ; (Fig. 3E) c-Fos:  $P = 0.002$ ], suggesting preferential activation of newborn neurons during recall, as reported in other tasks (19, 22). In contrast, the proportion of activated, BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup>/c-Fos<sup>+</sup> cells in *zif268*-KO mice was low and not significantly different from that observed in home-cage *zif268*-KO controls and there was no evidence of preferential activation of newborn DG cells [(Fig. 3C)  $P = 0.13$ ; (Fig. 3E)  $P = 0.053$ ], indicating that the long-term memory deficit in these mice is associated with the absence of long-lasting newborn DG cells recruitment. Younger newborn neurons, aged 9 d at the time of learning—besides not being more incorporated during acquisition (Fig. S2B and C)—were neither more recruited (Fig. S3A–C) nor preferentially activated (Fig. S3D and E) upon recall in either WT mice, as previously described (22), or *zif268*-KO mice. In all, these findings indicate that *zif268* controls the long-lasting recruitment of newborn DG cells during the critical period when they are prone to being incorporated for spatial memory formation and long-term consolidation.

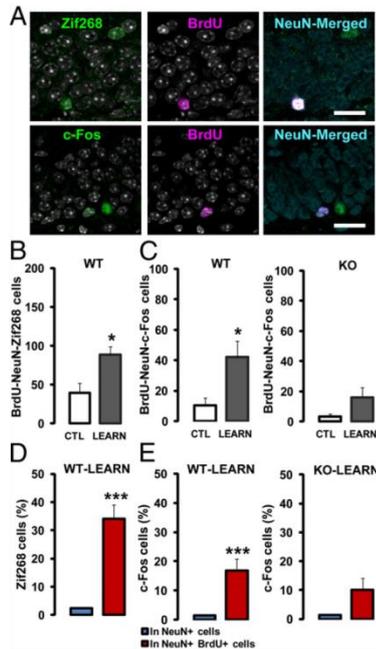
#### **Zif268 Controls the Functional and Morphological Maturation of Newborn DG cells.**

To understand how lack of *zif268* has such profound consequences on survival and recruitment of newborn DG cells, we evaluated their functional maturation at this delay (21 dpi) and thereafter (43 dpi). Around 3 wk of age, new DG cells undergo extensive morphological and synaptic changes that are essential for their recruitment and survival (6). We hypothesized that in the absence of *zif268*, the functional maturation of differentiated newborn DG cells at the time of learning may be incomplete, resulting in their recruitment failure during learning and, hence, deficient survival. To test this hypothesis, we first analyzed GluR1 expression in 21-dpi DG cells, when they start to receive glutamatergic inputs (7, 9), and at the later age of 43 dpi. We found that the proportion of 21-d-old newborn DG cells expressing GluR1 was reduced in *zif268*-KO mice (Fig. 4A) ( $P = 0.036$ ), indicating immature glutamatergic function, although attaining WT level of expression at 43 dpi ( $P = 0.60$ ). Then, we evaluated the expression pattern of the Cl<sup>-</sup> ionic cotransporters NKCC1 and KCC2 implicated in the conversion from GABA-induced depolarization to hyperpolarization, a mechanism crucial for synaptic integration of 3-wk-old DG cells (8). We found an imbalance in the expression of the two Cl<sup>-</sup> cotransporters in 21-dpi DG cells of *zif268*-KO mice, with a larger expression of NKCC1 associated with reduced expression of KCC2 (Fig. 4B and C) (NKCC1:  $P = 0.027$ ; KCC2:  $P = 0.025$ ), again attaining WT expression levels at 43 dpi ( $P = 0.93$  and  $P = 0.54$ , respectively). Thus, the absence of *Zif268* results in a delayed maturation of GABAergic and glutamatergic functions of newborn DG cells.

Next, using a retroviral vector strategy to express GFP specifically in proliferating cells and their progeny, we assessed morphological maturation of newborn DG cells in WT and *zif268*-KO mice at 21 and 43 dpi because dendritic development and spine growth are maximal during this time interval (3, 7). At 21 and 43 dpi, GFP-labeled DG cells were located in the innermost part of the granule cell layer and dendritic processes arborized extensively in the molecular layer (Fig. 5A). There was no apparent alteration in *zif268*-KO mice in axonal projections of new DG cells in area CA3 at these delays (Fig. S4A), indicating normal efferent connectivity.



**Fig. 2.** *Zif268* is required for spatial learning-induced survival of 18-d-old adult-born DG cells. (A) Mice received three injections of BrdU on day 1, were submitted to spatial learning in the water maze on day 9 (D9) or 18 (D18) and to retention test 25-d later. (B) During training, latency to find the hidden platform declined equally in WT ( $n = 16$ ) and *zif268*-KO mice ( $n = 14$ ). (C) Twenty-five days after acquisition, WT mice spent significantly more time searching in the target quadrant compared with other quadrants, unlike *zif268*-KO mice that did not. (D) Significantly higher number of crossings over the target location in WT than in *zif268*-KO mice. (E) Photomicrographs showing BrdU staining in WT and *zif268*-KO mice at 43 dpi in control (CTL) and 25 d after spatial learning (LEARN). (Scale bar, 100  $\mu$ m.) (F) Training promoted long-term survival of BrdU<sup>+</sup> newborn cells aged 18 d at the time of acquisition in WT mice, but not in *zif268*-KO. CTL: WT  $n = 6$ ; KO  $n = 6$ ; LEARN: WT  $n = 10$ ; KO  $n = 8$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.0005$ .



**Fig. 3.** *Zif268* is required for the recruitment of 18-d-old neurons by spatial learning. (A) Confocal micrographs of 43-d-old BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> neurons expressing *Zif268* or *c-Fos* in a WT mouse. (Scale bars, 30  $\mu$ m.) (B) Upon spatial memory recall, the number of BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> DGCs expressing *Zif268* was substantially increased in WT mice. (C) The number of BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> DGCs expressing *c-Fos* upon recall was also increased in WT mice, but not in *zif268*-KO mice. (D) Upon recall, a higher proportion of newborn DGCs in WT mice expressed *Zif268*, compared with preexisting neurons. (E) Similarly, the proportion of *c-Fos*-expressing neurons was higher for newborn than for preexisting DGCs in WT mice, in contrast to *zif268*-KO mice for which the number of *c-Fos*<sup>+</sup> newborn DGCs was only slightly, but not significantly higher than that of preexisting DGCs. CTL: WT  $n = 6$ ; KO  $n = 6$ ; LEARN: WT  $n = 9$ ; KO  $n = 8$ . \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.005$ .

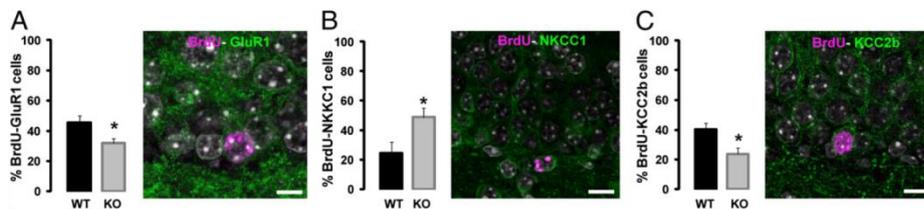
There were, however, clear differences in neuronal morphology between WT and *zif268*-KO mice (Fig. 5B). The majority of 21-dpi DGCs from *zif268*-KO mice exhibited increased branching points (Fig. 5C) ( $P = 0.046$ ); (Fig. 5E), ( $P = 0.007$ ), without modification of dendritic length (Fig. 5D) ( $P = 0.84$ ) (Fig. S4B–D). The increased number of nodes appeared for a large part because of the first intersection after the primary dendrite, which in *zif268*-KO mice was closer to the soma (Fig. S4E). Dendritic growth continued

for 3 wk in WT mice but not in *zif268*-KO mice, which ended up by having 43-dpi DGCs with shorter dendritic arborization [(Fig. 5D vs. G) 21 vs. 43 dpi, WT:  $P = 0.025$ ; KO:  $P = 0.86$ ; (Fig. 5F–H) genotype; (Fig. 5F)  $P = 0.21$ ; (Fig. 5G)  $P = 0.008$ ; (Fig. 5H)  $P = 0.003$ ] (Fig. S4F–I). Defective dendritic development in *zif268*-KO mice was not the consequence of impaired formation of primary cilia occurring around 21 d after birth of newborn DGCs and which controls dendrites formation (30) (Fig. S5).

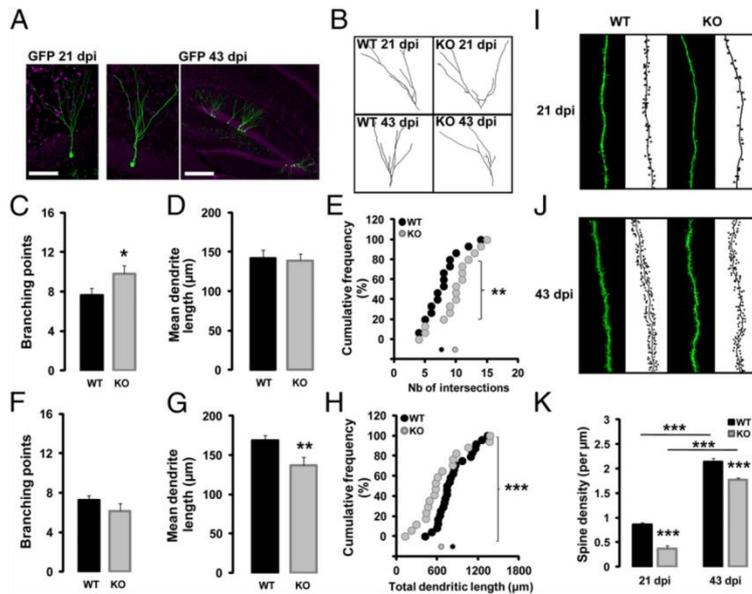
To explore terminal stages of maturation and assess whether newborn DGCs reach a fully mature state in mutant mice, we compared spine density and expansion during the exponential phase of spine growth (3, 7). Spine quantification on apical dendrites of 21-dpi newborn DGCs revealed a deficit in spine density in *zif268*-KO mice compared with WT mice (Fig. 5I–K). There was an increase in spine density between 21 and 43 d in both groups, but even at 43 dpi spine density in *zif268*-KO mice remained significantly lower than in WT mice (Fig. 5I–K) ( $F_{1,68} = 10.51$ , time  $P < 0.001$ , genotype  $P < 0.001$ , interaction  $P = 0.0018$ ). This alteration in spine density was observed across the whole population of 21- and 43-dpi DGCs examined (Fig. S6A and B), indicating a robust effect, not because of a particular sensitivity of a subpopulation of newborn DGCs to *zif268* deficiency.

## Discussion

The number of surviving newborn neurons in the adult brain is thought to depend largely on their maturation and functional integration into the preexisting networks, an experience-dependent process that contributes to learning and memory (5). The mechanisms that govern critical stages of experience-dependent functional incorporation of adult newborn DGCs remain largely unknown. The present study is unique in showing that one IEG encoding an inducible transcription factor, *zif268*, controls major processes in the time-frame of maturation of adult newborn DGCs during the critical period within which they are selected to survive for long-term functional integration into preexisting hippocampal networks (6). The *zif268*-dependent selection process takes place between 2 and 3 wk of their birth, when they start to receive synaptic glutamatergic input (7, 9), undergo conversion of GABA-mediated depolarization to hyperpolarization (8), and maximally develop dendritic arbors and spines (3, 7); selective maturation processes that are all impaired in the absence of *zif268*. This stalled and incomplete maturation of surviving newborn DGCs within this critical period is likely to be a salient functional cause of their unsuccessful recruitment and functional incorporation into memory networks, as evidenced by the failure of training in a spatial learning task to promote their survival and lack of activation upon memory recall. Although we cannot formally rule out a developmental effect of *zif268* mutation, present data showing normal DG volume, neurogenic niche, plasticity marker expression, and previous results indicating normal neural functions, such as basic place cell properties, synaptic transmission and cell-signaling up to the *zif268* promoter, neuronal excitability, presynaptic functions, recurrent inhibition, short-term plasticity, as well as normal learning and short-term memory in



**Fig. 4.** *Zif268* regulates the functional maturation of newborn DGCs. (A) Expression of GluR1 was impaired in 21-d-old newborn BrdU<sup>+</sup> DGCs in *zif268*-KO mice. (Scale bar, 8  $\mu$ m.) (B and C) Expression of NKCC1 is higher in 21-d-old newborn BrdU<sup>+</sup> DGCs in *zif268*-KO mice (B), whereas expression of KCC2b is impaired (C). (Scale bars, 10  $\mu$ m.) WT  $n = 6$ ; KO  $n = 7$ . \* $P < 0.05$ .



**Fig. 5.** *Zif268* regulates the morphological maturation and spine formation of newborn DG cells. (A) Confocal 3D reconstruction of dendrites of newborn GFP-labeled DG cells, 21 and 43 d after retroviral vector injection in the DG of WT mice. (Scale bars: 21 dpi 50  $\mu$ m; 43 dpi 150  $\mu$ m.) (B) Skeletons of newborn neurons in WT and *zif268*-KO mice at 21 and 43 dpi. (C) Number of branching points at 21 dpi was increased in *zif268*-KO mice. (D) Mean dendrite length at 21 dpi was similar between genotypes. (E) Quantification of branch number in 21-d-old newborn DG cells. Each symbol represents data from a single newborn DG cell. (F) The number of branching points at 43 dpi was similar between genotypes. (G) Mean dendrite length at 43 dpi was decreased in *zif268*-KO mice. (H) Quantification of total dendritic length in 43-d-old newborn DG cells. (I) Confocal 3D images of dendrites with spines and their skeletons of 21 and (J) 43-d-old newborn DG cells in WT and *zif268*-KO mice. (K) Spine density was impaired in *zif268*-KO mice, both at 21 and 43 dpi. WT  $n = 16$ ; KO  $n = 16$  in C–E; WT  $n = 25$ ; KO  $n = 18$  in F–H. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.005$ .

various tasks despite impaired long-term memory, argue against developmental defects in these mice (24, 25, 31).

Several extrinsic and intrinsic mechanisms have been identified as important regulators of the survival, maturation, and functional integration of adult-born DG cells (32, 33). These mechanisms include NMDA receptors implicated in glutamate-dependent survival and synaptic plasticity of newborn DG cells, GABA-induced depolarization required for dendritic development and synapse formation, the neurotrophic factors BDNF/TrkB, FGF-2, and NT3 [the absence of which decreases neurogenesis, impairs long-term potentiation (LTP), increases anxiety-like behavior, and impairs spatial memory], as well as the transcription regulators CREB, Cdk5, *disc1*, *Klf-9*, and the epigenetic factors *Gadd45*, miR132, miR124, and repressor element 1 (RE-1) protein-silencing transcription factor (REST)/neuron-restrictive silencing factor (NRSF) that differentially modulate survival, dendritic growth, synaptic plasticity and integration of newborn neurons in the adult hippocampus. Interestingly, the majority of these factors could be downstream transcriptional targets of *zif268*. BDNF/NT3/FGF have been identified as direct (34) and indirect targets of *Zif268* via a *Gadd45*-dependent DNA demethylation pathway (35). The role of Cdk5-p35 complex in neurogenesis requires ERK activation and induction of *zif268* (36). The qualitative change in GABA-mediated responses from depolarizing to hyperpolarizing in adult-born DG cells is related to increased KCC2b expression, which can be directly controlled by stimulating EGR consensus DNA binding sites on KCC2b promoter (37). Finally, the negative regulator REST/NRSF that controls the rate of adult neurogenesis by partly orchestrating the expression of miR124 and miR132 (38), might regulate transcriptional responses induced by *Zif268* expression (39). These findings provide potential molecular routes by which *Zif268* could control various stages of the neurogenic process in a cell-autonomous manner, a hypothesis consistent with the reported normal cortico-hippocampal architecture, synaptic transmission, and neuronal excitability in *zif268*-KO mice (25), as well as with the parallel reported here between the normal early and impaired late stages of DG cells maturation in relation to *Zif268* expression in adult-born DG cells. However, at this point we cannot discard a noncell-autonomous function of *Zif268*. Cell type-specific

manipulation of *zif268* using genetic approaches will be one step further for dissociating cell-autonomous and noncell-autonomous contribution of *zif268*.

Interestingly, *zif268* in the DG is expressed in an exclusively activity-dependent manner. As such, it is to our knowledge unique in being a gene with this property of having a strong and specific role in survival and maturation of adult-born DG cells during the critical period within which they establish appropriate connectivity and have unique functional properties relevant to hippocampal information processing (6, 40, 41). At any given time at the basal level, very few *Zif268*<sup>+</sup> DG cells can be found, reflecting the activity-dependent transient expression and rapid degradation of the protein. In contrast, *Zif268* is conspicuously expressed in a sparse, although reliable population of DG cells, including newborn DG cells, time-locked with the occurrence of synaptic plasticity (16) or of learning or recall (4, 15, 17, 21, 22), as also observed here. This feature appears critical for newborn DG cell function in memory formation. From the present findings, we propose that in the behaving animal under low solicitation transient expression of *Zif268* occurring in 2–3-wk-old DG cells is critical to their selection and progression of their functional and morphological maturation (Fig. S7A). When a specific learning experience occurs, a number of 3-wk-old newborn DG cells—because of their high intrinsic excitability, reduced GABAergic inhibition, and high capacity for undergoing synaptic potentiation (40, 42, 43)—would be preferentially activated by activity patterns entering the DG and express *Zif268* (and other IEGs) (4, 15–22), promoting their recruitment, maturation, survival, and functional integration into memory networks, and hence their subsequent recruitment upon memory recall (Fig. S7C). In the absence of *zif268*, 3-wk-old newborn DG cells harbor less mature functional and morphological features (Fig. S7B). Their reduced potential for being activated by glutamatergic inputs would impede their recruitment by training (Fig. S7D), preventing their contribution to long-term spatial memory (44). Our previous studies in *zif268*-KO mice have shown that *zif268* is required for the expression of late-phase hippocampal LTP (25), long-term stability of hippocampal place cell representations (31), and consolidation of several forms of long-term memory (25, 28). Memory deficits in the absence of *zif268* are unlikely to be caused exclusively by the altered neurogenic function in the DG. In this area, information

processing will hence be subjected to at least two types of plasticity disorders: that affecting neurogenesis and that affecting synaptic plasticity. There is evidence to suggest that adult-generated DG cells play a significant role in DG synaptic plasticity (11, 12) and, conversely, the induction of synaptic plasticity promotes neurogenesis (16), suggesting these two forms of plasticity are tightly coupled. The cause and consequence nature of the neurogenesis–LTP relationship, whether there is a prime and secondary cause underlying the memory deficits in the absence of *zif268* or whether both directions of causation operate simultaneously, remains a challenge for future research.

## Methods

**Animals and BrdU Injections.** *Zif268*-KO mice, *zif268*-heterozygous, and WT male mice (2- to 3-mo-old) were used. Mice received one intraperitoneal BrdU injection (50 mg/kg) for cell proliferation, five every 2 h (50 mg/kg) for cell survival, and three every 4 h (100 mg/kg) for cell survival after learning experiments.

- Ming GL, Song H (2011) Adult neurogenesis in the mammalian brain: Significant answers and significant questions. *Neuron* 70(4):687–702.
- van Praag H, et al. (2002) Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415(6875):1030–1034.
- Zhao C, Teng EM, Summers RG, Jr., Ming GL, Gage FH (2006) Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 26(1):3–11.
- Snyder JS, et al. (2009) Adult-born hippocampal neurons are more numerous, faster maturing, and more involved in behavior in rats than in mice. *J Neurosci* 29(46):14484–14495.
- Deng W, Aimone JB, Gage FH (2010) New neurons and new memories: How does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 11(5):339–350.
- Aasebø IE, Blankvoort S, Tashiro A (2011) Critical maturational period of new neurons in adult dentate gyrus for their involvement in memory formation. *Eur J Neurosci* 33(6):1094–1100.
- Toni N, Sultan S (2011) Synapse formation on adult-born hippocampal neurons. *Eur J Neurosci* 33(6):1062–1068.
- Ge S, et al. (2006) GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* 439(7076):589–593.
- Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Miyakawa T (2011) Expression of the AMPA receptor subunits GluR1 and GluR2 is associated with granule cell maturation in the dentate gyrus. *Front Neurosci* 5:100.
- Mongiat LA, Schinder AF (2011) Adult neurogenesis and the plasticity of the dentate gyrus network. *Eur J Neurosci* 33(6):1055–1061.
- Saxe MD, et al. (2006) Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(46):17501–17506.
- Snyder JS, Kee N, Wojtowicz JM (2001) Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol* 85(6):2423–2431.
- Biebl M, Cooper CM, Winkler J, Kuhn HG (2000) Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neurosci Lett* 291(1):17–20.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ (1999) Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 2(3):260–265.
- 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. *J Neurosci* 27(12):3252–3259.
- Bruehl-Jungerman E, Davis S, Rampon C, Laroche S (2006) Long-term potentiation enhances neurogenesis in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 26(22):5888–5893.
- Jessberger S, Kempermann G (2003) Adult-born hippocampal neurons mature into activity-dependent responsiveness. *Eur J Neurosci* 18(10):2707–2712.
- Ramirez-Amaya V, Marrone DF, Gage FH, Worley PF, Barnes CA (2006) Integration of new neurons into functional neural networks. *J Neurosci* 26(47):12237–12241.
- Kee N, Teixeira CM, Wang AH, Frankland PW (2007) Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat Neurosci* 10(3):355–362.
- Snyder JS, Radik R, Wojtowicz JM, Cameron HA (2009) Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 19(4):360–370.
- Snyder JS, Clifford MA, Jeurling SJ, Cameron HA (2012) Complementary activation of hippocampal-cortical subregions and immature neurons following chronic training in single and multiple context versions of the water maze. *Behav Brain Res* 227(2):330–339.

**Morris Water-Maze Training.** Mice were trained to locate a hidden platform at a fixed location using a massed-training procedure and retention was tested 25 d later, as detailed in *SI Methods*.

**Retrovirus-Mediated Labeling of New Neurons.** Moloney murine retroviruses expressing GFP were injected in the DG. Labeled neurons were analyzed using NeuronStudio software, as described in *SI Methods*.

**Immunohistochemistry.** Tissue preparation, immunohistochemistry, and cell counting were carried out as described in *SI Methods*.

**Statistical Analyses.** Data were expressed as mean  $\pm$  SEM. Statistical comparisons were conducted by two-way ANOVA followed by *t* test.

**ACKNOWLEDGMENTS.** We thank N. Spassky for gift of adenylate cyclase III antibody, S. Scotto-Lomassesse for her help in morphological analysis, Lydie Collet for art work, and P. Veyrac and N. Devignes for animal care and genotyping. *Zif268*-KO mice were bred in Orsay from breeders generously provided by P. Charnay, P. Topliko, and S. Garel. This research was funded by Centre National de la Recherche Scientifique, Université Paris-Sud, and supported by Agence Nationale Recherche Grant ANR-2010-BLAN-1413-01 (to S.L.).

- Trouche S, Bontempi B, Rouillet P, Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(14):5919–5924.
- Davis S, Bozon B, Laroche S (2003) How necessary is the activation of the immediate early gene *zif268* in synaptic plasticity and learning? *Behav Brain Res* 142(1–2):17–30.
- Bozon B, Davis S, Laroche S (2003) A requirement for the immediate early gene *zif268* in reconsolidation of recognition memory after retrieval. *Neuron* 40(4):695–701.
- Jones MW, et al. (2001) A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci* 4(3):289–296.
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL (2004) Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304(5672):839–843.
- Malkani S, Wallace KJ, Donley MP, Rosen JB (2004) An *egr-1* (*zif268*) antisense oligodeoxynucleotide infused into the amygdala disrupts fear conditioning. *Learn Mem* 11(5):617–624.
- Bozon B, Davis S, Laroche S (2002) Regulated transcription of the immediate-early gene *Zif268*: Mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* 12(5):570–577.
- Sisti HM, Glass AL, Shors TJ (2007) Neurogenesis and the spacing effect: Learning over time enhances memory and the survival of new neurons. *Learn Mem* 14(5):368–375.
- Kumamoto N, et al. (2012) A role for primary cilia in glutamatergic synaptic integration of adult-born neurons. *Nat Neurosci* 15(3):399–405.
- Renaudineau S, Poucet B, Laroche S, Davis S, Save E (2009) Impaired long-term stability of CA1 place cell representation in mice lacking the transcription factor *zif268/egr1*. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(28):11771–11775.
- Sun J, Sun J, Ming GL, Song H (2011) Epigenetic regulation of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Eur J Neurosci* 33(6):1087–1093.
- Mu Y, Lee SW, Gage FH (2010) Signaling in adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 20(4):416–423.
- Baumgärtel K, et al. (2009) Changes in the proteome after neuronal *zif268* overexpression. *J Proteome Res* 8(7):3298–3316.
- Ma DK, et al. (2009) Neuronal activity-induced *Gadd45b* promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis. *Science* 323(5917):1074–1077.
- Harada T, Morooka T, Ogawa S, Nishida E (2001) ERK induces p35, a neuron-specific activator of Cdk5, through induction of *Egr1*. *Nat Cell Biol* 3(5):453–459.
- Ludwig A, et al. (2011) Early growth response 4 mediates BDNF induction of potassium chloride cotransporter 2 transcription. *J Neurosci* 31(2):644–649.
- Gao Z, Ding P, Hsieh J (2012) Profiling of REST-dependent microRNAs reveals dynamic modes of expression. *Front Neurosci* 6:67.
- van Loo KM, et al. (2012) Transcriptional regulation of T-type calcium channel *CaV3.2*: Bi-directionality by early growth response 1 (*Egr1*) and repressor element 1 (*RE-1*) protein-silencing transcription factor (*REST*). *J Biol Chem* 287(19):15489–15501.
- Marin-Burgin A, Mongiat LA, Pardi MB, Schinder AF (2012) Unique processing during a period of high excitation/inhibition balance in adult-born neurons. *Science* 335(6073):1238–1242.
- Aimone JB, Deng W, Gage FH (2011) Resolving new memories: A critical look at the dentate gyrus, adult neurogenesis, and pattern separation. *Neuron* 70(4):589–596.
- Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J (2004) Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 429(6988):184–187.
- Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song H (2007) A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron* 54(4):559–566.
- Arruda-Carvalho M, Sakaguchi M, Akers KG, Josselyn SA, Frankland PW (2011) Post-training ablation of adult-generated neurons degrades previously acquired memories. *J Neurosci* 31(42):15113–15127.

# Supporting Information

Veyrac et al. 10.1073/pnas.1220558110

## SI Methods

**Animals.** Adult (2–3 mo old) male *zif268* homozygous knockout mice (*zif268*-KO,  $n = 70$ ), heterozygous (*zif268*-HET,  $n = 5$ ) and WT ( $n = 68$ ) littermate mice, generated as described previously (1) and backcrossed onto a C57BL/6J background for 24 generations, were used in this study. The mice were housed in a temperature and light-controlled colony room (12-h light/dark cycle) in groups of three per cage with dry food and water ad libitum. Experiments were conducted during light phase and were performed blind to genotype. All efforts were made to minimize the number of animals and their suffering during the experiments, conducted in accordance with the European Communities Council Directive 86/609/EEC and the French National Committee (87/848).

**BrdU Administration.** To study proliferation, mice (WT  $n = 7$ , *zif268*-KO  $n = 7$ ) received one intraperitoneal injection of BrdU (50 mg/kg in 0.9% NaCl; Sigma-Aldrich) and were killed 4 h later. For cell survival, mice were given five BrdU injections (50 mg/kg) at 2-h intervals on a single day and were killed 7 (WT  $n = 7$ , *zif268*-KO  $n = 8$ ), 14 (WT  $n = 8$ , *zif268*-KO  $n = 8$ ), 21 (WT  $n = 6$ , *zif268*-KO  $n = 7$ ), and 28 (WT  $n = 7$ , *zif268*-KO  $n = 7$ ) d later. Five heterozygous mice were also used to examine neurogenesis 21 d after BrdU injections. For behavioral experiments, mice (WT  $n = 28$ , *zif268*-KO  $n = 26$ ) were injected with three intraperitoneal injections of BrdU (100 mg/kg) at 4-h intervals and trained 9 or 18 d after in a Morris water-maze task.

**Morris Water-Maze Set-Up and Training Procedures.** The apparatus consisted of a circular pool (150 cm in diameter, 37 cm high) filled with water (20 °C  $\pm$  0.5 °C) made opaque by adding a white, nontoxic opacifier (Acusol OP301 Opacifier; Rohm and Haas). White curtains affixed with large extramaze visual cues surrounded the pool, which was divided into four virtual quadrants. The platform (11.5 cm in diameter) was located in the center of one quadrant (i.e., target quadrant) and remained at a fixed location during training. The three other quadrants served as starting points, assigned pseudorandomly and varied on every trial. Mice were handled each day for a week to get used to the experimenter. The day before training, mice were submitted to a single familiarization block of three trials, with the platform protruding 0.5 cm above the water surface. The maximal duration for each trial was 60 s. Mice failing to find the platform were gently guided to it and allowed to remain on it for 60 s before being replaced in the water from another starting point. The next day, mice were trained to locate the hidden platform submerged 0.5 cm below the water surface. The massed-training procedure consisted in two training sessions separated by 4 h, each composed of four blocks, 20-min apart, of three consecutive trials (2). Mice were trained in the water maze 9 d (WT  $n = 6$ , *zif268*-KO  $n = 6$ ) or 18 d (WT  $n = 10$ , *zif268*-KO  $n = 8$ ) after BrdU injections and were tested for long-term memory 25 d later in one or two probe tests held without platform. Because mice injected with BrdU 9 or 18 d before training did not show any statistical difference in learning performance, data were pooled (WT:  $F_{1,14} = 0.55$ , group  $P = 0.47$ ; time  $P < 0.0001$ ; interaction  $P = 0.89$ ; KO:  $F_{1,12} = 0.52$ , group  $P = 0.48$ ; time  $P < 0.0001$ ; interaction  $P = 0.25$ ).

Control groups consisted of undistributed mice remaining in their home cages, handled twice a week and killed 34 d (WT  $n = 6$ , *zif268*-KO  $n = 6$ ) or 43 d (WT  $n = 6$ , *zif268*-KO  $n = 6$ ) after BrdU injections. We did not add Swim groups in this study because it was previously shown that this training procedure induced the same level of long-term survival of newborn neurons

in Swim and Cage controls (2). A video-tracking software (ANY-maze; Stoelting) was used for automatic recording of the latency to find the platform, swim speed and path lengths, and activity in a 19-cm width virtual corridor set along the wall (thigmotaxis). Data were averaged per blocks of trials and statistically tested by a two-way ANOVA. During probe tests, the time spent in each quadrant of the pool and the number of crossings over the platform position were recorded. Data were analyzed with one-sample  $t$  test relative to 25% and Student  $t$  test between WT and KO mice. Mice were killed 90 min after the probe test.

**Stereotaxic Injection.** Engineered self-inactivating Moloney murine retroviruses expressing GFP to label proliferating cells and their progeny were used (3). *Zif268*-KO ( $n = 7$ ) and WT ( $n = 7$ ) littermate mice housed under standard conditions were stereotaxically injected with the retroviral solution in the dentate gyrus (DG) (1  $\mu$ L at 0.2  $\mu$ L/min) at coordinates  $-1.7$  mm from bregma,  $\pm 1.7$  mm lateral, 1.7 mm below brain surface. Mice were killed 3 (WT  $n = 3$ ; *zif268*-KO  $n = 3$ ) and 6 wk (WT  $n = 4$ ; *zif268*-KO  $n = 4$ ) later.

**Tissue Preparation and Sectioning.** Mice were deeply anesthetized with pentobarbital (0.2 mL/30 g body weight) and perfused transcardially with a solution containing 4% (vol/vol) cold paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (PB), pH 7.4. Brains were dissected out and fixed overnight in the same perfusion solution at 4 °C, immersed for 5 d in PB containing 20% sucrose and frozen in chilled 2-methylbutane ( $-50$  °C). Coronal serial sections [14- $\mu$ m thick for the DG and 40- $\mu$ m thick for olfactory bulb (OB) and subventricular zone (SVZ)] were cut with a cryostat (Microm HM 550 OMP). Sections of 14- $\mu$ m thick were mounted on superfrost-plus slides (Techno Scientific). For the retrovirus injection groups, brains were cut in 60- $\mu$ m-thick free-floating sections at the same anatomical levels.

**Immunocytochemistry.** As described previously (4), brain sections were preincubated in Target Retrieval Solution (Dako) for 20 min at 95 °C. After cooling for 20 min, sections were treated with 0.5% Triton in PBS for 30 min and then for 3 min with pepsin (0.0125% in 0.1 N HCl; Sigma-Aldrich). Endogenous peroxidases were blocked with a solution of 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 0.1 M PBS. Sections were then incubated for 90 min in 5% normal serum (Jackson ImmunoResearch), 5% BSA (Sigma-Aldrich), and 0.125% Triton X-100 to block nonspecific binding, and incubated overnight at 4 °C in a mouse anti-BrdU primary antibody (1:100; Millipore) to label newborn cells, or a rabbit anti-Zif268 or rabbit anti-c-Fos antibody to label activated cells. Sections were then incubated in a horse biotinylated anti-mouse (1:200; Vector Laboratories) or a goat biotinylated anti-rabbit (1:200; Vector Laboratories) secondary antibody for 2 h at room temperature. Sections were then processed with avidin-biotin-peroxidase complex (1:200; ABC Elite Kit; Vector Laboratories) for 30 min, followed by three rinses of 5 min in PBS. Finally, peroxidase detection was conducted with 3,3'-diaminobenzidine-tetrahydrochloride (0.06%; Sigma-Aldrich) as chromogen with nickel (0.03% NiCl<sub>2</sub>) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.03%) to obtain black immunolabeling. Sections were dehydrated in graded ethanols and coverslipped in Eukitt (Sigma-Aldrich).

For BrdU double- and triple-labeling, sections treated as above were incubated overnight at 25 °C in rat anti-BrdU (1:100; Abcys) or mouse anti-BrdU (1:100; Millipore) antibodies with guinea-pig antidoublecortin (anti-DCX) (1:500; Millipore), mouse anti-NeuN (1:500; Millipore), rabbit anti-GFAP (1:3,000; DAKO), rabbit anti-Zif268 (1:1,000; Santa Cruz Biotechnology), rabbit

anti-c-Fos (1:3,000; Santa Cruz), rabbit anti-adenylate cyclase III (ACIII; 1:250; Santa Cruz), rabbit anti-glutamate receptor 1 (GluR1; 1:200; Millipore), rabbit anti-KCC2b (1:500; Sigma-Aldrich), or mouse anti-NKCC1 (1:200; T4-c; DSHB) antibodies. Sections were then incubated for 2 h at room temperature in goat anti-rat Alexa 568 (1:200; Invitrogen) or donkey anti-mouse Alexa 549 (1:200; Invitrogen) with horse biotinylated anti-mouse (1:200; Vector Laboratories) or goat biotinylated anti-rabbit (1:200; Vector Laboratories) antibodies followed by streptavidin Alexa 488 (1:1,000; Invitrogen), or with goat anti-guinea pig (1:200; Invitrogen), goat anti-rabbit (1:200; Invitrogen), or donkey anti-mouse (1:200; Invitrogen) antibodies conjugated with Alexa 488 or Alexa 647, and mounted in vectashield medium with DAPI (Vector Laboratories).

For GFP labeling, brain sections were incubated 2 min in proteinase K (Euromedex), rinsed for 1 h in glycine, saturated in blocking solution, and incubated for 48–72 h at 4 °C with a rabbit anti-GFP (1:5,000; Invitrogen). Sections were then incubated 2 h at room temperature in goat anti-rabbit (1:500; Invitrogen) antibodies conjugated with Alexa 488 and mounted in vectashield medium with DAPI (Vector Laboratories).

**Quantification and Image Analysis.** All cell counts were conducted by an experimenter blind to the genotype and experimental condition. **BrdU<sup>+</sup> nuclei quantification.** Labeled profiles were counted with an Olympus microscope (BX60) coupled with mapping software (Mercator Pro; Explora Nova). All BrdU nuclei were counted in the DG of the hippocampus in eight sections per animal spaced by 280  $\mu$ m, from bregma  $-1.34$  mm to  $-3.28$  mm, as previously described (4). For the OB, BrdU nuclei were counted in 12 sections spaced by 120  $\mu$ m in the granule cell area including the mitral cell and internal plexiform layers. Immunostained nuclei for the SVZ were quantified in 50  $\times$  50- $\mu$ m areas and analyzed on 11 sections per animal spaced by 120  $\mu$ m. The profile density (number of labeled cells per square millimeter on sections) was derived from these data, the volume of the region of interest was calculated according to conventional stereological equation, and the total number of cells was calculated as described previously (4).

**NeuN<sup>+</sup>, zif268<sup>+</sup> and c-Fos<sup>+</sup> cells quantification.** To estimate the total number of mature NeuN neurons in the DG, six stacks in two sections per mouse (three of each DG blade) were collected at 40 $\times$  using a confocal microscope (Zeiss LSM700). The number of NeuN<sup>+</sup>/DAPI<sup>+</sup> cells in each stack was counted manually and the size of the counted area was measured. From this the density of NeuN<sup>+</sup> cells in the DG was calculated (5). For Zif268 or c-Fos, all positive nuclei were counted in three sections per animal spaced

by 560  $\mu$ m with an optical microscope coupled with mapping software (Mercator Pro). We then determined the proportion of mature NeuN neurons expressing Zif268 or c-Fos for each genotype and experimental condition as previously described (5).

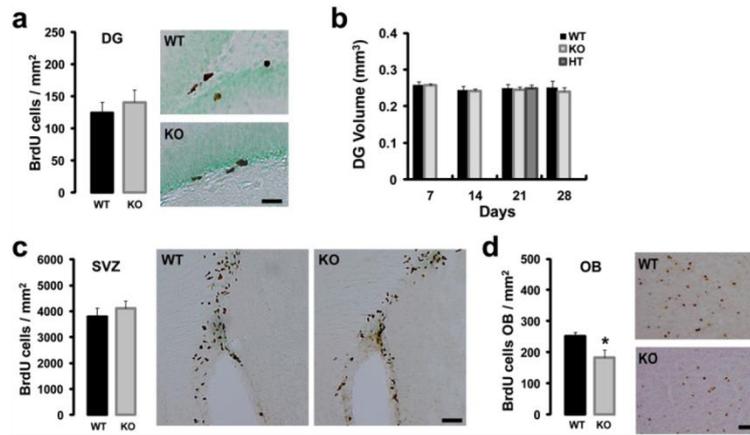
**Double- and triple-labeling analysis and quantification.** Sections were analyzed using the Zeiss confocal system. To establish the percentage of BrdU cells double-labeled with DCX, NeuN, Zif268, GFAP, ACIII, GluR1, KCC2b, or NKCC1, or triple-labeled with NeuN and c-Fos or Zif268, 8–16 serial sections (280- $\mu$ m spacing) from all mice were examined throughout the DG. Colocalizations were evaluated on 80–100 BrdU<sup>+</sup> cells per group of mice by performing z-stack acquisitions and 3D reconstructions to univocally verify double or triple labeling. All acquisitions were carried out in sequential scanning mode to prevent cross-bleeding between channels.

**Statistical Analysis.** All data were averaged across animals within each experimental group and are presented as means  $\pm$  SE. Statistical comparisons were conducted by two-way ANOVA and by *t* test. Significance level was set at  $P < 0.05$ .

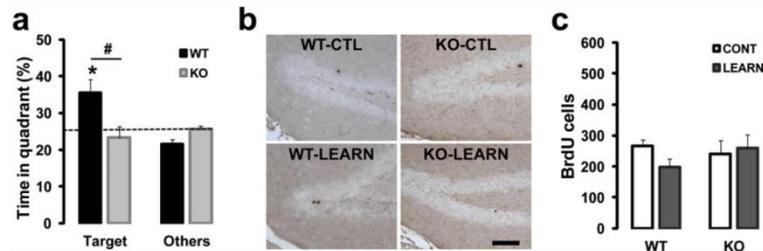
**Analyses of GFP<sup>+</sup> Neurons.** Images were acquired on a Zeiss confocal microscope. The z-stack series of confocal images were acquired at 1,024  $\times$  1,024-pixel resolution, with a pinhole setting of one Airy unit and optimal settings for gain and offset. For dendritic analysis, 3D reconstructions of the dendritic processes of each GFP<sup>+</sup> neuron were made from z-stacks with a 40 $\times$  objective. Lateral and z-axis resolutions were 280–350 nm and 500 nm, respectively. For spine density, dendrites were imaged through a 63 $\times$  objective with lateral and z-axis resolutions of 50–80 nm and 200 nm, respectively. Dendritic processes and dendritic spines were then analyzed using NeuronStudio software. Total dendritic length, mean dendritic length, primary dendrite length, maximum and minimum dendrite length, and branching points of each individual GFP<sup>+</sup> neuron in the granule cell layer were analyzed. The Sholl analysis for dendritic complexity was carried out by counting the number of dendrites that cross a series of concentric circles at 20- $\mu$ m intervals from the soma. These analyses were performed in 18–25 cells and 18–25 dendrites per group of mice. Data of dendritic length, branching points and spine density were compared between *zif268*-KO and WT mice using Student *t* test. Statistical comparisons for Sholl analysis were conducted by repeated measures two-way ANOVA followed by Student post hoc *t*-test. The statistical significance of cumulative frequency was assessed using Kolmogorov–Smirnov test.

1. Jones MW, et al. (2001) A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci* 4(3):289–296.
2. Trouche S, Bontempi B, Roulet P, Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(14):5919–5924.
3. van Praag H, et al. (2002) Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415(6875):1030–1034.

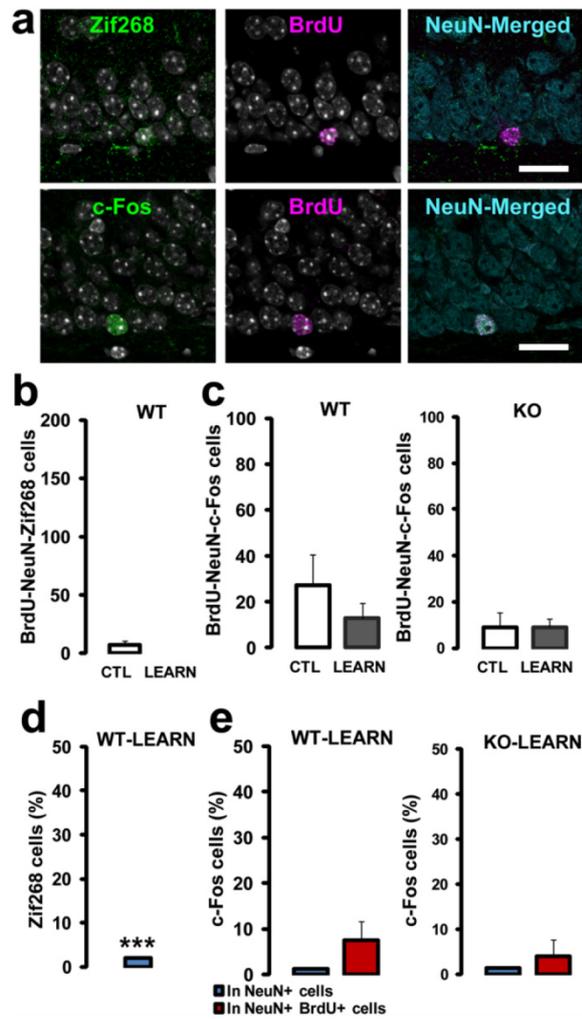
4. Veyrac A, et al. (2011) CRMP5 regulates generation and survival of newborn neurons in olfactory and hippocampal neurogenic areas of the adult mouse brain. *PLoS One* 6:e23721.
5. Kee N, Teixeira CM, Wang AH, Frankland PW (2007) Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat Neurosci* 10(3):355–362.



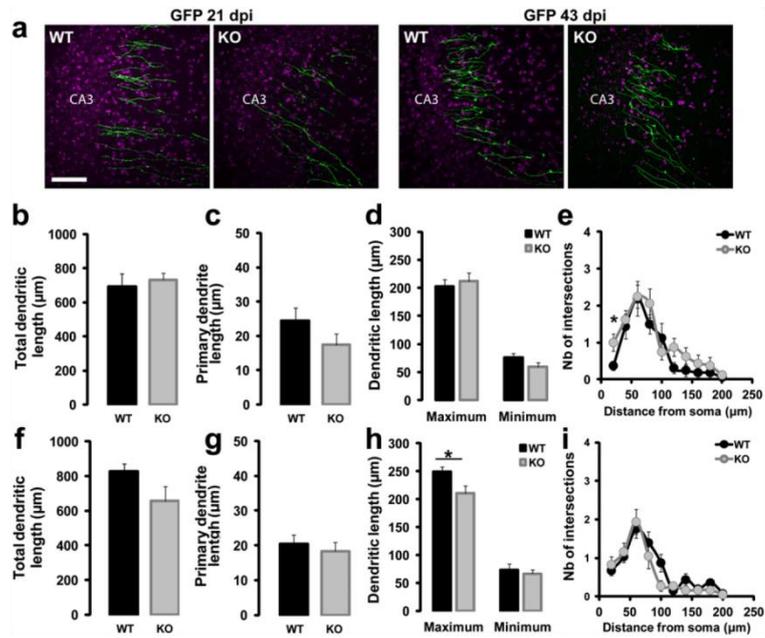
**Fig. S1.** Cell proliferation in the DG and SVZ and newborn neurons survival in the OB of WT and *zif268*-KO mice. (A) The total number of BrdU-labeled cells in the DG 4 h after one BrdU injection was similar between WT and *zif268*-KO mice. Number of mice: WT  $n = 7$ ; KO  $n = 7$ . (Scale bar, 20  $\mu\text{m}$ .) (B) The volume of the DG was similar between WT, HET, and *zif268*-KO mice. Number of mice: 7 d postinjection (dpi) 7 WT, 8 KO; 14 dpi 8 WT, 8 KO; 21 dpi 6 WT, 7 KO; 28 dpi 7 WT, 7 KO; 34 and 43 dpi 6 WT, 6 KO; (HET): 21 dpi  $n = 5$ . (C) No difference in proliferation of progenitor cells labeled with BrdU in SVZ between genotypes. Number of mice: WT  $n = 7$ ; KO  $n = 5$ . (Scale bar, 100  $\mu\text{m}$ .) (D) The total number of 21-d-old newborn cells is decreased in olfactory bulb of *zif268*-KO mice. (Scale bar, 50  $\mu\text{m}$ .) Number of mice: WT  $n = 6$ ; KO  $n = 5$ . Data are means  $\pm$  SEM in this and subsequent figures. \* $P < 0.05$ .



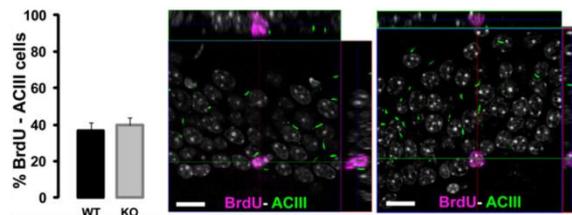
**Fig. S2.** Massed spatial training does not increase survival of 9-d-old newborn dentate granule cells (DGCs). (A) During the probe test 25 d after acquisition, WT mice spent significantly more time searching in the target quadrant compared with other quadrants, unlike *zif268*-KO mice that did not. WT,  $n = 6$ ; KO,  $n = 5$ . (B) Photomicrographs showing BrdU staining in WT and *zif268*-KO mice at 34 dpi, 25 d after acquisition, in control (CTL) and learning (LEARN) groups. (Scale bar, 80  $\mu\text{m}$ .) (C) No difference in the total number of BrdU<sup>+</sup> cells, aged 9 d at the time of acquisition, in the CTL and LEARN groups between genotypes. CTL and LEARN: WT  $n = 6$ ; KO  $n = 6$ . \* $P < 0.05$ , # $P < 0.05$ .



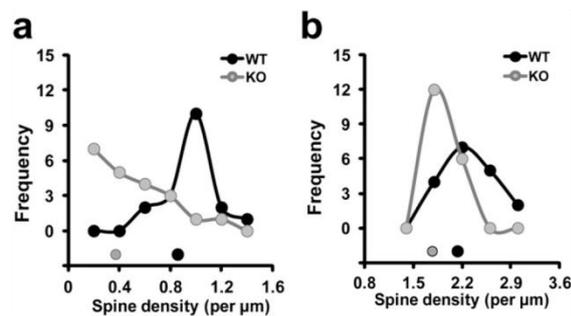
**Fig. S3.** Spatial training does not recruit 9-d-old newborn DGCS. (A) Confocal micrographs of 34-d-old BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> neurons expressing Zif268 or c-Fos in a WT mouse. (Scale bar, 25  $\mu$ m.) (B) Upon spatial memory recall (LEARN), the number of 9-d-old BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> DGCS expressing Zif268 was not different from the control group (CTL). (C) The number of BrdU<sup>+</sup>/NeuN<sup>+</sup> neurons expressing c-Fos upon recall was similar between genotypes and not significantly different from their respective control groups. (D) Upon recall, a higher proportion of preexisting neurons in WT mice expressed Zif268, compared with 9-d-old newborn DGCS. (E) The proportion of c-Fos-expressing neurons was similar for newborn and preexisting DGCS in WT mice and *zif268*-KO mice. CTL: WT  $n = 6$ ; KO  $n = 6$ ; LEARN: WT  $n = 5$ ; KO  $n = 6$ . \*\*\* $P < 0.005$ .



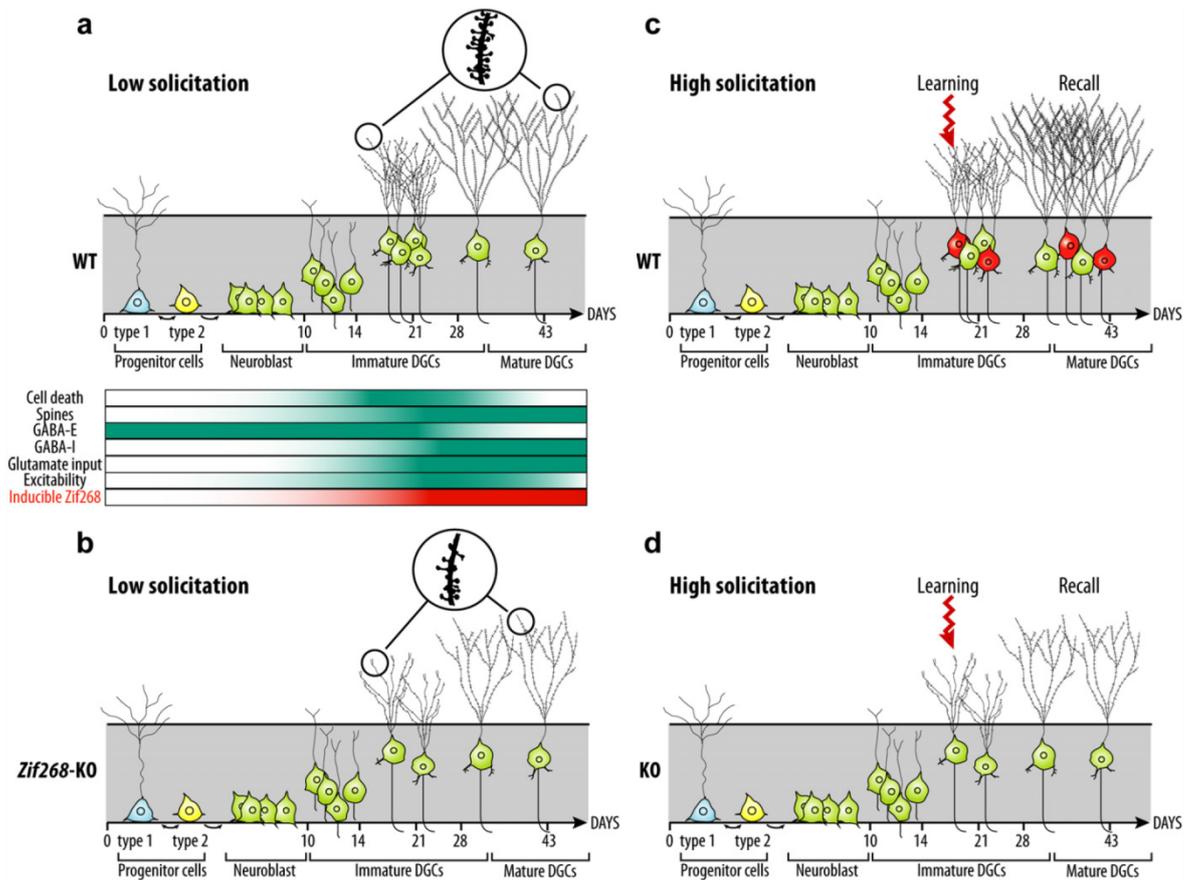
**Fig. S4.** *Zif268* regulates the morphological maturation of newborn neurons. (A) Confocal 3D reconstruction of axonal projections of newborn GFP-labeled DGCs in area CA3, 21 and 43 d after retroviral vector injection showing normal efferent connectivity in WT and *zif268*-KO mice. (Scale bar, 50  $\mu$ m.) (B) Total dendrite length of 21-d-old newborn DGCs was similar between genotypes. (C) Primary dendrite length at 21 dpi was similar between genotypes. (D) Maximum and minimum length at 21 dpi was similar between WT and *zif268*-KO mice. (E) Sholl analysis of dendrite complexity at 21 dpi, showing more intersections near the soma in *zif268*-KO mice. (F) Total dendrite length at 43 dpi was similar between genotypes. (G) Primary dendrite length at 43 dpi was similar between genotypes. (H) Maximum length of dendrite of new DGCs aged 43 d is decreased in *zif268*-KO compared with WT mice. (I) Dendrite complexity at 43 dpi was similar between WT and *zif268*-KO mice. WT  $n = 16$ ; KO  $n = 16$  in B–E; WT  $n = 25$ ; KO  $n = 18$  in F–I. \* $P < 0.05$ .



**Fig. S5.** *Zif268* is not required for primary cilia formation. The proportion of BrdU<sup>+</sup>ACIII<sup>+</sup> at 21 dpi was similar between genotypes. Representative BrdU<sup>+</sup> cell labeled (Left) or not labeled (Right) with ACIII. (Scale bars, 20  $\mu$ m.) WT  $n = 6$ ; KO  $n = 7$ .



**Fig. S6.** *Zif268* regulates spine formation across the whole population of newborn DGCs. (A) Frequency of spine density in 21-d-old newborn DGCs. (B) Frequency of spine density in 43-d-old newborn DGCs. 21 dpi: WT  $n = 16$ ; KO  $n = 16$ ; 43 dpi: WT  $n = 25$ ; KO  $n = 18$ .



**Fig. S7.** Schematic model of *zif268* function in adult DG neurogenesis. (*Left*) Basal condition with low solicitation. (*A*) In WT mice, newborn DGs (green), which derived from neural progenitor cells (type 1 and type 2, blue and yellow, respectively), migrate and integrate into the DG circuit within 6 wk after birth. Axons are elongated and contact hilar and CA3 pyramidal cells after 1–2 wk, then dendrites extend in the molecular layer and spines start to appear after 2 wk. During synaptogenesis, new DGs compete to survive, leaving the majority eliminated by programmed cell death within 2–4 wk after birth. The physiological properties of newborn DGs are marked by a gradual change in the expression of chloride cotransporters during the maturation processes. Before 21 d, immature neurons are initially depolarized by GABA (GABA-E) and then depolarized (GABA-I) along with expression of AMPA glutamate receptors and their progressive responsiveness to glutamatergic inputs. At this stage, newborn DGs are hyperexcitable, display properties of enhanced synaptic plasticity, and are prone to integrate the existing hippocampal neurocircuitry. In basal condition, a small proportion of newborn DGs express *Zif268* in an inducible manner. Inducible *Zif268* expression significantly increases after 21 d, a period during which DGs are selected to die or to survive for long-term functional integration. (*B*) In the absence of *zif268*, because of their neurochemical and morphological (zoom) delayed maturation, the selection of DGs is drastically accelerated between 14 and 21 d after birth without affecting the whole population of surviving DGs at longer delays. (*Right*) Condition of DG high solicitation. (*C*) In WT mice, the occurrence of spatial learning would recruit a population of newborn DGs that are at the brink of selection during the critical period (red neurons, learning), as derived from their observed activation upon memory reactivation (red neurons, recall). As young newborn DGs are activated by learning, they would express *zif268* and other immediately early genes and (yet unknown) gene programs, resulting in learning promoting their survival and functional incorporation into hippocampal network, thereby subserving long-term hippocampal-dependent memory formation. (*D*) In contrast, in the absence of *zif268*, young newborn DGs (around 18-d-old) are functionally more immature. They are not recruited by learning and are not incorporated nor activated upon recall in association with impaired long-term memory. Image courtesy of Lydie Collet.

# Discussion générale



Le travail de recherche présenté dans ce manuscrit s'est intéressé à l'étude de l'implication de la neurogenèse adulte hippocampique dans la mémoire épisodique ainsi qu'aux mécanismes qui sous-tendent la participation des nouveaux neurones dans les processus mnésiques dépendants de l'hippocampe. Les résultats exposés dans cette thèse ont permis : 1) de présenter et valider une nouvelle tâche de mémoire épisodique chez le rongeur qui offre de nouvelles opportunités d'étude des mécanismes qui sous-tendent la formation et la consolidation à très long terme de cette forme de mémoire dans des conditions les plus proches de la mémoire épisodique chez l'Homme; 2) d'identifier un rôle nouveau des neurones néoformés hippocampiques dans la consolidation et le rappel fiable de souvenirs épisodiques qui partagent des éléments communs ; 3) de démontrer que le gène immédiat précoce Zif268 est un acteur essentiel des mécanismes moléculaires qui participe à l'intégration fonctionnelle et au recrutement des nouveaux neurones dans la consolidation mnésique.

## I. Mécanismes de consolidation d'une mémoire épisodique chez le rongeur

### A. Une nouvelle tâche de mémoire épisodique

Un défi majeur des recherches sur les mécanismes sous-tendant la formation de souvenirs complexes, comme c'est le cas dans la mémoire épisodique, est de développer des modèles animaux appropriés pour s'approcher expérimentalement de paradigmes de mémoires proches de situations plus « éthologiques ». La première étude de mémoire épisodique réalisée par Clayton et coll. sur le geai (Clayton & Dickinson, 1998) répond à un certain nombre de critères que ces auteurs ont défini comme essentiels pour explorer la mémoire épisodique chez l'animal (voir pour revue Clayton *et al.*, 2003). Même si cette étude a ouvert un domaine de recherche à part entière, dans lequel plusieurs modèles similaires ont été proposés notamment chez le rongeur de laboratoire, les tâches de mémoire épisodique actuellement disponibles sont pourtant limitantes. En effet, la plupart ne permettent pas de tester certaines des caractéristiques principales de la mémoire épisodique telle qu'elle est définie chez l'Homme, en particulier la capacité à pouvoir conserver une mémoire intégrée à très long terme après une expérience limitée et de pouvoir l'utiliser de façon flexible. Au cours de ce travail de thèse, nous avons développé, en collaboration avec l'équipe « Olfaction : du codage à la mémoire » du Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, une nouvelle tâche de mémoire épisodique afin de tester au mieux chez le rongeur les caractéristiques de cette mémoire définie initialement chez l'Homme. Cette tâche a d'ailleurs été développée à Lyon en parallèle chez l'Homme (Saive *et al.*, 2013, 2014a). Dans notre tâche, nous proposons à des rats de vivre des épisodes durant lesquels ils vont spontanément associer

des odeurs renforcées positivement ou négativement (**Quoi**), à différents ports à odeurs (**Où**), en fonction du contexte de l'enceinte expérimentale (**Dans quel contexte**) dans laquelle ils sont placés. Nous avons choisi d'utiliser les odeurs comme éléments du « Quoi » car l'odorat représente chez les rongeurs une modalité sensorielle dominante qui guide de nombreux comportements sociaux (reconnaissance mère/enfant, comportement sexuel, *etc.*) ou alimentaires ; et par ailleurs, les odeurs représentent un indice de rappel particulièrement fort de la mémoire épisodique (Aggleton & Waskett, 1999; Saive *et al.*, 2014b). En effet, les souvenirs épisodiques évoqués par les odeurs semblent plus liés à une charge émotionnelle que d'autres indices de rappel et pour cette raison plus facilement rappelés (Laudien *et al.*, 2008; Adolph & Pause, 2012; Masaoka *et al.*, 2012; Arshamian *et al.*, 2013; voir pour revue Pause *et al.*, 2013). Comme pour toutes les tâches précédemment développées, la validité de notre modèle pour l'étude de la mémoire épisodique telle qu'elle a été définie au départ chez l'animal ainsi que ces limites et avantages sont discutables.

Premièrement, même si la mémoire épisodique a été définie chez l'animal comme la mémoire du « Quoi – Où – Quand » (voir pour revue Clayton *et al.*, 2003), un fort débat persiste dans la communauté scientifique sur la composante « Quand » car elle est particulièrement difficile à modéliser et à tester chez l'animal. Les premières études de la mémoire épisodique réalisées chez l'animal ont utilisé le « Quand » comme le temps qui s'est écoulé depuis qu'un événement a eu lieu (Clayton & Dickinson, 1998; Ergorul & Eichenbaum, 2004; Babb & Crystal, 2005, 2006a; Dere *et al.*, 2005a, 2005b; Kart-Teke *et al.*, 2006). Différentes études réalisées par la suite ont tenté de déterminer si les animaux utilisent préférentiellement le moment de la journée, c'est-à-dire le « Quand », ou plutôt le temps écoulé, c'est-à-dire le « Depuis combien de temps » pour replacer un événement épisodique dans le temps, mais les résultats restent contradictoires. En effet, en utilisant un même paradigme expérimental en labyrinthe radial, Babb et coll. ainsi que Roberts et coll. montrent que les animaux utilisent le temps qui s'est écoulé depuis qu'un événement a eu lieu (Babb & Crystal, 2006b; Naqshbandi *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2008) alors que Zhou et coll. montrent que les animaux utilisent préférentiellement comme repère temporel le moment de la journée (Zhou & Crystal, 2009, 2011). Ce débat a amené l'équipe de Eacott et coll. à proposer une vision nouvelle de la dimension temporelle de la mémoire épisodique en proposant de la remplacer par une dimension contextuelle : « Dans quel contexte » (Eacott & Norman, 2004; Eacott *et al.*, 2005; Easton & Eacott, 2008; Eacott & Easton, 2010). Cette proposition a par ailleurs été motivée par le fait que la reconstruction temporelle du souvenir chez l'Homme utilise plus souvent l'occasion à laquelle un événement particulier a eu lieu que la restitution exacte de la date de cet événement ou du temps écoulé (Friedman, 1993) : la dernière fois que je suis venue à Paris, j'ai vu mon amie dans sa nouvelle maison et nous avons discuté dans son jardin jusqu'à tard dans la nuit, ce devait donc être en été. Une occasion peut être caractérisée par des informations temporelles mais aussi par des informations contextuelles non temporelles,

comme restituées ici dans ce rappel épisodique qui utilise des éléments contextuels du souvenir (le jardin de la nouvelle maison de mon amie tard le soir) pour replacer l'événement dans le temps (en été). Pour toutes ces raisons, notre tâche de mémoire épisodique utilise de façon délibérée cette définition « **Quoi – Où – Dans quel contexte/A quelle occasion** » et répond à la définition opérationnelle de la mémoire épisodique proposée chez l'animal (Eacott & Norman, 2004; Eacott *et al.*, 2005; Easton & Eacott, 2008; Eacott & Easton, 2010). Néanmoins, même si cette définition semble appropriée chez l'animal comme chez l'Homme (Saive *et al.*, 2013), est-elle vraiment comparable à la reconstruction dans le temps du souvenir définie par Tulving (Tulving, 1985c) ? Les réseaux cérébraux impliqués dans la reconstruction du moment du souvenir épisodique sont-ils les mêmes que ceux impliqués dans la reconstruction du contexte dans lequel il a eu lieu ? Même s'il est effectivement difficile de tester la composante « Quand » chez l'animal, il serait possible dans notre tâche d'accentuer cette composante temporelle en accentuant le moment de la journée où sont présentés les épisodes E1 et E2 (exposition à E1 uniquement le matin et à E2 uniquement l'après-midi par exemple) ; voir de tester uniquement la composante temporelle en utilisant le même contexte pour les épisodes E1 et E2 et en présentant E1 uniquement le matin et E2 uniquement l'après-midi. Ceci permettrait d'analyser les réseaux neuronaux impliqués dans ces deux types de reconstruction (temporelle ou contextuelle) du souvenir épisodique.

Deuxièmement, la « recollection » du souvenir épisodique présuppose que les animaux se souviennent de l'ensemble des éléments composant le souvenir (voir pour revue Clayton *et al.*, 2003). L'avantage de notre tâche est qu'elle permet aux rats de former une association épisodique constituée des différents éléments odeurs – localisation des ports – contextes, tout en permettant d'identifier au travers de la performance, quels éléments du souvenir et quelles associations sont rappelés. En effet, à l'opposé de certaines tâches reposant sur la reconnaissance d'objets dans lesquelles il est difficile de dissocier les différents éléments les uns des autres et d'accéder aux mécanismes qui sous-tendent les différentes composantes, lors du rappel dans notre tâche, les rats sont replacés dans un des deux contextes, et en fonction de ces informations contextuelles ils sélectionnent un port, puis ils décident de boire ou d'éviter la boisson en fonction de l'odeur délivrée. Ce trajet de reconstruction du souvenir permet de déterminer successivement et indépendamment les éléments de l'épisode dont le rat se souvient. Cette caractéristique originale de notre tâche nous a d'ailleurs permis de définir différents profils de rappel de la mémoire épisodique (voir partie 1, résultats, I.B et III.B, page 108 et 130). Ces différents profils nous permettent de déterminer pour une condition donnée (1 vs 2 expositions aux épisodes, rappel à court vs à long terme, inactivation d'une structure cérébrale, etc.) la proportion de rats dans les différents profils afin de mettre en évidence des subtilités individuelles de niveau de recollection dans un même groupe. Notre tâche est la première à proposer une **analyse individuelle** de la recollection des différents éléments qui composent le souvenir épisodique chez les rongeurs, caractéristique importante

de la mémoire épisodique chez l'Homme. Ce type d'analyse permet également de pouvoir associer le recrutement de réseaux en lien avec les différents profils de recollection que ce soit en imagerie cellulaire (expression de c-Fos et/ou Zif268) après le rappel ou directement lors de l'encodage et du rappel du souvenir épisodique par enregistrements électrophysiologiques grâce à l'implantation d'électrodes d'enregistrements dans différentes aires cérébrales d'intérêt en lien direct avec le comportement de l'animal dans la tâche, travail réalisé par Nadine Ravel et son équipe au Centre de recherche en Neurosciences de Lyon. Cette analyse apporterait également un avantage important dans des recherches destinées à étudier finement l'impact de certaines conditions pathologiques (maladies neurologiques ou neurodégénératives, stress post-traumatique, *etc.*) ou physiologiques (vieillesse, influence de certaines hormones, *etc.*) sur la recollection des différents éléments de la mémoire épisodique. Dans cette optique, il serait particulièrement intéressant de mieux comprendre comment à la base chaque individu encode le souvenir épisodique et amène *in fine* à des profils de recollection différents afin de pouvoir identifier des dysfonctionnements spécifiques liés à certaines situations physiologiques et pathologiques.

Troisièmement, la formation d'un souvenir épisodique ne nécessite **pas d'apprentissage** et il suffit souvent de **vivre une seule fois** un épisode de vie pour s'en souvenir même à **très long terme**. Le maintien à long terme d'un souvenir épisodique pourrait par contre être selon certains auteurs modulé par le nombre de répétitions mais aussi le nombre de rappels de la mémoire faisant intervenir les mécanismes de consolidation et de reconsolidation mnésique (McKenzie & Eichenbaum, 2011). Au final, la répétition d'un même événement peut aboutir à la sémantisation du souvenir épisodique ou du moins à une partie du souvenir, ce qui entraîne des modifications dans les réseaux neuronaux impliqués lors du rappel du souvenir. Or, la plupart des tâches développées chez l'animal nécessitent un long apprentissage et aucune n'a permis de démontrer des capacités de rappel de la mémoire épisodique à très long terme (Fortin *et al.*, 2002, 2004; Babb & Crystal, 2005, 2006a; Naqshbandi *et al.*, 2007; Zhou & Crystal, 2009, 2011). Pour certaines, soit elles testent le rappel de la mémoire épisodique seulement à long terme (24 heures) mais nécessitent un apprentissage long (Roberts *et al.*, 2008; Fellini & Morellini, 2013), soit elles ne nécessitent pas de répétitions de l'encodage car reposant sur la reconnaissance d'objets mais dans ce cas, le rappel de la tâche n'excède pas quelques minutes (Eacott & Norman, 2004; Dere *et al.*, 2005b; Eacott *et al.*, 2005; Kart-Teke *et al.*, 2006). La tâche que nous avons développée présente l'avantage de ne pas faire appel à un entraînement pour l'encodage de l'association épisodique. Les rats apprennent dans un premier temps à utiliser l'enceinte expérimentale et le système de récompense (ports à odeurs et pipettes) durant la phase d'habituation puis ils sont exposés à de courts épisodes, comme c'est le cas chez l'Homme (25 minutes avec une seule présentation des épisodes et 50 minutes avec deux présentations). Avec une seule présentation des épisodes, 14% des rats ne se souviennent ni du bon port ni de la bonne odeur, 43% des rats se souviennent du bon

port lié au contexte testé, 14% des rats se souviennent uniquement de la bonne odeur liée au contexte et le reste se souvient du bon port et de la bonne odeur liés au contexte testé (Profil « Quoi – Où ») ; une seconde présentation des épisodes est suffisante pour que la totalité des rats présentent un profil de type « Quoi – Où » lié au contexte à long terme (24 heures) et pour une grande majorité d'entre eux à très long terme (24 jours). Afin de comparer deux conditions expérimentales (rats Sham vs Muscimol, Sham vs irradiés), nous avons fait le choix de présenter deux fois les épisodes aux rats afin de maximiser le nombre de rats présentant le profil « Quoi – Où – Dans quel contexte » et ainsi obtenir des groupes expérimentaux contenant suffisamment d'animaux pour pouvoir les comparer statistiquement lors de l'étude des réseaux neuronaux ou de l'implication de la neurogenèse. Par contre, il est tout à fait envisageable de ne présenter qu'une fois les épisodes afin de coller au plus près à la définition de la mémoire épisodique. Quoi qu'il en soit, nous restons néanmoins dans des expositions relativement courtes dans la vie de l'animal par rapport aux protocoles précédemment développés. De plus, lors de la présentation des épisodes, les animaux peuvent faire au maximum 24 essais qu'ils réalisent de la façon qu'ils souhaitent afin d'explorer la totalité des combinaisons possibles (bon port bonne odeur, bon port mauvaise odeur, mauvais port bonne odeur et mauvais port mauvaise odeur). Ceci peut paraître beaucoup mais du fait qu'il y ait pour chaque épisode 4 combinaisons possibles lors de l'encodage, au final l'animal ne peut tomber au maximum que 12 fois sur le bon port avec la bonne odeur pour chaque contexte. Associé au fait que les rats explorent librement l'arène expérimentale ainsi que les deux ports et qu'ils ne réalisent pas forcément 24 essais à chaque fois, ils tombent en moyenne 8 fois sur la combinaison bon port – bonne odeur présentée durant 13 secondes à l'animal, durée durant laquelle ils peuvent, s'ils le souhaitent, boire ou non. Notre tâche ne repose donc pas sur un conditionnement de l'animal à ne faire qu'une seule combinaison tout au long de la présentation des épisodes. Le fait que les rats soient acteurs lors de la présentation des épisodes et dans la décision qu'ils prennent au final sur la boisson, implique donc que l'encodage des épisodes est propre à chaque animal en fonction du nombre d'essais réalisés, du temps passé à explorer activement l'arène expérimentale, du nombre de visites sur le bon vs le mauvais port, du nombre de fois qu'il est tombé sur la bonne vs la mauvaise odeur mais aussi de sa condition physiologique (hormone de stress, moment dans le cycle circadien, fatigue, poids, etc.) et émotionnelle au moment de l'exposition aux épisodes. Par ailleurs, l'utilisation de renforcements positif et négatif augmente la charge émotionnelle pour l'animal et pourrait impliquer le circuit de la récompense. Cette **histoire individuelle** vécue durant les épisodes est sûrement, comme chez l'Homme, à la base de la diversité des profils individuels de recollection du souvenir que nous obtenons lors du rappel de cette mémoire. En effet, chez l'Homme, deux personnes ayant vécu toutes deux un même événement, peuvent se souvenir différemment de celui-ci car l'encodage d'un souvenir dépend de nombreux paramètres qui vont être différents en

fonction de l'individu : centres d'intérêt, émotions, états de stress ou encore de l'implication de l'individu dans l'événement. En effet, la force du souvenir épisodique est liée au caractère émotionnel de l'événement et la charge émotionnelle peut influencer positivement ou négativement la conservation à très long terme d'un souvenir (Libkuman *et al.*, 2004; Dere *et al.*, 2010; voir pour revue Pause *et al.*, 2013). Pour finir, une importante originalité de notre tâche est qu'elle est la seule à proposer un rappel de la mémoire épisodique à **très long terme** (24 jours) après un nombre très limité de présentations des épisodes. En effet, deux présentations des épisodes sont suffisantes pour que la totalité des rats présentent un profil « Quoi – Où – Dans quel contexte » à long terme (24 heures) et 62% à très long terme (24 jours). Alors qu'avec une seule présentation des épisodes environ 50% des rats présentent ce profil à long terme, il serait intéressant de vérifier la proportion de rats qui conserverait ce profil à très long terme après une seule présentation des épisodes. Grâce à cette capacité de mémorisation à très long terme, notre tâche permettrait pour la première fois d'étudier chez l'animal les mécanismes de consolidation systémique de mémoires épisodiques anciennes afin de déterminer les circuits et mécanismes neuronaux à l'origine de ce processus de consolidation et notamment d'appréhender le rôle de l'hippocampe à court mais aussi à très long terme ainsi que décours temporel du dialogue avec le cortex préfrontal dans le cas d'une mémoire intégrant divers éléments.

Enfin, notre tâche permet de tester la **flexibilité** et la **résolution** de la mémoire épisodique dans une situation interférente grâce à l'utilisation du test de rappel à 4 ports. Dans la vie courante, le rappel d'un souvenir se fait souvent dans une situation qui n'est pas totalement identique à celle de l'encodage. La recollection épisodique nécessite donc de pouvoir utiliser les souvenirs de façon flexible pour s'adapter à de nouvelles situations mais également de dissocier différents épisodes de vie même s'ils partagent des éléments proches voire communs (Clayton *et al.*, 2003; Eichenbaum & Cohen, 2004). Le test à 4 ports se déroule dans une situation nouvelle pour les rats puisque l'ensemble du contexte E2 est présenté en même temps que les ports et odeurs du contexte E1 non testé. Cette situation est hautement interférente car dans ce cas, les rats qui se souviennent du souvenir épisodique lié au contexte testé s'orientent vers l'association odeur – place associée au contexte E2 (IC) tout en ignorant l'association odeur – place associée au contexte E1 (OC). Dans cette situation, 80% des rats se souviennent au moins d'un élément composant l'épisode testé, et parmi eux 62,5% se souviennent de l'association épisodique dans son ensemble, indiquant qu'une majorité des rats sont capables de se souvenir de façon robuste les épisodes rencontrés précédemment et d'utiliser de façon flexible ce souvenir pour faire face à une situation de rappel nouvelle et interférente. D'autres auteurs ont également montré que les rongeurs sont capables d'utiliser un souvenir épisodique de façon flexible lorsque le test de rappel est différent de la situation d'encodage mais cette flexibilité n'a été testée qu'à court voire très court terme (Ergorul & Eichenbaum, 2004; Babb & Crystal, 2006b). Malgré l'originalité et les

résultats que ce test de rappel permet d'obtenir sur la force du souvenir épisodique, l'interprétation du comportement des rats face à cette situation de rappel peut paraître discutable. En effet, la nouveauté et la complexité du test en plus d'une situation d'extinction due à la présence d'eau à la place du sucre et de la quinine pourraient pousser les rats à considérer cette situation non pas comme une situation proche de celle rencontrée lors de l'épisode E2 mais comme une situation totalement nouvelle durant laquelle les rats ré-encodent une nouvelle association épisodique durant le test. Dans ce cas, des réponses données en relation avec le contexte non testé ou sur des configurations qui ne sont à priori pas liées aux contextes (définies comme « Indeterminés ») ne seraient pas synonyme d'un oubli de l'association épisodique mais d'une réponse adaptée à cette nouvelle situation. Il sera possible à l'avenir de tester des situations encore plus interférentes en évitant l'effet de nouveauté, par exemple en travaillant avec des épisodes utilisant les deux mêmes ports pour les contextes E1 et E2 (plus ou moins proches en terme d'ambiance visuelle et sonore), en associant les odeurs A+ et B- sur P1 durant l'épisode E1 et les odeurs C+ et D- sur P2 durant l'épisode E2. Lors du test de rappel, les rats seraient replacés dans un contexte donné avec les 2 ports utilisés durant l'encodage ce qui permettrait à la fois de complexifier les composantes spatiales et contextuelles tout en éliminant l'effet nouveauté, mais ne permettrait plus de tester la flexibilité. Par ailleurs, il serait intéressant de développer de nouveaux outils d'analyse permettant de représenter au fil du test de rappel les performances des rats essai après essai afin d'accéder au décours temporel de la recollection du souvenir épisodique.

Notre tâche répond donc aux critères permettant de caractériser la mémoire épisodique et, en parallèle du développement de tâches chez l'Homme, elle permet l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent la mise en mémoire et le rappel d'un souvenir épisodique. La tâche développée chez l'Homme présente certaines similitudes avec notre tâche chez le rongeur mais aussi quelques différences. Dans la tâche de mémoire épisodique développée chez l'Homme dans l'équipe de Lyon (Saive *et al.*, 2013, 2014a), les participants doivent associer une odeur (Quoi) à une image sur un écran (Contexte) et à une localisation précise sur cette image (Où), protocole comparable à celui utilisé chez le rongeur. Lors du rappel (24 à 72 heures), les participants sentent une odeur et doivent après avoir dit s'ils se souviennent ou non de cette odeur, identifier l'image associée puis choisir la localisation sur l'image afin de tester les réponses de types « Quoi – Où – Dans quel contexte ». Malgré un indice de rappel différent pour les deux tâches – le rappel du souvenir épisodique passe par l'odeur chez l'Homme alors qu'il passe par le contexte chez le rat – elles permettent toutes les deux l'analyse de la reconstruction du souvenir puisque les participants comme les rats déterminent successivement les éléments qui composent le souvenir épisodique ce qui permet de définir des profils de recollection. Les types de profil observés chez le rongeur ainsi que la proportion de rats présentant un profil « Quoi – Où – Dans quel contexte » après une seule présentation des épisodes sont comparables à ce qui a été obtenu chez l'Homme

(Saive *et al.*, 2013, 2014b). Notre tâche chez le rongeur représente donc un bon modèle pour l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent la mémoire épisodique.

## B. Réseau cérébral impliqué dans le rappel épisodique

Les réseaux neuronaux impliqués dans la mémoire chez l'Homme sont principalement mis en évidence grâce à l'étude de patients présentant des lésions de certaines aires cérébrales ou en utilisant des techniques d'imagerie fonctionnelle (IRMf, MEG). Le développement de tâches de mémoire chez l'animal permet d'étudier plus finement les mécanismes sous-tendant l'encodage et le rappel d'une mémoire *via* des approches moléculaires, cellulaires et/ou électrophysiologiques.

Nous avons dans un premier temps analysé l'**implication de l'hippocampe** dans le rappel de la mémoire épisodique dans notre tâche. Chez l'Homme, les lésions de l'hippocampe ou du fornix induisent de sévères déficits de mémoire épisodique (Scoville & Milner, 1957; Squire & Zola, 1996; Aggleton *et al.*, 2000). Par ailleurs, la recollection d'un souvenir épisodique active l'hippocampe ainsi que le gyrus parahippocampique postérieur alors que la familiarité active le gyrus parahippocampique antérieur (Tulving & Markowitsch, 1998; Eichenbaum, 2007; Eichenbaum *et al.*, 2007). Les patients présentant une lésion de l'hippocampe montrent un déficit de recollection mais pas de familiarité (Vann *et al.*, 2009), alors que les patients présentant une lésion de la région antérieure du lobe temporal médian comprenant le cortex périrhinal mais pas l'hippocampe montrent un déficit de familiarité sans déficit de recollection (Bowles *et al.*, 2007). Chez l'animal, les données suggèrent également une implication primordiale de l'hippocampe dans le processus de recollection en mémoire épisodique (Tulving & Markowitsch, 1998; Ergorul & Eichenbaum, 2004; Fortin *et al.*, 2004; Eichenbaum & Fortin, 2005; Eichenbaum, 2007; Easton *et al.*, 2009; Easton & Eacott, 2010; Fellini & Morellini, 2013). La formation d'une mémoire de type épisodique est perturbée par la lésion de l'hippocampe mais ne l'est pas par une lésion au niveau du cortex périrhinal (Eacott & Norman, 2004; DeVito & Eichenbaum, 2010; Vann & Albasser, 2011). L'hippocampe est donc une structure essentielle à la formation de la mémoire épisodique et plus particulièrement à l'intégration et à l'association des différents éléments qui la composent (Eichenbaum, 2007). Dans notre tâche, le rappel de la mémoire épisodique dans un test à 2 ports induit l'expression des gènes immédiats précoces c-Fos et Zif268 dans l'aire CA1 et le GD de l'hippocampe. De plus, l'altération de l'intégrité de l'hippocampe lors du rappel épisodique à long terme en test à 2 ports (24 heures) induit une perte de l'association épisodique, malgré le maintien de la composante « Où », qui reste assez facile en raison de l'arène rectangulaire. Ces données indiquent que dans notre tâche l'hippocampe a un rôle central dans le rappel d'une mémoire épisodique intégrée. Néanmoins, la dépendance de l'hippocampe dans le rappel du contexte n'étant testé que dans le test à 2 ports, il serait à l'avenir intéressant de

tester l'inactivation de l'hippocampe lors du rappel dans un test à 4 ports afin de vérifier son implication dans le rappel du souvenir en situation interférente. Par ailleurs, comme les ports font au final partie intégrante du contexte puisque pour le contexte 1 ce sont les ports 2 et 4 qui sont ouverts alors que pour le contexte 2 ce sont les ports 1 et 3 qui sont ouverts, un autre protocole utilisant les deux mêmes ports pour les deux contextes permettrait de renforcer l'importance relative de la place, afin d'encore mieux dissocier la place du contexte et de tester ces deux composantes indépendamment. Par contre, lors du test de rappel, nous ne montrons pas d'activation du cortex périrhinal, suggérant que les performances des animaux lors du rappel épisodique reposent plus sur un processus de recollection que de familiarité (Eichenbaum *et al.*, 2007). Néanmoins, la façon dont les épisodes sont reconstruits par l'animal lors du rappel nécessiterait d'être approfondi notamment en analysant l'activation et la communication entre les différentes aires cérébrales par électrophysiologie en lien direct avec le comportement de l'animal de façon à corrélérer finement les stratégies de réponses comportementales avec l'activation d'un réseau. Dans le rappel de la mémoire épisodique dans un test à 4 ports, les résultats de l'imagerie en c-Fos et Zif268 des animaux Sham, bien que très préliminaires, mettent en lumière certaines différences dans le recrutement d'aires cérébrales et notamment de l'aire CA1 en c-Fos et Zif268 et du GD en Zif268, indiquant une implication différente des aires hippocampiques lors d'une situation d'interférence. Par ailleurs, les performances des animaux lors du test de rappel en 4 ports sont fortement corrélées à l'activation de l'aire CA1 de l'hippocampe alors qu'elles l'étaient uniquement avec le GD en test à 2 ports. Il est possible que le fait d'utiliser les 4 ports au lieu de 2 lors du test de rappel induise une plus forte demande sur le souvenir de la place lors du test de rappel et donc une plus forte activation de l'aire CA1 fortement impliquée dans la mémoire spatiale.

En dehors des données montrant une forte implication de l'hippocampe, le **réseau neuronal** qui sous-tend la formation et le rappel de la mémoire épisodique n'a été que très peu étudié chez l'animal. Nous avons donc dans un deuxième temps abordé la question du réseau cérébral impliqué dans le rappel de la mémoire épisodique à long terme. Dans notre tâche nous montrons que des aires du cortex préfrontal (cortex limbique et cortex cingulaire antérieur) sont recrutées lors du rappel de la mémoire épisodique, et ce en test à 2 ou 4 ports, indiquant qu'il participe très tôt à la consolidation de la mémoire épisodique. Par ailleurs, la corrélation entre les performances de rappel épisodique et l'activation du réseau cérébral recruté montre que plus les animaux présentent de bonnes performances lors du rappel de la mémoire épisodique et plus la coactivation dans le cortex cingulaire et le GD est forte, suggérant que le rappel épisodique pourrait être conditionné par un dialogue particulier entre la partie dorsale du GD de l'hippocampe et le cortex cingulaire antérieur. Ces données semblent renforcer la théorie des traces multiples (Nadel & Moscovitch, 1997) en l'étendant à des formes de mémoires complexes comme la mémoire épisodique. A l'avenir, il sera

intéressant d'étudier à très long terme la consolidation systémique d'une mémoire épisodique et de déterminer les rôles respectifs de l'hippocampe et du cortex préfrontal à plus ou moins long terme. Certains auteurs montrent d'ailleurs chez l'Homme une implication de l'hippocampe dans le rappel d'une mémoire ancienne (plusieurs années) ainsi que la participation précoce du cortex rétrosplénial et de différentes aires du cortex préfrontal dans la mémoire épisodique (Gilboa *et al.*, 2004; Squire, 2004; Diana *et al.*, 2007; Hassabis & Maguire, 2007; Daselaar *et al.*, 2008). Chez l'animal, Bero *et coll.* montrent une implication précoce du cortex préfrontal dans une tâche de conditionnement de peur aux contextes puisqu'il présente une forte activation de l'expression de Zif268 dès le rappel à court terme de la mémoire et que son inactivation par optogénétique induit un déficit de mémoire à court et à long terme (Bero *et al.*, 2014). De plus, l'inactivation du cortex préfrontal à court terme après l'acquisition diminue l'expression de Zif268 dans l'aire CA1 de l'hippocampe suggérant un dialogue actif entre le cortex préfrontal et l'hippocampe nécessaire à une consolidation systémique rapide (Bero *et al.*, 2014). Par ailleurs, ces auteurs montrent au sein du cortex préfrontal une régulation importante de l'expression de gènes impliqués dans la plasticité synaptique et la formation mnésique dès le début de la phase de consolidation mnésique (1h après acquisition), associée à un remaniement fonctionnel important des dendrites et des synapses des neurones du cortex préfrontal (Bero *et al.*, 2014). Ces résultats indiquent que cette structure participe de façon active à la consolidation mnésique précocement en relation avec l'hippocampe. De même, une forte implication de l'hippocampe et du cortex préfrontal a été évoquée dans la consolidation de la mémoire épisodique chez la souris (DeVito & Eichenbaum, 2010; DeVito & Eichenbaum, 2011). Ces auteurs montrent que la lésion de l'hippocampe provoque un déficit sévère du rappel de l'association des différentes composantes de la mémoire épisodique « Quoi – Où – Dans quel contexte » alors que la lésion du cortex préfrontal induit uniquement un déficit sur la composante « Où », suggérant ainsi que l'hippocampe jouerait un rôle d'intégrateur de l'ensemble des éléments composant le souvenirs épisodique et que le cortex préfrontal serait plus impliqué dans une récupération plus sélective des informations de source de l'événement (DeVito & Eichenbaum, 2010). La mémoire de source se réfère aux conditions dans lesquelles une information a été encodée (lieu, personne, contexte, période, date, *etc.*), ce qui est typiquement le cas dans la mémoire épisodique, et particulièrement dans notre situation où des contextes spécifiques constituent des éléments fortement discriminants. Chez l'Homme, la mémoire de source implique fortement l'hippocampe (Rugg *et al.*, 2012) mais aussi le cortex préfrontal aussi bien lors de l'encodage que du rappel (Glisky *et al.*, 2001), ce qui pourrait expliquer la forte activation du cortex préfrontal lors du rappel dans notre tâche. Ces données posent par contre la question des mécanismes sous-tendant la communication entre ces deux aires cérébrales dès l'encodage du souvenir puis lors du rappel à long terme. Les nouveaux neurones produits dans le GD de l'hippocampe pourraient jouer un rôle important dans le dialogue entre

l'hippocampe et le cortex préfrontal, peut-être en permettant une meilleure discrimination des éléments composant le souvenir épisodique en combinant mémoire des associations entre éléments et mémoire de source.

L'autre résultat notable que nous avons obtenu sur le réseau recruté lors du rappel épisodique concerne l'activation en c-Fos des différentes aires du cortex orbitofrontal mais pas en Zif268 et la corrélation négative entre les performances de rappel épisodique des animaux et l'induction de Zif268 dans cette région cérébrale. En effet, nous montrons que moins les rats sont performants lors du test de rappel et plus Zif268 est induit dans le cortex orbitofrontal. Longtemps associé à la flexibilité (Stalnaker *et al.*, 2015), cette aire corticale a été plus récemment impliquée dans la représentation de séquences temporelles d'actions en réponse à des situations nouvelles mais proches, ainsi que dans l'évaluation et le filtrage des informations perceptuelles (sociales, émotionnelles ou motivationnelles), dans l'expectative d'une récompense et de sa comparaison avec la réalité ainsi que dans l'apprentissage de règles (Schoenbaum *et al.*, 1999, 2002; Stalnaker *et al.*, 2007, 2015; Wallis, 2007; Young & Shapiro, 2011; Rudebeck & Murray, 2014). Ceci confère donc à cette aire un rôle crucial dans la prise de décision à l'interface entre les processus émotionnels, motivationnels et cognitifs et la valeur attribuée aux stimuli environnementaux (Krawczyk, 2002). Il est également suggéré que le cortex orbitofrontal pourrait faciliter la récupération de la mémoire en sélectionnant les souvenirs les plus pertinents pour atteindre un objectif (Young & Shapiro, 2011). La perte de l'association épisodique chez certains animaux induit une expression accrue de Zif268 dans le cortex orbitofrontal pouvant indiquer que ces animaux ne sont pas sûrs de leurs décisions aboutissant à l'activation de mécanismes de plasticité au sein du cortex orbitofrontal.

Lors du rappel de la mémoire épisodique dans le test à 4 ports, nous montrons une activation en c-Fos et Zif268 du cortex rétrosplénial qui est corrélée positivement aux performances lors du rappel épisodique. Cette structure occupe une place centrale entre l'hippocampe et le cortex préfrontal (van Groen & Wyss, 1992; Wyss & Van Groen, 1992; Burwell & Amaral, 1998; voir pour revue Miller *et al.*, 2014) qui lui confère un rôle à la fois en tant que structure d'entrée de l'hippocampe lors de l'intégration des signaux en provenance des différentes aires corticales et à l'élaboration de la représentation spatiale et contextuelle de la mémoire, mais également en tant que structure efférente de l'hippocampe impliquée dans les processus de consolidation systémique à long terme (voir pour revue Miller *et al.*, 2014). Le cortex rétrosplénial participe à l'association entre des objets ou entre un comportement et un contexte (Bar & Aminoff, 2003; Bar, 2004; Nelson *et al.*, 2014; Kwapis *et al.*, 2015). Certains auteurs montrent que le rappel d'une mémoire épisodique chez l'Homme recrute cette aire corticale (Gilboa *et al.*, 2004; Hassabis & Maguire, 2007; Spreng *et al.*, 2009) et que sa lésion induit une perte des souvenirs anciens, un déficit de consolidation de nouvelles informations ainsi que des déficits de mémoire épisodique (Valenstein *et al.*, 1987; Bowers *et al.*, 1988; voir pour revue Miller *et al.*, 2014). Chez l'animal, le cortex rétrosplénial est requis pour la

formation d'une mémoire de peur au contexte et son rappel à très long terme (Maviel *et al.*, 2004; Gusev & Gubin, 2010; Katche *et al.*, 2013a, 2013b). Récemment, il a été montré que la consolidation de la mémoire à long terme dans cette tâche est dépendante de la communication entre le cortex rétrosplénial et l'hippocampe dans les 12 heures qui suivent l'acquisition, c'est-à-dire durant la phase d'action des mécanismes moléculaires de la consolidation mnésique induit par les IEGs (Katche *et al.*, 2010). Enfin, lorsque de nouvelles informations associatives dépendantes de l'hippocampe peuvent être intégrées dans un schéma cortical préexistant, l'assimilation de ces nouvelles informations se produit très rapidement dans les aires corticales, dont le cortex rétrosplénial, impliquées dans la rétention à long terme de cette mémoire (Tse *et al.*, 2011). Cet ensemble de données suggère que le cortex rétrosplénial joue à la fois un rôle dans la consolidation à long terme d'une mémoire épisodique en participant à l'association des différents éléments formant les épisodes (ici odeurs, places, contextes, renforcement) et dans la consolidation systémique en jouant un rôle de passerelle entre l'hippocampe et le cortex préfrontal lors de la mise en forme et/ou du rappel de mémoires anciennes. Cette aire cérébrale sera donc à prendre en considération pour les futures études des réseaux neuronaux impliqués dans la mémoire épisodique à très long terme.

L'analyse des aires cérébrales impliquées dans le rappel à long terme (24 heures) de la mémoire épisodique dans un test à 4 ports restent préliminaires et il est à noter qu'à l'opposé de ce que nous avons observé pour le test à 2 ports où 100% des rats présentent un profil de type « Quoi – Où – Dans quel contexte », les rats sham et irradiés expriment dans ce test de nombreux profils de réponse de rappel épisodique qui sont difficilement exploitables en terme de moyenne de groupe. Ceci suggère qu'une analyse de réseau devra être faite dans l'avenir en lien avec les différents profils de réponse épisodique obtenus. De plus, l'analyse des aires cérébrales par l'expression des gènes immédiats précoces c-Fos et Zif268 donne un aperçu des régions activées par le rappel de la mémoire épisodique dans un test plus ou moins interférent et reflète la totalité de la séance. Or nous avons vu que les performances des rats dans cette tâche évoluent au fil des essais, une analyse en temps réel (essai par essai) de l'activation de différentes aires cérébrales par électrophysiologie pourrait donc apporter des éléments supplémentaires sur le déroulement temporel de la reconstruction du souvenir épisodique en lien avec l'activation des réseaux neuronaux.

Les résultats obtenus en imagerie cellulaire ouvrent également de nouvelles perspectives d'études d'autres aires cérébrales impliquées dans la mémoire épisodique. Étant donné que les émotions jouent un rôle essentiel dans la mise en mémoire d'un souvenir épisodique à plus ou moins long terme (Dere *et al.*, 2010), il serait intéressant d'ajouter dans les prochaines analyses l'amygdale, qui pourrait moduler l'activité du réseau hippocampo-cortical durant la consolidation et le rappel épisodique *via* ses connexions réciproques avec l'hippocampe et le cortex préfrontal (Packard & Cahill, 2001; McGaugh & Roozendaal, 2002; Paré, 2003). Des

études d'imagerie ont d'ailleurs déjà montré que l'amygdale est activée chez l'Homme lors du rappel d'un souvenir épisodique (Markowitsch *et al.*, 2000), renforçant l'idée de l'importance de la composante émotionnelle liée aux souvenirs épisodiques. L'amygdale pourrait en effet jouer un rôle important dans la perception des événements et l'intégration des émotions qui leurs sont associés lors de la mise en mémoire à long terme des souvenirs épisodiques (voir pour revue Pause *et al.*, 2013).

### C. Implication de la neurogenèse adulte hippocampique

L'hippocampe est nécessaire à l'encodage et au maintien à long terme de la mémoire épisodique. Les données sur l'implication et le recrutement des nouveaux neurones dans l'encodage et la consolidation de mémoires dépendantes de l'hippocampe et ce d'une façon d'autant plus forte que les informations à mémoriser sont proches et/ou demandent à être stockées et rappelées à long terme, nous ont amené à émettre l'hypothèse que la neurogenèse pourrait jouer un rôle clé dans cette forme particulière de mémoire complexe.

Pour cela, nous avons bloqué spécifiquement la neurogenèse adulte hippocampique par **irradiation** afin de préserver l'intégrité de l'hippocampe ainsi que la neurogenèse olfactive qui joue un rôle important dans différentes formes de mémoires olfactives (Lepousez *et al.*, 2013; Gheusi & Lledo, 2014). Nous avons décidé d'utiliser une irradiation de 15 Gy ciblée sur une zone du cerveau comprenant l'hippocampe entier. L'efficacité de cette dose d'irradiation comme modèle de blocage irréversible de la neurogenèse hippocampique est en accord avec les données de littérature qui montrent que la prolifération des cellules progénitrices est rapidement mais transitoirement altérée dès 2 Gy alors qu'avec des doses de 5 à 15 Gy elle est fortement diminuée, et ce même à très long terme (120 jours) (Parent *et al.*, 1999; Tada *et al.*, 2000). Ces mêmes auteurs ont montré que suite à ce type d'irradiation, la prolifération des nouvelles cellules présente toutefois un rebond au cours des deux semaines suivant l'irradiation consécutive à la diminution brutale de la production de nouvelles cellules (Tada *et al.*, 2000). Néanmoins, l'utilisation d'une dose de 15 Gy limite cet effet (Tada *et al.*, 2000) et le délai de deux mois d'attente entre l'irradiation et la tâche comportementale dans notre étude limite non seulement cet effet de rebond mais aussi ceux liés à la réaction inflammatoire consécutive à l'irradiation. Quinze semaines après irradiation, nous observons une diminution de 32% de la densité de cellules DCX+ présentes sur toute l'extension du GD et de 64% dans le gyrus denté dorsal uniquement. Ces résultats d'efficacité de l'irradiation sont difficilement comparables avec la littérature (voir partie 1, chapitre 3, II, page 70) puisque les études précédentes réalisées chez le rat soit n'utilisent pas le même protocole d'irradiation (doses et nombre), soit n'ont pas analysé le niveau de neurogenèse à si long terme, soit la validation du blocage de la neurogenèse a été inférée de la survie des nouvelles cellules d'un âge donné en BrdU. Même si l'analyse du marquage DCX concerne des cellules relativement jeunes

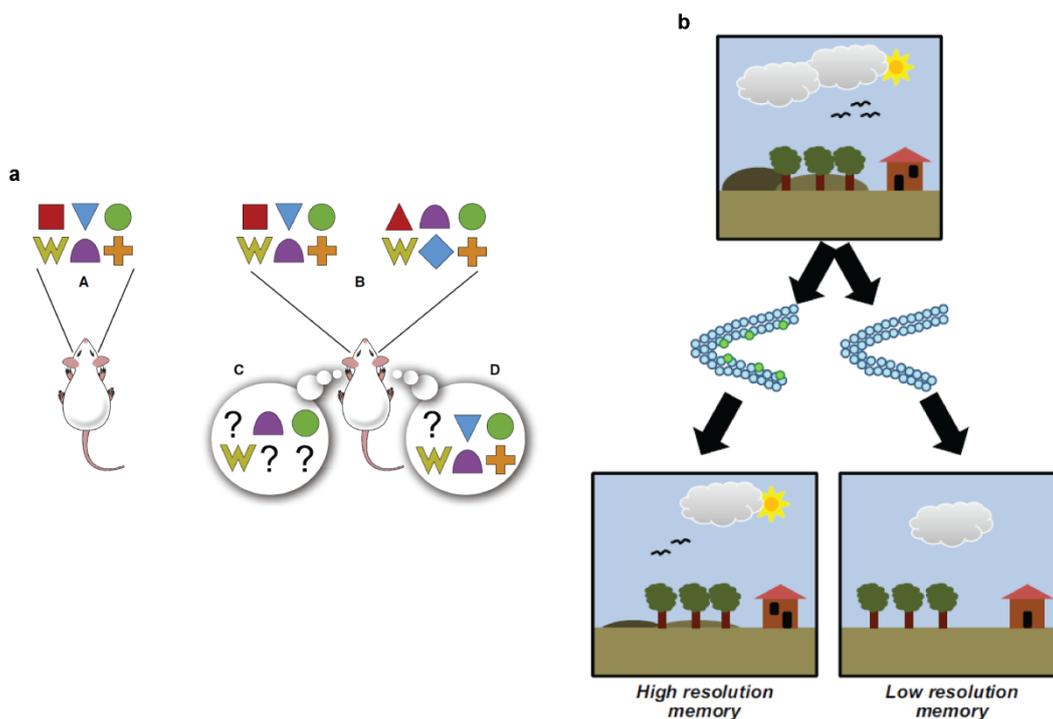
(entre 3 et 21 jours chez le rat Long Evans), ce marqueur reflète le niveau de neurogenèse résiduelle sur une fenêtre temporelle plus large que celle qui est évaluée avec la BrdU. De même, aucune étude n'a comparé le niveau de neurogenèse résiduelle dans les différentes parties de l'hippocampe, l'analyse n'ayant été effectuée que dans la partie dorsale. Néanmoins, l'étude utilisant le protocole le plus proche du nôtre montre une diminution de 36% de la densité de cellules DCX+, 8 semaines après irradiation dans l'hippocampe dorsal (Hernández-Rabaza *et al.*, 2009). L'absence de blocage de la neurogenèse adulte dans les parties intermédiaire et ventrale de l'hippocampe ne peut être expliquée par un problème d'atténuation des rayons gamma dans les parties les plus ventrales puisque l'expression du marqueur de dommages de l'ADN  $\gamma$ H2AX a aussi été observée dans les parties les plus profondes du cerveau par nos collègues du CEA. Les différences de blocage obtenues au sein de l'hippocampe pourraient par contre être expliquées par le fait que le taux de prolifération des cellules progénitrices est 3 fois inférieur dans la partie ventrale que dans la partie dorsale du GD (Bekiari *et al.*, 2014), les rendant alors moins sensibles à l'irradiation puisque moins souvent en phase de division cellulaire dans cette partie postérieure de l'hippocampe. Enfin, le fait que la diminution de la neurogenèse adulte avec l'âge soit plus forte dans la partie ventrale du GD que dans la partie dorsale et ce dès l'âge de 5 mois (Jinno, 2011a, 2011b), pourrait avoir pour conséquences de diminuer plus vite le niveau de neurogenèse chez les rats Sham et irradiés dans la partie ventrale et d'annuler au final la différence entre ces deux groupes expérimentaux. Afin de vérifier ces hypothèses, il serait intéressant d'analyser le niveau de neurogenèse dans les parties dorsale, intermédiaire et ventrale juste après irradiation et de vérifier : 1) le taux de prolifération en BrdU et le taux d'apoptose des cellules progénitrices du GD dans les parties dorsale et ventrale ; 2) le taux de neurogenèse des rats Sham et irradiés plus jeunes (2 mois au lieu de 6 mois) dans ces deux mêmes parties du GD. Par ailleurs, certains auteurs montrent que les neurones néoformés chez la souris présentent une maturation plus lente dans la partie ventrale du GD que ceux formés dans la partie dorsale (Piatti *et al.*, 2011). Il est donc possible que les nouveaux neurones chez le rat expriment plus longtemps DCX dans la partie ventrale et qu'une partie des effets de l'irradiation soit masquée par cette différence de la dynamique de maturation. Cette hypothèse pourrait être vérifiée par une analyse plus fine de la maturation dendritique des cellules néoformées DCX+ résiduelles chez les rats irradiés dans les parties dorsale et ventrale. Même si ces données supplémentaires fourniraient de précieuses informations sur la dynamique de la neurogenèse après irradiation, cette question n'est pas centrale dans cette thèse et ce modèle de blocage chez le rat reste selon nous un bon compromis. En effet, il est efficace et focalisé sur l'hippocampe sans induire d'effets délétères pour l'analyse du comportement, contrairement à certains antimitotiques délivrés par voie systémique ou par injection intracérébroventriculaire, même si cette voie d'injection limite les effets non spécifiques sur le comportement tout en altérant la neurogenèse hippocampique (Breton-

Provencher *et al.*, 2009; Moreno *et al.*, 2009; Gheusi *et al.*, 2013). Cette méthode de blocage par irradiation focale semble par ailleurs résulter en une hétérogénéité individuelle du niveau de neurogenèse résiduelle que l'on peut considérer comme relativement proche d'une situation physiologique telle que celle qui a pu être observée lors du vieillissement (Drapeau *et al.*, 2003; Montaron *et al.*, 2006). Couplée à une tâche comportementale qui permet de révéler des profils individuels de mémoire comme dans la nôtre, cette hétérogénéité de neurogenèse devient alors un atout pour mieux comprendre et renforcer l'analyse du rôle fonctionnel des nouveaux neurones dans les processus d'apprentissage et de mémoire, comme nous le discuterons plus bas. Cette méthode de blocage présente néanmoins quelques inconvénients. Premièrement, l'irradiation touche également les cellules progénitrices des oligodendrocytes et les cellules vasculaires (Coderre *et al.*, 2006; Panagiotakos *et al.*, 2007) et entraîne l'activation de processus d'inflammation, notamment une activation des cellules microgliales (Hua *et al.*, 2012) dont le rôle dans les processus mnésiques reste à ce jour inconnu. Il est donc possible que cette activation microgliale perturbe la mise en mémoire d'une information. Néanmoins, Monje et coll. montrent qu'elle est nécessaire à la diminution de la neurogenèse adulte après irradiation (Monje *et al.*, 2003). Et deuxièmement, il est possible que 2 mois après irradiation, des processus de compensation se soient mis en place au sein des réseaux neuronaux afin de pallier l'absence des nouveaux neurones du GD de l'hippocampe. Lazarini et coll. montrent que malgré une diminution du nombre total de cellules nouvellement formées au sein de la SVZ, les neurones restants survivent mieux à long terme ce qui aboutit *in fine* au même niveau de survie des cellules dans le bulbe olfactif (Lazarini *et al.*, 2009). Il est possible que ce même phénomène soit présent dans le GD de l'hippocampe après irradiation. Afin de le vérifier, de la BrdU sera injectée chez les rats irradiés afin de vérifier la survie à long terme des cellules nouvellement formées. Par ailleurs, il a été montré que l'inactivation pharmacologique de l'aire CA1 de l'hippocampe par optogénétique induit une augmentation de l'activation du cortex cingulaire en compensation de l'inactivation de l'hippocampe (Goshen *et al.*, 2011), ce qui suggère une réorganisation des connections entre l'hippocampe et les autres aires cérébrales induisant *in fine* une altération de base des réseaux neuronaux. Pour cette raison, il apparaît essentiel d'analyser l'activation des réseaux chez des rats irradiés non soumis à la tâche de mémoire épisodique pour analyser le réseau neuronal chez les animaux présentant une diminution de la neurogenèse adulte afin de déterminer si cette diminution altère la connectivité fonctionnelle entre les différentes structures cérébrales étudiées. Ce point paraît critique notamment dans l'étude des mécanismes neuronaux à la base de la consolidation systémique, qu'il faudra prendre en considération lors de l'étude de la mémoire épisodique ancienne. A l'avenir, l'activation ou l'inhibition spécifique lors du rappel à long et très long terme des nouveaux neurones recrutés lors de l'encodage permettra d'éviter ces problèmes possibles de compensation. Pour cela, l'utilisation des techniques d'optogénétique via l'utilisation des récepteurs channelrhodopsin (Boyden *et al.*, 2005) ou des techniques

DREADDs (Armbruster *et al.*, 2007; Urban & Roth, 2015) permettra l'activation ou l'inhibition spécifique des nouveaux neurones afin d'analyser plus directement l'impact fonctionnel des nouveaux neurones dans le réseau cérébral impliqué dans l'encodage et la consolidation d'une mémoire épisodique. L'avantage des outils d'optogénétique est qu'ils permettent de faire un lien de causalité direct entre l'inactivation ou l'activation des nouveaux neurones et le comportement de l'animal lors des différentes phases de la tâche. L'inconvénient majeur est que cette technique présente un champ d'action réduit du fait de la propagation limitée du signal lumineux pour cibler une population éparse de nouveaux neurones dans l'hippocampe. Cette technique est par ailleurs difficile à coupler avec des enregistrements électrophysiologiques multi-sites tels qu'ils sont réalisés aujourd'hui à Lyon sur ce projet. La technique DREADDs a l'avantage de pouvoir, à la suite d'une injection intrapéritonéale d'une molécule pharmacologique, inactiver ou activer la totalité des nouveaux neurones préalablement ciblés par le vecteur viral. Cette dernière technique peut être par ailleurs plus facilement couplée avec une approche électrophysiologique. Par contre, elle présente le désavantage de fournir des informations sur l'effet de l'activation ou de l'inactivation des nouveaux neurones sur une fenêtre temporelle plus large que celle contrôlée par optogénétique, rendant plus difficile l'interprétation de leur impact direct sur la formation d'une mémoire épisodique. De même, l'adaptation de la tâche au modèle souris dans le futur permettra l'utilisation de différents modèles transgéniques de blocage conditionnel de la neurogenèse ou de certains mécanismes moléculaires impliqués dans les processus mnésiques.

Nos données montrent pour la première fois que la neurogenèse adulte hippocampique joue un rôle clé dans le rappel fiable des éléments épisodiques mémorisés à long terme (24 heures). En effet, en l'absence de nouveaux neurones, le souvenir de l'association épisodique dans son intégralité semble fragile et sensible à l'interférence et son rappel est compromis dans notre situation où les éléments épisodiques ne sont pas strictement identiques de ceux rencontrés durant l'encodage. Ces données pourraient illustrer, de façon élégante dans le cadre de la mémoire épisodique, l'hypothèse actuelle sur le rôle des nouveaux neurones dans l'augmentation de la **résolution** des souvenirs encodés et consolidés afin de pouvoir les rappeler de façon à discriminer deux événements proches. Cette notion de résolution de la mémoire, proposée très récemment par l'équipe de FH. Gage est définie comme la quantité et la qualité des informations qui sont encodées et consolidées par l'hippocampe pour permettre la mise en mémoire de souvenirs suffisamment précis afin de faire face plus tard à des situations de rappel interférentes en engageant la fonction de séparation de patterns (voir pour revue Aimone *et al.*, 2011). Lorsqu'une mémoire est encodée et/ou consolidée selon une représentation peu précise, c'est-à-dire avec une faible résolution, le rappel précis de ce souvenir lorsqu'il s'agit de le comparer à un autre souvenir proche, est compromis car elle ne

contient pas suffisamment d'informations pour déterminer si les deux souvenirs sont identiques ou différents (Figure 56). Au contraire, lorsqu'une mémoire est encodée et consolidée selon une représentation plus précise, c'est-à-dire avec une forte résolution, les informations qu'elle contient sont suffisantes pour dissocier deux souvenirs proches (Figure 56). Selon ce modèle, la formation constante de nouveaux neurones augmenterait donc la résolution de la mémoire et donc le contraste entre deux ensembles d'événements proches afin de pouvoir les distinguer, processus défini comme la fonction de séparation de patterns.



**Figure 56 : La neurogenèse adulte hippocampique permet d'améliorer la résolution d'un souvenir complexe**

**a.** Dans un premier temps, l'animal est exposé à un événement composé de 6 items différents (A). Dans un second temps, il est mis en présence des 6 items précédemment présentés et d'un nouveau panel relativement proche de 6 items connus ou nouveaux (B). Si son souvenir est peu résolu, c'est-à-dire qu'il n'a encodé que quelques éléments (C), l'animal discrimine mal les 2 panels d'items. Si au contraire son souvenir est très résolu, c'est-à-dire qu'il a encodé un grand nombre d'éléments (D) alors la discrimination des 2 panels est améliorée. **b.** Si l'encodage d'un événement implique les nouveaux neurones (en vert), alors la résolution du souvenir de cet événement est très forte : arbre, nuage, oiseaux, soleil, maison et montagnes (gauche). En absence de neurogenèse, la résolution du souvenir est plus faible : arbre, nuage et maison uniquement (droite). Extrait de Aimone *et al.*, 2011, 2104

L'importance de la neurogenèse adulte dans la fonction de **séparation de patterns** spatiaux ou contextuels encodés et mémorisés a été mise en évidence récemment (Clelland *et al.*, 2009; Aimone *et al.*, 2010, 2011; Creer *et al.*, 2010; Sahay *et al.*, 2011b; Yassa & Stark, 2011; Luu *et al.*, 2012; Nakashiba *et al.*, 2012; Tronel *et al.*, 2012; Swan *et al.*, 2014), mais le rôle exact des nouveaux neurones dans cette fonction reste inconnu. Il est possible que les

nouveaux neurones, en ayant un impact particulier sur l'activité du réseau hippocampique, permettent de contraster les informations mises en mémoire afin de favoriser par la suite leur discrimination (voir pour revue Aimone *et al.*, 2006, 2010, 2011, 2014; Sahay *et al.*, 2011b). Du fait de leurs propriétés particulières d'hyperexcitabilité durant une période critique d'intégration fonctionnelle, les nouveaux neurones pourraient représenter une population importante pour l'encodage et la consolidation d'informations discrètes et/ou discriminantes et permettre d'améliorer la résolution de l'information mémorisée. Les données que nous avons obtenues sur l'implication des nouveaux neurones dans la résolution de la mémoire épisodique et le rappel de souvenirs proches dans une situation interférente sont originales puisqu'elles montrent pour la première fois une implication des nouveaux neurones dans des processus de séparation de patterns liés à une forme de mémoire complexe. En effet, dans les tâches couramment utilisées dans l'étude du rôle de la neurogenèse hippocampique dans la séparation de patterns, l'animal doit faire la différence entre deux séquences d'odeurs liées aux contextes, deux localisations spatiales ou deux contextes simples plus ou moins proches (Clelland *et al.*, 2009; Sahay *et al.*, 2011a; Luu *et al.*, 2012; Nakashiba *et al.*, 2012; Tronel *et al.*, 2012; Swan *et al.*, 2014). Or, dans notre tâche de mémoire épisodique la distinction entre les deux épisodes fait appel à la séparation de nombreux éléments en même temps : la localisation des ports, les odeurs, les sons diffusés, le type de sol, les images projetées. Le fait que les rats doivent mémoriser cet ensemble d'éléments en les associant les uns aux autres tout en les discriminant, implique que les processus de séparation de patterns engagés dans cette tâche soient plus complexes et les résultats attendus sur le rôle des nouveaux neurones dans cette dernière plus difficiles à modéliser. Les rats irradiés ne montrent pas lors du rappel de déficit de séparation de patterns relatif uniquement à la localisation spatiale. Ceci peut être expliqué, comme pour les résultats obtenus lors de l'inactivation pharmacologique de l'hippocampe, par une facilité de l'encodage et de la mémorisation de la place dans cette enceinte rectangulaire comparativement à ce qui a été montré en labyrinthe radial ou en « touch screen » (Clelland *et al.*, 2009). Une partie seulement des rats irradiés (27,3% vs 10% de Sham) semble confondre le contexte testé de celui qui ne l'est pas (profil « Quoi – Où – Autre contexte »). Ceci peut être expliqué par le fait que dans notre tâche, les éléments du contexte ne sont pas non plus aussi proches que ceux qui sont manipulés dans des études montrant un déficit de séparation de patterns contextuels en l'absence de neurogenèse (Sahay *et al.*, 2011a; Nakashiba *et al.*, 2012; Tronel *et al.*, 2012). Afin de mieux comprendre le rôle précis des nouveaux neurones hippocampiques dans la séparation des différentes composantes de l'association épisodique mémorisée, il serait intéressant de tester les rats irradiés après l'encodage de l'association épisodique dans des situations de contextes et de localisations plus proches ou partageant plus d'éléments communs. Comme proposé précédemment, ceci pourrait consister à utiliser les 2 mêmes ports (P1 et P2) pour les contextes E1 et E2 (plus ou moins proches en terme d'ambiance visuelle et sonore), en

associant les odeurs A+ et B- sur P1 durant l'épisode E1 et les odeurs C+ et D- sur P2 durant l'épisode E2. Lors du test de rappel, les rats seraient replacés dans un contexte donné avec les 2 ports utilisés durant l'encodage. Ce protocole permettrait premièrement de complexifier les composantes spatiales et contextuelles pour diminuer le contraste entre les deux épisodes. Deuxièmement, il permettrait de tester l'animal dans une situation complètement identique à celle de l'encodage mais interférente en termes de places et de contextes et non en termes de situation de rappel d'une mémoire différente de celle qui a été formée durant l'encodage (comme c'est le cas dans le test à 4 ports). Ce nouveau protocole ne permettrait par contre pas de tester l'utilisation flexible de la mémoire épisodique, une caractéristique importante de cette mémoire chez l'Homme, telle que nous l'avons testé pour le moment. L'autre caractéristique de la mémoire épisodique humaine qui serait particulièrement intéressante de tester à la suite de ce travail est la capacité des rats sans neurogenèse à conserver leur souvenir épisodique à très long terme (24 jours). Ces expériences devraient nous fournir des données complémentaires nouvelles sur l'implication des nouveaux neurones dans la formation et le rappel de mémoires épisodiques anciennes proches ou non et sur les mécanismes qui sous-tendent leur rôle dans la consolidation de ces mémoires au sein des différents systèmes de mémoires impliqués.

Nous avons d'ailleurs commencé à évaluer l'impact de la diminution de la neurogenèse adulte hippocampique sur le réseau cérébral impliqué dans la mémoire épisodique. La diminution de la neurogenèse adulte hippocampique perturbe l'activation du cortex rétrosplénial lors du rappel de la mémoire épisodique en test à 4 ports. De plus, alors que les performances lors du test de rappel de la tâche sont fortement corrélées à l'activation du cortex rétrosplénial, la diminution de la neurogenèse abolit complètement cette corrélation. Etant donné le rôle de ce cortex à la fois dans la consolidation à long terme en participant à l'association des différents éléments formant le souvenir et comme passerelle entre l'hippocampe et le cortex préfrontal lors de la consolidation à très long terme, le blocage de la neurogenèse adulte pourrait perturber le fonctionnement du cortex rétrosplénial, altérant ainsi la résolution de la mémoire et perturbant *in fine* la consolidation à long terme et/ou le rappel du souvenir. Néanmoins, il n'est pas exclu que le cortex rétrosplénial, placé juste au-dessus de l'hippocampe, soit altéré suite à l'irradiation. Par ailleurs, le blocage de la neurogenèse adulte hippocampique abolit également les corrélations entre l'activation de l'aire CA1 et les performances et induit même une corrélation négative entre l'activation de l'aire CA3 et les performances, suggérant que la diminution du nombre de nouveaux neurones dans le GD perturbe la participation de l'hippocampe à la mise en mémoire ou au rappel d'un souvenir épisodique. L'étude de l'impact du blocage de la neurogenèse adulte sur le réseau neuronal impliqué dans le rappel de la mémoire épisodique lors d'un test interférent reste pour le moment très préliminaire. Pour aller plus loin, dans un premier temps, étant donné la diversité de profils observée en test à 4 ports, il faudra réaliser une analyse des activations de réseaux en fonction des profils de

« recollection », ainsi qu'analyser les corrélations entre l'activation des différentes structures, afin de mettre en évidence des activités de réseaux en fonction des performances. Il serait également intéressant de corrélérer les niveaux de neurogenèse observés chez les rats irradiés, comme chez les rats Sham, avec l'activation des différentes structures en lien avec les performances dans la tâche de mémoire épisodique afin de déterminer l'impact du niveau de neurogenèse sur les activités de réseaux. Pour finir, des enregistrements électrophysiologiques chez les rats Sham et irradiés dans différentes aires cérébrales permettront de caractériser l'impact du blocage de la neurogenèse sur la dynamique des activités de réseaux en lien direct avec le comportement lors de l'encodage et du rappel du souvenir épisodique.

Etant donné que la tâche de mémoire épisodique ne repose pas sur le conditionnement des animaux, il apparaît un grand nombre de différences inter-individuelles que ce soit chez les rats irradiés comme chez les rats Sham. Ceci pose la question d'un lien possible entre le **niveau de neurogenèse** adulte chez les rats associé à leurs performances lors du rappel de la tâche. Alors que le niveau de neurogenèse n'est pas corrélé aux performances lors du rappel de la mémoire épisodique en condition normale, la diminution de la neurogenèse chez les rats irradiés met en lumière une corrélation positive entre le niveau de neurogenèse restant et les performances dans la tâche de mémoire épisodique. Ceci suggère donc qu'un niveau minimum de neurogenèse est requis pour favoriser la formation d'une mémoire épisodique fiable. Néanmoins lorsque le niveau de neurogenèse n'est pas altéré expérimentalement, un taux de neurogenèse plus important n'est pas prédictif de bonnes performances dans la tâche de mémoire épisodique, ce qui suggère qu'une variation de la neurogenèse dans une gamme physiologique n'est pas prédictive du niveau de performances dans cette tâche. Il a d'ailleurs récemment été montré que la diminution d'environ 30% de la très forte neurogenèse hippocampique qui se produit pendant la période post-natale permet d'améliorer les performances mnésiques à long terme d'animaux juvéniles, alors que l'augmentation expérimentale d'environ 50% de la neurogenèse hippocampique adulte après un apprentissage peut conduire à un déficit de mémoire (Akers *et al.*, 2014), soutenant l'idée qu'un trop fort taux de neurogenèse ne favorise pas toujours la mémorisation à long terme. Ceci indique donc que le niveau de neurogenèse doit se trouver dans une fenêtre optimale à l'amélioration de la résolution d'un souvenir sans pour autant apporter de l'instabilité au système neuronal pouvant entraîner des interférences et perturber l'encodage. Pour vérifier cette hypothèse dans notre tâche de mémoire épisodique, il serait intéressant d'augmenter la neurogenèse adulte hippocampique des rats en utilisant l'exercice physique par exemple, et d'analyser les performances des animaux dans la tâche lors d'un test de rappel plus ou moins interférent à long et très long terme.

Par ailleurs, nous n'avons pour l'instant analysé le niveau de neurogenèse qu'en termes de cellules immatures exprimant DCX c'est-à-dire une population hétérogène en âge de nouveaux neurones sur lesquels l'apprentissage peut avoir des effets contradictoires en fonction de celui-ci (voir partie 1, chapitre 3, page 69). Afin de déterminer l'influence de la mémoire épisodique sur le recrutement des nouveaux neurones, il faudrait injecter de la BrdU aux animaux puis les soumettre à la tâche de mémoire afin d'analyser à long et très long terme le recrutement des nouveaux neurones durant leur période critique d'intégration qui se situe entre 1 et 3 semaines après leur naissance. La survie et le recrutement des nouveaux neurones pourraient ensuite être corrélés avec les performances des animaux lors du test de rappel, mais également avec les activités de réseaux afin de déterminer finement l'âge auquel les nouveaux neurones sont le plus susceptibles d'influencer la consolidation systémique d'une mémoire épisodique.

En résumé, l'analyse des performances des rats irradiés lors du rappel montre que leurs performances sont beaucoup plus aléatoires et moins ciblées sur les éléments clés des épisodes. Si certains animaux n'ont pas totalement perdu l'association épisodique, leurs performances sont peu stables, se dégradant rapidement sur la durée du test, suggérant une altération de la force du souvenir et un rappel moins robuste. Cette interprétation est fortement renforcée par la corrélation positive entre le taux de neurogenèse résiduelle chez les rats irradiés et leurs performances de rappel. Dans le cadre des données actuelles sur le rôle des nouveaux neurones hippocampiques dans les fonctions de séparation de patterns et de résolution de la mémoire, nous pouvons émettre l'hypothèse selon laquelle l'absence, ou la forte diminution, des nouveaux neurones dans le GD conduit à un déficit de la fonction de séparation de patterns qui entraîne une baisse de la résolution de la mémoire épisodique. Cette baisse de résolution pourrait concerner des items discrets des épisodes (mémoire des items) et/ou les associations multiples entre les items de chaque épisode qui permettent de former et de reconstruire une mémoire épisodique intégrée. Quoi qu'il en soit, lorsque les animaux sont replacés en situation de rappel, cette faible résolution de leur mémoire les placerait en situation d'ambiguïté vis-à-vis des stratégies de réponse à donner, en particulier dans le test à 4 ports qui n'est pas strictement identique à la situation d'encodage. En termes de circuits neuronaux, l'activation sélective de certains nouveaux neurones du GD pendant leur période critique lors de l'acquisition et leur survie serait un mécanisme clé pour réaliser cette fonction de séparation de patterns, conduisant à une orthogonalisation des représentations neuronales d'événements mémorisés (voir pour revue Colgin *et al.*, 2008; Aimone *et al.*, 2011; Yassa & Stark, 2011; Deng *et al.*, 2013). Ceci est particulièrement important dans notre situation où les animaux sont brièvement exposés à deux épisodes complexes, distincts, mais possédant des éléments communs. L'absence de nouveaux neurones dans le GD de l'hippocampe, et les conséquences possibles sur l'activation en aval

des réseaux neuronaux de la mémoire épisodique, pourrait donc perturber fortement la résolution de la mémoire de chaque épisode, mais aussi l'orthogonalisation des représentations neuronales des deux épisodes dont la distinction deviendrait ambiguë, affectant en aval la fonction de complétion de patterns suite à la prise d'informations contextuelles qui est probablement déterminante pour la sélection de la place et de l'odeur.

## D. Planification et mémoire prospective

La mémoire a deux fonctions : se souvenir du passé et planifier le futur. Nous avons vu qu'au cours des 20 dernières années, l'étude de la mémoire épisodique chez l'animal a montré qu'ils sont capables de se souvenir d'un événement particulier et de le replacer dans son contexte spatio-temporel, malgré des différences évidentes entre l'Homme et l'animal, ne serait-ce que par le fait de l'absence de langage chez l'animal. Néanmoins, malgré une définition encore très liée à sa conceptualisation chez l'Homme, nous admettons une forme de mémoire épisodique chez l'animal, suggérant que l'animal est capable d'utiliser une information épisodique passée afin de faire face à une situation présente. Ceci suggère également que les animaux ont conscience du temps passé. A l'inverse, est ce que les animaux sont capables de voyager mentalement dans le temps, de planifier le futur et de former et utiliser une mémoire prospective ?

A l'inverse de la mémoire rétrospective, la **mémoire prospective** consiste à former une représentation d'une action future programmée par l'individu et de la garder en mémoire à plus ou moins long terme, malgré d'autres besoins immédiats, jusqu'à son rappel au moment approprié dans l'avenir (Voir pour revue Crystal & Wilson, 2014). C'est la capacité à « ne pas oublier de se rappeler d'effectuer une action préméditée » et contrairement à la mémoire rétrospective, elle ne fonctionne pas directement sur des stimuli extérieurs qu'elle enregistre. Il est très compliqué de mettre en évidence cette forme de mémoire chez l'animal puisqu'elle repose sur une représentation mentale du futur et pour cette raison elle reste très peu étudiée. Récemment, quelques auteurs se sont intéressés à son étude chez le rongeur en analysant un changement de comportement de l'animal en fonction d'un événement à venir et qui pourrait refléter la présence d'une mémoire prospective. Crystal et coll. utilisent cette observation et ont imaginé une expérience permettant de tester les capacités de la mémoire prospective chez le rat (Wilson & Crystal, 2012; Crystal, 2013a, 2013b; Crystal & Wilson, 2014). Dans cette expérience, le rat a la possibilité de recevoir de la nourriture en très grande quantité une seule fois dans la journée. En parallèle, les rats sont engagés dans une tâche de discrimination de délais entre deux sons permettant d'obtenir une récompense appétitive, mais distribuée en quantité moindre que lors du repas. Les auteurs observent que plus l'heure du repas approche et moins les animaux sont performants dans la tâche de discrimination de délais, laissant supposer que les rats sont moins concentrés sur la réalisation correcte de la

tâche afin d'obtenir une récompense car le repas arrive. Ceci laisse supposer que les rats planifient l'arrivée du repas et adaptent leur comportement en amont en fonction de ce qui va se passer dans le futur. La **planification** consiste en effet à prévoir un événement futur qui va se produire et à adapter son comportement afin de faire face à cet événement lorsqu'il se produira. C'est donc un processus complexe qui nécessite de pouvoir se projeter dans le futur en utilisant ses connaissances, qu'elles soient sémantiques ou épisodiques, afin de prévoir, de visualiser l'événement à venir et de planifier le comportement à adopter dans le présent afin de faire face à la situation future. Par exemple, nous devons organiser un dîner pour des amis et en prévision nous faisons des courses. Mais nous savons que tel ami est allergique aux crevettes car il a fait un choc anaphylactique au dernier dîner et nous avons dû aller aux urgences, nous planifions donc de ne pas acheter de crevettes pour ce dîner. Néanmoins, ce comportement adaptatif ne fait pas appel à un apprentissage et n'est pas préprogrammé, nous sommes donc capables d'actualiser les informations si la situation est amenée à changer. De plus, la planification doit faire face à un futur besoin. Par exemple, si nous faisons trop à manger et que nous avons des restes ce n'est pas de la planification. Par contre si nous faisons plus à manger en prévision d'avoir un repas pour le lendemain midi alors cela devient de la planification. Chez l'animal il existe très peu de données sur ce point. Les premières études sur la planification ont été réalisées chez les geais et les auteurs montrent qu'ils sont capables de planifier leur comportement de cache en fonction de leurs futurs besoins sans apprentissage et sans que ce ne soit un comportement préprogrammé chez cette espèce (Clayton *et al.*, 2005; Dally *et al.*, 2006; Correia *et al.*, 2007; Raby *et al.*, 2007). Ce comportement de planification a également été mis en évidence chez le singe (Osvath, 2009). Santino est un chimpanzé du zoo de Furuvik en Suède qui envoie des pierres sur les visiteurs car leur présence l'énerve. Les soigneurs ont donc fini par enlever toutes les pierres visibles de l'enclos pour éviter les accidents et ils se sont rendus compte alors que Santino a fini par décrocher des morceaux de béton de l'enclos, les tailler en forme de disque et les cacher soigneusement le long de l'enclos proche du passage des visiteurs en dehors des heures d'ouverture du zoo lorsqu'il est calme, reflétant ainsi un comportement de planification. Par ailleurs, lorsque le zoo est complètement fermé aux visiteurs pendant la période hivernale, il arrête ce comportement et le recommence lors de la période d'ouverture du zoo, indiquant bien que ce comportement n'est pas une habitude liée à un apprentissage mais bien un comportement de planification. Ces études montrent que les animaux sont capables de réaliser un comportement de planification dans une certaine mesure et il serait intéressant d'analyser plus en avant ce comportement chez les rongeurs en adaptant la tâche de mémoire épisodique afin d'observer s'ils sont capables d'adapter leur comportement en fonction de leur besoins futurs en dehors de tous comportements préprogrammés. Nous pouvons imaginer dans notre arène expérimentale une tâche de mémoire prospective reposant sur le principe développé par Crystal et coll. (Wilson & Crystal, 2012; Crystal, 2013a;

Crystal & Wilson, 2014). Nous pourrions proposer aux rats de boire de l'eau sucrée en quantité une fois par jour dans leur cage en fin de journée, mais en parallèle de les soumettre à une tâche de Go-No-Go dans laquelle l'odeur A est associée à de l'eau en petite quantité et l'odeur B associée à de l'eau contenant de la quinine, une fois le matin et une fois l'après-midi juste avant d'avoir accès à la boisson sucrée. Les performances des animaux durant la session du matin vs celle de l'après-midi nous donneraient une indication sur le fait que les rats planifient ou non l'accès futur à la boisson sucrée. Dans cette situation, si les rats peuvent former et utiliser une mémoire prospective, nous pouvons faire la prédiction que les performances en Go-No-Go l'après-midi seront dégradées par rapport à celle du matin. Cette tâche permettrait de tester le rôle des nouveaux neurones dans cette forme de mémoire à forte demande cognitive en analysant le comportement de rats irradiés.

De nombreuses études de blocage de la neurogenèse adulte hippocampique ont montré l'implication des nouveaux neurones dans les processus mnésiques dépendants de l'hippocampe. Grâce à l'utilisation de l'expression de gènes immédiats précoces, le recrutement des nouveaux neurones lors de la mise en mémoire ou du rappel d'une information a été mis en évidence dans diverses tâches de mémoire et montre que le recrutement de nouveaux neurones se produit durant leur phase critique de maturation et d'intégration au sein des réseaux neuronaux préexistants de l'hippocampe. Néanmoins, le rôle fonctionnel de l'activation de ces gènes et les mécanismes moléculaires qui sous-tendent ce recrutement critique des nouveaux neurones pour participer à la consolidation mnésique n'ont pas été explorés.

## II. Le gène *Zif268*, mécanisme de recrutement des nouveaux neurones

La caractérisation phénotypique des souris *Zif268*<sup>-/-</sup> au laboratoire a permis de montrer que le gène immédiat précoce *Zif268* est nécessaire au maintien de la phase tardive de la PLT ainsi qu'à la consolidation et à la reconsolidation à long terme de mémoires dépendantes de l'hippocampe (Jones *et al.*, 2001; Bozon *et al.*, 2002, 2003a, 2003b). Compte tenu des déficits mnésiques observés chez cette souris dans des tâches qui mettent en jeu la neurogenèse adulte, nous nous sommes intéressés à l'implication de ce gène dans les processus de neurogenèse adulte hippocampique. Bien que le gène *Zif268* soit couramment utilisé comme marqueur d'activation et d'intégration des nouveaux neurones suite à des manipulations comportementales, son rôle fonctionnel dans les processus de neurogenèse adulte n'avait jamais été étudié. Les travaux présentés dans ce manuscrit montrent pour la première fois

que ce gène contrôle certains processus de maturation des nouveaux neurones durant la période critique où ils sont sélectionnés pour survivre et s'intégrer fonctionnellement au sein de réseaux neuronaux préexistants de l'hippocampe. Alors que l'absence du gène *Zif268* ne perturbe pas la prolifération des cellules progénitrices, son absence même partielle diminue la survie des nouveaux neurones âgés de 21 jours, âge à partir duquel les nouveaux neurones expriment préférentiellement ce gène par rapport aux neurones préexistants. Nous montrons d'ailleurs pour la première fois que le gène *Zif268* peut être exprimé dans des nouveaux neurones assez jeunes (dès l'âge de 7 jours). Dans la littérature, les auteurs qui ont analysé l'expression de ce gène dans les nouveaux neurones ne montrent pas d'expression de *Zif268* sans stimulation, son expression n'étant induite par la PLT, le kaïnate, l'exploration d'un nouvel environnement ou un apprentissage que dans des nouveaux neurones âgés au moins de 2 semaines (Jessberger & Kempermann, 2003; Bruel-Jungerman *et al.*, 2005; Tashiro *et al.*, 2007; Snyder *et al.*, 2009a, 2012b; Clark *et al.*, 2012; Jungnitz *et al.*, 2013; voir pour revue Veyrac *et al.*, 2014). Cette différence entre nos observations et les données de la littérature peut être expliquée par le fait qu'une faible proportion de nouveaux neurones exprime le gène *Zif268* avant l'âge de 3 semaines, ce qui nécessite d'analyser une grande quantité de cellules BrdU+.

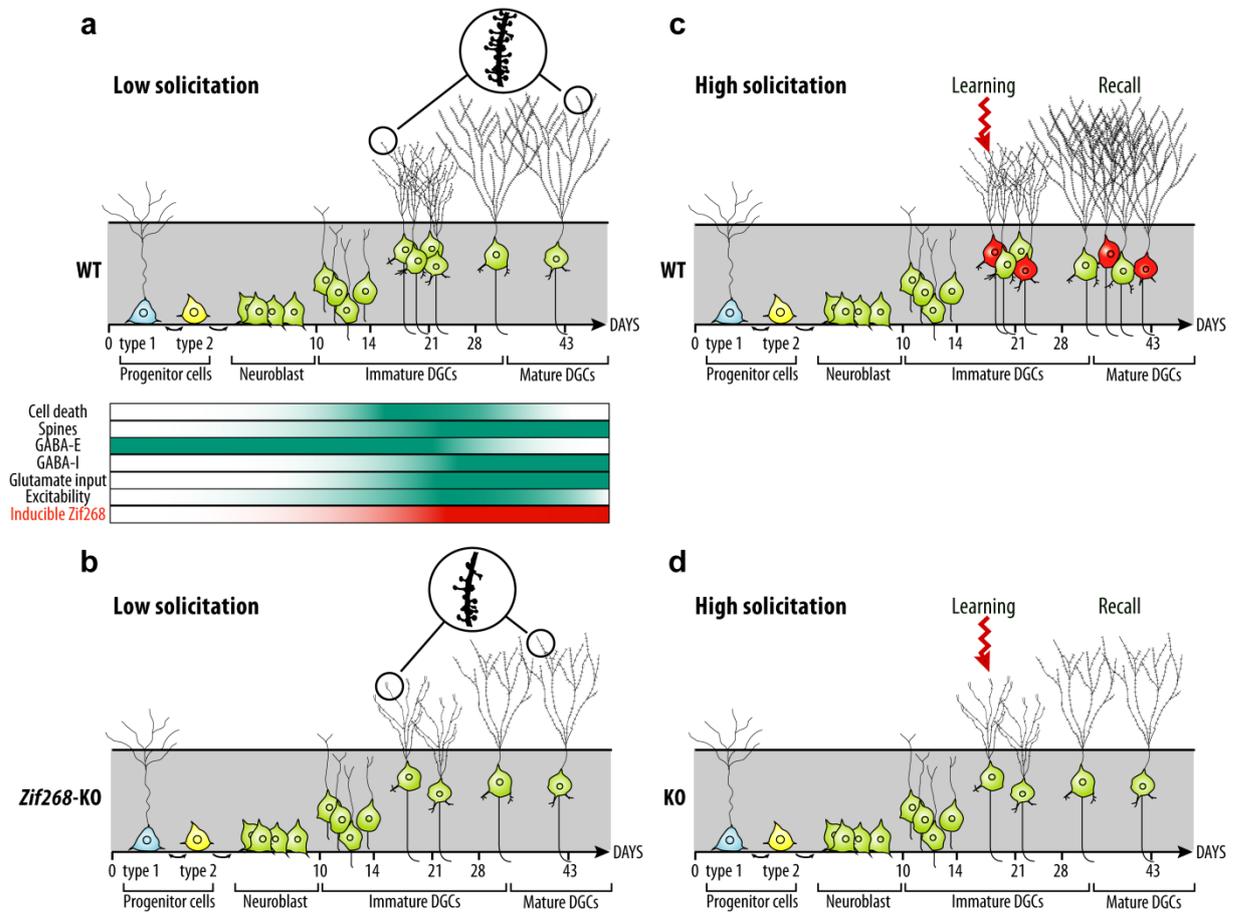
Dans notre étude, nous montrons que l'absence de ce gène abolit le recrutement lors du rappel à très long terme des nouveaux neurones âgés de 18 jours au moment de l'acquisition d'une tâche de mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe. Cette absence de sélection des nouveaux neurones pour participer aux processus mnésiques en l'absence du gène *Zif268* est probablement due au fait que la maturation fonctionnelle et morphologique des nouveaux neurones est fortement perturbée. En effet, nos analyses montrent que l'absence de ce gène entraîne, durant la période critique d'intégration des nouveaux neurones (Aasebø *et al.*, 2011), un retard de la maturation fonctionnelle GABAergique et glutamatergique de ces nouveaux neurones ainsi qu'une altération prolongée de la croissance de leurs arborisations dendritiques et une diminution importante de la densité de leurs épines dendritiques. Le processus de sélection des nouveaux neurones dépendant de *Zif268* se déroule entre la deuxième et la troisième semaine après leur naissance. C'est durant cette période que les nouveaux neurones reçoivent les premières afférences glutamatergiques (voir pour revue Hagihara *et al.*, 2011; Toni & Sultan, 2011), que la transmission GABAergique dépolarisante devient hyperpolarisante (Ge *et al.*, 2006) et que l'arborisation dendritique et le nombre d'épines dendritiques se développent le plus (Zhao *et al.*, 2006; Toni *et al.*, 2007; voir pour revue Toni & Sultan, 2011). Il serait d'ailleurs intéressant de vérifier les propriétés électrophysiologiques de ces nouveaux neurones notamment la facilitation de la PLT puisqu'elle est altérée globalement en l'absence de *Zif268* dans l'hippocampe chez les souris. Il est en effet tout à fait envisageable qu'en plus de l'altération de la maturation morphologique et fonctionnelle observée en l'absence de *Zif268*, les nouveaux neurones présentent un déficit

de maturation de leurs propriétés électrophysiologiques, compatible et complémentaire avec le déficit de recrutement observé lors de l'apprentissage.

Les étapes de maturation et de sélection des nouveaux neurones sont donc altérées en absence du gène *Zif268*, qui pourrait donc être à l'origine du déficit de recrutement des nouveaux neurones observé lors du rappel d'une mémoire spatiale à très long terme. Au cours des dernières années, de nombreuses molécules qui influencent la survie, la maturation et l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein des réseaux neuronaux ont été identifiées (voir partie 1, chapitre 2, III, page 53; voir pour revue Mu *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011), parmi lesquelles les récepteurs NMDA, le co-transporteur au chlore KCC2b, les facteurs neurotrophiques tels que BDNF, TrkB, FGF2 et NT3, les facteurs de transcription CREB, Cdk5, DISC1 et Klf9, ou encore les facteurs de régulations épigénétiques Gadd45, *miR-132* et *miR-124*. Il est à noter que la majorité de ces facteurs ont été identifiés comme des cibles directes ou indirectes du facteur de transcription *Zif268* (Harada *et al.*, 2001; Baumgärtel *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2009a; Ludwig *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2012; Van Loo *et al.*, 2012), ce qui fait du gène *Zif268*, en tant qu'IEG, un acteur majeur à l'origine des mécanismes moléculaires contrôlant les processus de neurogenèse adulte et la sélection des nouveaux neurones en relation avec l'apprentissage et la mémoire.

Nos résultats nous ont amené à proposer un modèle du rôle du gène *Zif268* dans les mécanismes de sélection et de maturation des nouveaux neurones qui sous-tendent leur recrutement pour participer à la mise en mémoire d'une information spatiale (Figure 57).

En présence d'une faible activation neuronale, l'expression de *Zif268* dans les nouveaux neurones âgés de 2-3 semaines est critique pour leur maturation morphologique et fonctionnelle (Figure 57a). Lors d'un apprentissage, une partie des nouveaux neurones de l'hippocampe âgés de 3 semaines est recrutée, *Zif268* est exprimé, et ces nouveaux neurones survivent et s'intègrent fonctionnellement au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe pour participer à la mise en mémoire du souvenir à très long terme (Figure 57c). En absence de *Zif268*, la population de neurones âgés de 3 semaines est réduite, la maturation morphologique et fonctionnelle des nouveaux neurones restants est fortement altérée (Figure 57b) et ces nouveaux neurones ne sont pas recrutés lors d'un apprentissage spatial (Figure 57d), aboutissant à un déficit mnésique chez les souris KO.



**Figure 57 : Rôle du gène *Zif268* dans la maturation des nouveaux neurones, leur sélection et leur recrutement lors d'une mémoire spatiale**

**a.** En condition basale, l'expression du gène *Zif268* est nécessaire à la maturation morphologique et fonctionnelle des nouveaux neurones âgés de 21 jours. **b.** L'absence de *Zif268* induit une mort accélérée des neurones de 21 jours et un déficit de maturation fonctionnelle et morphologique des nouveaux neurones restants. **c.** En condition d'apprentissage, les nouveaux neurones âgés de 3 semaines sont recrutés pour participer à la mémoire à très long terme. **d.** L'absence de *Zif268* empêche le recrutement des nouveaux neurones par l'apprentissage. Extrait de Veyrac *et al.*, 2013.

Néanmoins, étant donné que l'absence du gène *Zif268* altère également la PLT dans l'hippocampe, mécanisme de plasticité synaptique important pour la mémorisation, il est difficile d'imputer les déficits mnésiques observés chez la souris KO uniquement à un déficit de neurogenèse adulte. Si un déficit de PLT est également observé chez les nouveaux neurones en l'absence de *Zif268*, ceci pourrait expliquer en partie le déficit de PLT observé dans l'hippocampe. Ceci pose donc la question de savoir si ce sont les altérations de la neurogenèse adulte ou celles de la PLT dans le GD et dans d'autres régions cérébrales, ou une combinaison des deux effets, qui sont responsables des déficits mnésiques. Pour répondre à cette question, il serait nécessaire d'inactiver l'expression de *Zif268* uniquement dans les nouveaux neurones afin de caractériser les déficits mnésiques imputables uniquement à leur implication. Cette dernière remarque appelle un point important de

discussion concernant le choix du modèle d'étude. En effet, l'utilisation d'une souris KO pour le gène *Zif268* signifie que ce gène n'est jamais exprimé chez cette souris. Ceci pose la question d'éventuels mécanismes de compensation qui pourraient se mettre en place chez cette souris *via* l'expression accrue d'autres gènes afin de pallier l'absence de *Zif268*. Il est effectivement possible qu'un certain nombre de mécanismes de compensation se mettent en place mais l'absence d'expression du gène *Zif268* chez cette souris induit néanmoins des déficits de mémoire, de maintien de la phase tardive de la PLT et de maturation des nouveaux neurones hippocampiques, indiquant que si des mécanismes de compensation se mettent en place, ils ne sont pas suffisants pour compenser les effets de l'absence du gène *Zif268* sur les processus mnésiques et la neurogenèse adulte. Par ailleurs, certains des déficits observés chez les souris KO sont également observés chez les souris hétérozygotes qui n'expriment que 50% de la protéine, suggérant que le niveau d'expression de *Zif268* est un élément crucial dans les processus mnésiques et que même une expression réduite de *Zif268* n'est pas suffisante pour pallier les déficits observés chez la souris KO, en tout cas pour ce qui est de la PLT, de la mort accélérée des nouveaux neurones hippocampiques âgés de 2 à 3 semaines et pour de nombreuses formes de mémoire dépendantes de l'hippocampe (voir partie 2, Introduction, page 151). Dans l'étude de la neurogenèse adulte, l'utilisation d'une souris KO pose également le problème de savoir si le gène *Zif268* est nécessaire dans les nouveaux neurones eux-mêmes ou dans les cellules environnantes de la niche neurogénique. En effet, dans le cas de l'étude de la neurogenèse, l'environnement des cellules progénitrices et nouvellement formées influence fortement leur prolifération, leur survie et leur devenir. Ceci pose donc la question de savoir si le gène *Zif268* est nécessaire au sein de l'environnement des nouvelles cellules, c'est-à-dire dans les cellules de la niche neurogénique du GD de l'hippocampe, ou directement au sein des nouveaux neurones. Pour vérifier ce point, plusieurs stratégies sont possibles. Premièrement, chez les souris KO, il serait possible de restaurer l'expression de *Zif268* uniquement au sein des nouveaux neurones en injectant directement dans l'hippocampe un vecteur rétroviral avec une construction contenant le promoteur et la séquence codante de *Zif268*, permettant ainsi une incorporation du transgène uniquement dans les cellules en division au moment des injections. Le suivi de la survie et du recrutement de ces nouveaux neurones lors d'un apprentissage spatial nous permettrait de déterminer si l'expression du gène *Zif268* au sein des nouveaux neurones est suffisante pour restaurer les déficits observés à la fois sur la neurogenèse mais également sur la consolidation mnésique à très long terme. Une deuxième approche consisterait, chez des souris sauvages, à injecter un vecteur rétroviral avec une construction contenant un ARN interférent dirigé contre l'ARN du gène *Zif268* permettant d'inhiber l'expression de ce gène uniquement dans les nouveaux neurones d'un âge donné. Ces approches permettraient de déterminer si c'est l'expression de *Zif268* dans l'environnement des nouveaux neurones, dans les nouveaux neurones eux-mêmes ou dans les deux qui est responsable des déficits observés chez les souris KO.

Par ailleurs, nous avons vu que l'expression de *Zif268* est activée dans les neurones de différentes aires hippocampiques et cortico-préfrontales après l'apprentissage et après le rappel de mémoires récentes et/ou anciennes. Si le rôle de *Zif268* dans la consolidation et la reconsolidation mnésique de mémoires récentes est bien documenté, la fonction de l'activation de ce gène lors du rappel de mémoires anciennes, en particulier dans le cortex préfrontal, reste inconnue. En utilisant des vecteurs viraux ou une souris transgénique conditionnelle chez laquelle l'expression du gène *Zif268* pourrait être spécifiquement inhibée dans une structure cérébrale donnée (hippocampe et/ou cortex préfrontal par exemple) au cours de l'apprentissage ou du rappel à différents temps post-apprentissage, il serait possible de déterminer spécifiquement le rôle de ce gène dans l'encodage, la consolidation initiale et la consolidation systémique, ainsi que l'influence de l'absence de ce gène sur la communication entre différentes aires cérébrales lors de la consolidation systémique.

Le gène *Zif268* étant un acteur crucial des mécanismes de plasticité impliqués dans les processus mnésiques, son rôle dans la mise en mémoire et le rappel d'un souvenir épisodique pourrait maintenant être exploré en utilisant notre tâche. Nous montrons déjà que l'expression de *Zif268* est induite dans un certain nombre de structures cérébrales lors du rappel d'un souvenir épisodique, incluant l'hippocampe et le cortex préfrontal. Pour aller plus loin, nous pourrions réaliser la tâche de mémoire épisodique en utilisant le modèle de souris *Zif268*<sup>-/-</sup> afin de caractériser le rôle fonctionnel de ce gène dans l'encodage et la consolidation d'une mémoire épisodique à long et très long terme. Nous pourrions ensuite focaliser l'analyse sur l'implication de *Zif268* dans l'hippocampe et le cortex préfrontal, structures dont nous avons montré l'implication dans la mémoire épisodique. Pour cela, nous pourrions injecter chez les rats un vecteur lentiviral avec une construction contenant un ARN interférent dirigé contre l'ARN du gène *Zif268*, permettant d'inhiber son expression dans l'hippocampe ou dans le cortex préfrontal, soit au moment de l'encodage, soit au moment du rappel à long ou très long terme afin d'analyser le rôle de ce gène dans la consolidation systémique et le dialogue entre l'hippocampe et le cortex préfrontal en mémoire épisodique. Par ailleurs, le rôle fonctionnel de l'induction de *Zif268* dans ces structures après le rappel d'une mémoire épisodique reste inconnu. En effet, l'expression du gène *Zif268*, marqueur de plasticité, après le test de rappel pourrait refléter la réactivation à l'identique de la trace mnésique sous-tendant le rappel du souvenir mais pourrait également être le signe d'une reconsolidation mnésique. L'inhibition de l'expression de *Zif268* dans l'hippocampe ou dans le cortex préfrontal lors d'un test de rappel, suivi d'un second test de rappel à court et/ou à long voire très long terme après le premier, permettrait de déterminer si l'activation de *Zif268* dans ces structures est liée à une phase de reconsolidation mnésique.

Enfin, compte tenu du rôle essentiel de ce gène que nous avons identifié dans le recrutement des nouveaux neurones de l'hippocampe lors de la mémorisation dans une tâche spatiale, il serait particulièrement intéressant d'explorer le rôle de *Zif268* dans le recrutement des nouveaux neurones en relation avec les performances dans la tâche de mémoire épisodique. Une première étape consisterait à analyser l'expression de *Zif268* dans les nouveaux neurones après le test de rappel à long ou très long terme de la mémoire épisodique. Ensuite, une stratégie possible chez le rat serait d'injecter dans l'hippocampe un vecteur rétroviral avec une construction contenant un ARN interférent dirigé contre l'ARN du gène *Zif268*, permettant ainsi d'inhiber l'expression de ce gène dans les nouveaux neurones spécifiquement afin d'analyser les mécanismes à l'origine de l'implication des nouveaux neurones dans la mémoire épisodique.



*Dessin de Ruth Tulving*

# Références bibliographiques



- Aasebø IEJ, Blankvoort S, & Tashiro A (2011) Critical maturational period of new neurons in adult dentate gyrus for their involvement in memory formation. *Eur J Neurosci* 33:1094–1100.
- Abdulkadir SA, Qu Z, Garabedian E, Song S-K, Peters TJ, Svaren J, Carbone JM, Naughton CK, Catalona WJ, Ackerman JJH, Gordon JI, Humphrey PA, & Milbrandt J (2001) Impaired prostate tumorigenesis in Egr1-deficient mice. *Nat Med* 7:101–107.
- Abeliovich A, Chen C, Goda Y, Silva AJ, Stevens CF, & Tonegawa S (1993a) Modified hippocampal long-term potentiation in PKC gamma-mutant mice. *Cell* 75:1253–1262.
- Abeliovich A, Paylor R, Chen C, Kim JJ, Wehner JM, & Tonegawa (1993b) PKC gamma mutant mice exhibit mild deficits in spatial and contextual learning. *Cell* 75:1263–1271.
- Åberg MAI, Åberg ND, Hedbäcker H, Oscarsson J, & Eriksson PS (2000) Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 20:2896–2903.
- Ables JL, Decarolis NA, Johnson MA, Rivera PD, Gao Z, Cooper DC, Radtke F, Hsieh J, & Eisch AJ (2010) Notch1 is required for maintenance of the reservoir of adult hippocampal stem cells. *J Neurosci* 30:10484–10492.
- Abraham WC (2003) How long will long-term potentiation last? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:735–744.
- Abraham WC, Dragunow M, & Tate WP (1991) The role of immediate early genes in the stabilization of long-term potentiation. *Mol Neurobiol* 5:297–314.
- Abraham WC, Mason SE, Demmer J, M WJ, L RC, Tate WP, Lawlor PA, & Dragunow M (1993) Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 56:717–727.
- Abraham WC, & Williams JM (2003) Properties and mechanisms of LTP maintenance. *Neurosci* 9:463–474.
- Abrous DN, Adriani W, Montaron M-F, Aurousseau C, Rougon G, Le Moal M, & Piazza PV (2002) Nicotine self-administration impairs hippocampal plasticity. *J Neurosci* 22:3656–3662.
- Abrous DN, Koehl M, & Le Moal M (2005) Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev* 85:523.
- Aceti M, Vetere G, Novembre G, Restivo L, & Ammassari-teule M (2015) Neurobiology of Learning and Memory Progression of activity and structural changes in the anterior cingulate cortex during remote memory formation. *Neurobiol Learn Mem*:5–9.
- Adamson ED, Yu J, & Mustelin T (2005) Co-factors p300 and CBP catch Egr1 in their network. *Prostate* 63:407–410.
- Addis DR, Moscovitch M, Crawley AP, & McAndrews MP (2004) Recollective qualities modulate hippocampal activation during autobiographical memory retrieval. *Hippocampus* 14:752–762.
- Adolph D, & Pause BM (2012) Different time course of emotion regulation towards odors and pictures: Are odors more potent than pictures? *Biol Psychol* 91:65–73.
- Ageta H, Murayama A, Migishima R, Kida S, Tsuchida K, Yokoyama M, & Inokuchi K (2008) Activin in the brain modulates anxiety-related behavior and adult neurogenesis. *PLoS One* 3:e1869.

- Aggleton JP, McMackin D, Carpenter K, Hornak J, Kapur N, Halpin S, Wiles CM, Kamel H, Brennan PA, Carton S, & Gaffan D (2000) Differential cognitive effects of colloid cysts in the third ventricle that spare or compromise the fornix. *Brain* 123 ( Pt 4:800–815.
- Aggleton JP, & Waskett L (1999) The ability of odours to serve as state-dependent cues for real-world memories: can Viking smells aid the recall of Viking experiences? *Br J Psychol* 90 ( Pt 1):1–7.
- Aguilar-Arredondo A, Arias C, & Zepeda A (2015) Evaluating the functional state of adult-born neurons in the adult dentate gyrus of the hippocampus: from birth to functional integration. *Rev Neurosci* 0.
- Aimone JB, Deng W, & Gage FH (2010) Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. *Trends Cogn Sci* 14:325–337.
- Aimone JB, Deng W, & Gage FH (2011) Resolving new memories: a critical look at the dentate gyrus, adult neurogenesis, and pattern separation. *Neuron* 70:589–596.
- Aimone JB, Li Y, Lee SW, Clemenson GD, Deng W, & Gage FH (2014) Regulation and Function of Adult Neurogenesis: From Genes to Cognition. *Physiol Rev* 94:991–1026.
- Aimone JB, Wiles J, & Gage FH (2006) Potential role for adult neurogenesis in the encoding of time in new memories. *Nat Neurosci* 9:723–727.
- Aizawa K, Ageyama N, Terao K, & Hisatsune T (2011) Primate-specific alterations in neural stem/progenitor cells in the aged hippocampus. *Neurobiol Aging* 32:140–150.
- Aizawa K, Ageyama N, Yokoyama C, & Hisatsune T (2009) Age-dependent alteration in hippocampal neurogenesis correlates with learning performance of macaque monkeys. *Exp Anim* 58:403–407.
- Akers KG, Martinez-Canabal A, Restivo L, Yiu AP, De Cristofaro A, Hsiang H-LL, Wheeler AL, Guskjolen A, Niibori Y, Shoji H, Ohira K, Richards B a, Miyakawa T, Josselyn S a, & Frankland PW (2014) Hippocampal neurogenesis regulates forgetting during adulthood and infancy. *Science* (80- ) 344:598–602.
- Alberini CM (2005) Mechanisms of memory stabilization: Are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 28:51–56.
- Alenina N, & Klempin F (2015) The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res* 277:49–57.
- Allen E (1912) The cessation of mitosis in the central nervous system of the albino rat. [Baltimore,.
- Altman J (1962) Are New Neurons Formed in the Brains of Adult Mammals? *Science* (80- ) 135:1127–1128.
- Altman J (1963) Autoradiographic Investigation of Cell Proliferation in the Brains of Rats and Cats. *Anat Rec* 145:573–591.
- Altman J (1969) Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J Comp Neurol* 137:433–458.
- Altman J, & Bayer SA (1990) Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. *J Comp Neurol* 301:365–381.

- Altman J, & Das GD (1965) Autoradiographic and Histological Evidence of Postnatal Hippocampal Neurogenesis in Rats. *J Comp Neurol* 124:319–336.
- Altman J, & Das GD (1966) Autoradiographic and Histological Studies of Postnatal Neurogenesis. I A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis i. *J Comp Neurol* 126:337–390.
- Alvarez-Buylla A (1992) Neurogenesis and plasticity in the CNS of adult birds. *Exp Neurol* 115:110–114.
- Alvarez-Buylla A, & Lim DA (2004) For the Long Run : Maintaining Germinal Niches in the Adult Brain. *Neuron* 41:683–686.
- Alves SH, Pinheiro G, Motta V, Landeira-fernandez J, & Cruz APM (2004) Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT 2C agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behav Pharmacol* 15:37–43.
- Amaral DG, Scharfman HE, & Lavenex P (2007) The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Prog Brain Res* 163:3–22.
- Amaral DG, & Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation : a review of anatomical data. *Neuroscience* 31:571–591.
- Ambrogini P, Cuppini R, Cuppini C, Ciaroni S, Cecchini T, Ferri P, Sartini S, & Del Grande P (2000) Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. *Neurosci Lett* 286:21–24.
- Ambrogini P, Cuppini R, Ferri P, Mancini C, Ciaroni S, Voci A, Gerdoni E, & Gallo G (2005) Thyroid hormones affect neurogenesis in the dentate gyrus of adult rat. *Neuroendocrinology* 81:244–253.
- Ambrogini P, Cuppini R, Lattanzi D, Ciuffoli S, Frontini A, & Fanelli M (2010) Synaptogenesis in adult-generated hippocampal granule cells is affected by behavioral experiences. *Hippocampus* 20:799–810.
- Ambrogini P, Lattanzi D, Ciuffoli S, Agostini D, Bertini L, Stocchi V, Santi S, & Cuppini R (2004a) Morpho-functional characterization of neuronal cells at different stages of maturation in granule cell layer of adult rat dentate gyrus. *Brain Res* 1017:21–31.
- Ambrogini P, Orsini L, Mancini C, Ferri P, Ciaroni S, & Cuppini R (2004b) Learning may reduce neurogenesis in adult rat dentate gyrus. *Neurosci Lett* 359:13–16.
- Amrein I, Isler K, & Lipp H-P (2011) Comparing adult hippocampal neurogenesis in mammalian species and orders: influence of chronological age and life history stage. *Eur J Neurosci* 34:978–987.
- Amrein I, Lipp H-P, Boonstra R, & Wojtowicz JM (2015) Adult Hippocampal Neurogenesis in Natural Populations of Mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7.
- Amrein I, Slomianka L, & Lipp H-P (2004a) Granule cell number, cell death and cell proliferation in the dentate gyrus of wild-living rodents. *Eur J Neurosci* 20:3342–3350.
- Amrein I, Slomianka L, Poletaeva II, Bologova N V, & Lipp H-P (2004b) Marked species and age-dependent differences in cell proliferation and neurogenesis in the hippocampus of wild-living rodents. *Hippocampus* 14:1000–1010.

- Anagnostaras SG, Maren S, & Fanselow MS (1999) Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination. *J Neurosci* 19:1106–1114.
- Andersen P, Morris RGM, Amaral DG, Bliss TVP, & O'Keefe J (2007) *The Hippocampus Book*. Oxford University Press.
- Anderson BJ, Rapp DN, Baek DH, McCloskey DP, Coburn-Litvak PS, & Robinson JK (2000) Exercise influences spatial learning in the radial arm maze. *Physiol Behav* 70:425–429.
- Anderson MF, Åberg M a. ., Nilsson M, & Eriksson PS (2002) Insulin-like growth factor-I and neurogenesis in the adult mammalian brain. *Dev Brain Res* 134:115–122.
- Anderson ML, Nokia MS, Govindaraju KP, & Shors TJ (2012) Moderate drinking? Alcohol consumption significantly decreases neurogenesis in the adult hippocampus. *Neuroscience* 224:202–209.
- Andres-Mach M, Rola R, & Fike JR (2008) Radiation effects on neural precursor cells in the dentate gyrus. *Cell Tissue Res* 331:251–262.
- Armbruster BN, Li X, Pausch MH, Herlitze S, & Roth BL (2007) Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:5163–5168.
- Arruda-Carvalho M, Sakaguchi M, Akers KG, Josselyn SA, & Frankland PW (2011) Posttraining ablation of adult-generated neurons degrades previously acquired memories. *J Neurosci* 31:15113–15127.
- Arshamian A, Iannilli E, Gerber JC, Willander J, Persson J, Seo HS, Hummel T, & Larsson M (2013) The functional neuroanatomy of odor evoked autobiographical memories cued by odors and words. *Neuropsychologia* 51:123–131.
- Atkins CM, Selcher JC, Petraitis JJ, Trzaskos JM, & Sweatt JD (1998) The MAPK cascade is required for mammalian associative learning. *Nat Neurosci* 1:602–609.
- Aureli F, & Waal FBM (2000) *Natural Conflict Resolution*.
- Aydin-Abidin S, Trippe J, Funke K, Eysel UT, & Benali A (2008) High- and low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation differentially activates c-Fos and zif268 protein expression in the rat brain. *Exp brain Res* 188:249–261.
- Aztiria E, Capodieci G, Arancio L, & Leanza G (2007) Extensive training in a maze task reduces neurogenesis in the adult rat dentate gyrus probably as a result of stress. *Neurosci Lett* 416:133–137.
- Babb SJ, & Crystal JD (2005) Discrimination of what, when, and where: Implications for episodic-like memory in rats. *Learn Motiv* 36:177–189.
- Babb SJ, & Crystal JD (2006a) Episodic-like memory in the rat. In: *Current biology*, pp 1317–1321.
- Babb SJ, & Crystal JD (2006b) Discrimination of what, when, and where is not based on time of day. *Learn Behav* 34:124–130.
- Bach ME, Hawkins RD, Osman M, Kandel ER, & Mayford M (1995) Impairment of spatial but not contextual memory in CaMKII mutant mice with a selective loss of hippocampal LTP in the range of the theta frequency. *Cell* 81:905–915.

- Bahouth SW, Beauchamp MJ, & Vu KN (2002) Reciprocal Regulation of Beta1 -Adrenergic Receptor Gene Transcription by Sp1 and Early Growth Response Gene 1 : Induction of EGR-1 Inhibits the Expression of the Beta1 - Adrenergic Receptor Gene. *Mol Pharmacol* 61:379–390.
- Bai F, Bergeron M, & Nelson DL (2003) Chronic AMPA receptor potentiator (LY451646) treatment increases cell proliferation in adult rat hippocampus. *Neuropharmacology* 44:1013–1021.
- Baj G, D'Alessandro V, Musazzi L, Mallei A, Sartori CR, Sciancalepore M, Tardito D, Langone F, Popoli M, & Tongiorgi E (2012) Physical Exercise and Antidepressants Enhance BDNF Targeting in Hippocampal CA3 Dendrites: Further Evidence of a Spatial Code for BDNF Splice Variants. *Neuropsychopharmacology* 37:1600–1611.
- Bakker A, Kirwan CB, Miller M, & Stark CEL (2008) Pattern Separation in the Human Hippocampal CA3 and Dentate Gyrus. *Science* (80- ) 319:1640–1642.
- Banasr M, Hery M, Brezun JM, & Daszuta A (2001) Serotonin mediates oestrogen stimulation of cell proliferation in the adult dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 14:1417–1424.
- Banasr M, Hery M, Printemps R, & Daszuta A (2004) Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology* 29:450–460.
- Bannerman DM, Deacon RMJ, Offen S, Friswell J, Grubb M, & Rawlins JNP (2002) Double dissociation of function within the hippocampus: spatial memory and hyponeophagia. *Behav Neurosci* 116:884–901.
- Bannerman DM, Grubb MS, Deacon RMJ, Yee BK, Feldon J, & Rawlins JNP (2003) Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behav Brain Res* 139:197–213.
- Bannerman DM, Rawlins JNP, Mchugh SB, Deacon RMJ, Yee BK, Bast T, Zhang WN, Pothuizen HHJ, & Feldon J (2004) Regional dissociations within the hippocampus - Memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 28:273–283.
- Bannerman DM, Yee BK, Good MA, Heupel MJ, Iversen SD, & Rawlins JN (1999) Double dissociation of function within the hippocampus: a comparison of dorsal, ventral, and complete hippocampal cytotoxic lesions. *Behav Neurosci* 113:1170–1188.
- Bar M (2004) Visual objects in context. *Nat Rev Neurosci* 5:617–629.
- Bar M, & Aminoff E (2003) Cortical analysis of visual context. *Neuron* 38:347–358.
- Barha CK, Lieblich SE, & Galea LAM (2009) Different forms of oestrogen rapidly upregulate cell proliferation in the dentate gyrus of adult female rats. *J Neuroendocrinol* 21:155–166.
- Barkan S, Ayali A, Nottebohm F, & Barnea A (2007) Neuronal recruitment in adult zebra finch brain during a reproductive cycle. *Dev Neurobiol*:687–701.
- Barker JM, & Galea L a M (2008) Repeated estradiol administration alters different aspects of neurogenesis and cell death in the hippocampus of female, but not male, rats. *Neuroscience* 152:888–902.
- Barnea A (2009) Interactions between environmental changes and brain plasticity in birds. *Gen Comp Endocrinol* 163:128–134.

- Barnea A, Mishal A, & Nottebohm F (2006) Social and spatial changes induce multiple survival regimes for new neurons in two regions of the adult brain: An anatomical representation of time? *Behav Brain Res* 167:63–74.
- Barnea A, & Nottebohm F (1994) Seasonal recruitment of hippocampal neurons in adult free-ranging black-capped chickadees. *Proc Natl Acad Sci* 91:11217–11221.
- Barnea A, & Nottebohm F (1996) Recruitment and replacement of hippocampal neurons in young and adult chickadees: an addition to the theory of hippocampal learning. *Proc Natl Acad Sci* 93:714–718.
- Barnes CA, & McNaughton BL (1985) An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behav Neurosci* 99:1040–1048.
- Baron V, Adamson ED, Calogero A, Ragona G, & Mercola D (2006) the transcription factor Egr1 is a direct regulator of multiple tumor suppressors including TGFbeta1, PTEN, p53 and fibronectin. *Cancer Gene Ther* 13:115–124.
- Baron V, De Gregorio G, Kronen-Herzig A, Virolle T, Calogero A, Urcis R, & Mercola D (2003) Inhibition of Egr-1 expression reverses transformation of prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Oncogene* 22:4194–4204.
- Barria A, & Malinow R (2005) NMDA receptor subunit composition controls synaptic plasticity by regulating binding to CaMKII. *Neuron* 48:289–301.
- Barth AL, & Malenka RC (2001) NMDAR EPSC kinetics do not regulate the critical period for LTP at thalamocortical synapses. *Nat Neurosci* 4:235–236.
- Baumgärtel K, Genoux D, Welzl H, Tweedie-Cullen RY, Koshibu K, Livingstone-Zatchej M, Mamie C, & Mansuy IM (2008) Control of the establishment of aversive memory by calcineurin and Zif268. *Nat Neurosci* 11:572–578.
- Baumgärtel K, Tweedie-cullen RY, Grossmann J, Gehrig P, Livingstone-zatchej M, & Mansuy IM (2009) Changes in the Proteome after Neuronal Zif268 Overexpression. *J Proteome Res* 8:3298–3316.
- Bayer SA, Yackel JW, & Puri PS (1982) Neurons in the rat dentate gyrus granular layer substantially increase during juvenile and adult life. *Science* (80- ) 15:22–24.
- Beck H, Goussakov I V, Lie A, Helmstaedter C, & Elger CE (2000) Synaptic plasticity in the human dentate gyrus. *J Neurosci* 20:7080–7086.
- Beckmann AM, Davidson MS, Goodenough S, & Wilce PA (1997) Differential Expression of Egr-1-Like DNA-Binding Activities in the Naive Rat Brain and After Excitatory Stimulation. *J Neurochem* 69:2227–2237.
- Beckmann AM, & Wilce PA (1997) Egr transcription factors in the nervous system. *Neurochem Int* 31:477–510.
- Bédard A, & Parent A (2004) Evidence of newly generated neurons in the human olfactory bulb. *Dev brain Res* 151:159–168.
- Bejar A, Roujansky P, de Barry J, & Gombos G (1985) Different effect of methylazoxymethanol on mouse cerebellar development depending on the age of injection. *Exp brain Res* 57:279–285.

- Bekiari C, Giannakopoulou A, Siskos N, Grivas I, Tsingotjidou A, Michaloudi H, & Papadopoulos GC (2014) Neurogenesis in the septal and temporal part of the adult rat dentate gyrus. *Hippocampus*.
- Bekinschtein P, Oomen CA, Saksida LM, & Bussey TJ (2011) Effects of environmental enrichment and voluntary exercise on neurogenesis, learning and memory, and pattern separation: BDNF as a critical variable? *Semin Cell Dev Biol* 22:536–542.
- Bellinzona M, Gobbel GT, Shinohara C, & Fike JR (1996) Apoptosis is induced in the subependyma of young adult rats by ionizing irradiation. *Neurosci Lett* 208:163–166.
- Ben Abdallah NMB, Slomianka L, Vyssotski AL, & Lipp H-P (2010) Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57 mice. *Neurobiol Aging* 31:151–161.
- Benarroch EE (2013) Adult neurogenesis in the dentate gyrus: general concepts and potential implications. *Neurology* 81:1443–1452.
- Bennett MR (2000) The concept of long term potentiation of transmission at synapses. *Prog Neurobiol* 60:109–137.
- Bergami M, Masserdotti G, Temprana SG, Motori E, Eriksson TM, Gödel J, Yang SM, Conzelmann K-K, Schinder AF, Götz M, & Berninger B (2015) A Critical Period for Experience-Dependent Remodeling of Adult-Born Neuron Connectivity. *Neuron* 85:1–8.
- Bergami M, Rimondini R, Santi S, Blum R, Götz M, & Canossa M (2008) Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:15570–15575.
- Bergmann O, Spalding KL, & Frisén J (2015) Adult Neurogenesis in Humans. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7.
- Bero AW, Meng J, Cho S, Shen AH, Canter RG, Ericsson M, & Tsai L-H (2014) Early remodeling of the neocortex upon episodic memory encoding. *Proc Natl Acad Sci* 111:11852–11857.
- Besnard A, Caboche J, & Laroche S (2012) Reconsolidation of memory: a decade of debate. *Prog Neurobiol* 99:61–80.
- Besnard A, Caboche J, & Laroche S (2013a) Recall and reconsolidation of contextual fear memory: differential control by ERK and Zif268 expression dosage. *PLoS One* 8:e72006.
- Besnard A, Laroche S, & Caboche J (2013b) Comparative dynamics of MAPK/ERK signalling components and immediate early genes in the hippocampus and amygdala following contextual fear conditioning and retrieval. *Brain Struct Funct*.
- Bhalla US, & Iyengar R (1999) Emergent properties of networks of biological signaling pathways. *Science* (80-) 283:381–387.
- Bhat R V, & Baraban JM (1992) High basal expression of zif268 in cortex is dependent on intact noradrenergic system. *Eur J Pharmacol* 227:447–448.
- Bieber M, & Fuldner D (1979) Brain growth during the adult stage of a holometabolous insect. *Naturwissenschaften* 66:426–426.
- Biebl M, Cooper CM, Winkler J, & Kuhn HG (2000) Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neurosci Lett* 291:17–20.
- Binder DK, & Scharfman HE (2004) Brain-derived neurotrophic factor. *Growth factors* 22:123–131.

- Bizon JL, & Gallagher M (2003) Production of new cells in the rat dentate gyrus over the lifespan: relation to cognitive decline. *Eur J Neurosci* 18:215–219.
- Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, & Greenough WT (1990) Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:5568–5572.
- Bliss TVP, & Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31–39.
- Bliss TVP, & Gardner-Medwin AR (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:357–374.
- Bliss TVP, & Lømo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331–358.
- Bloch V, & Laroche S (1985) Enhancement of long-term potentiation in the rat dentate gyrus by post-trial stimulation of the reticular formation. *J Physiol* 360:215–231.
- Blum S, Moore AN, Adams F, & Dash PK (1999) A mitogen-activated protein kinase cascade in the CA1/CA2 subfield of the dorsal hippocampus is essential for long-term spatial memory. *J Neurosci* 19:3535–3544.
- Bolhuis JJ, Zijlstra GGO, den Boer-Visser AM, & Van Der Zee EA (2000) Localized neuronal activation in the zebra finch brain is related to the strength of song learning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:2282–2285.
- Bonaguidi MA, Song J, Ming GL, & Song H (2012) A unifying hypothesis on mammalian neural stem cell properties in the adult hippocampus. *Curr Opin Neurobiol* 22:754–761.
- Bonaguidi MA, Wheeler MA, Shapiro JS, Stadel RP, Sun GJ, Ming G-L, & Song H (2011) In Vivo Clonal Analysis Reveals Self-Renewing and Multipotent Adult Neural Stem Cell Characteristics. *Cell* 145:1142–1155.
- Bondolfi L, Ermini F, Long JM, Ingram DK, & Jucker M (2004) Impact of age and caloric restriction on neurogenesis in the dentate gyrus of C57BL/6 mice. *Neurobiol Aging* 25:333–340.
- Bonev B, Stanley P, & Papalopulu N (2012) MicroRNA-9 Modulates Hes1 ultradian oscillations by forming a double-negative feedback loop. *Cell Rep* 2:10–18.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, & Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671–675.
- Boss BD, Peterson GM, & Cowan WM (1985) On the number of neurons in the dentate gyrus of the rat. *Brain Res* 338:144–150.
- Bostock E, Muller RU, & Kubie JL (1991) Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing. *Hippocampus* 1:193–205.
- Bourtchuladze R, Frenguelli B, Blendy J, Cioffi D, Schutz G, & Silva AJ (1994) Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell* 79:59–68.
- Bowers D, Verfaellie M, Valenstein E, & Heilman KM (1988) Impaired acquisition of temporal information in retrosplenial amnesia. *Brain Cogn* 8:47–66.

- Bowles B, Crupi C, Mirsattari SM, Pigott SE, Parrent AG, Pruessner JC, Yonelinas AP, & Köhler S (2007) Impaired familiarity with preserved recollection after anterior temporal-lobe resection that spares the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:16382–16387.
- Boyden ES, Zhang F, Bamberg E, Nagel G, & Deisseroth K (2005) Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci* 8:1263–1268.
- Bozon B, Davis S, & Laroche S (2002) Regulated transcription of the immediate-early gene Zif268: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* 12:570–577.
- Bozon B, Davis S, & Laroche S (2003a) A requirement for the immediate early gene zif268 in reconsolidation of recognition memory after retrieval. *Neuron* 40:695–701.
- Bozon B, Kelly A, Josselyn S a, Silva AJ, Davis S, & Laroche S (2003b) MAPK, CREB and zif268 are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:805–814.
- Brandt MD, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G, Reuter K, Bick-Sander A, Behrens W Von Der, & Kempermann G (2003) Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol Cell Neurosci* 24:603–613.
- Brennan PA, Hancock D, & Keverne EB (1992) The expression of the immediate-early genes c-fos, egr-1 and c-jun in the accessory olfactory bulb during the formation of an olfactory memory in mice. *Neuroscience* 49:277–284.
- Brennan PA, Kaba H, & Keverne EB (1990) Olfactory recognition: a simple memory system. *Science* (80- ) 250:1223–1226.
- Brennan PA, Schellinck HM, & Keverne EB (1999) Patterns of expression of the immediate-early gene egr-1 in the accessory olfactory bulb of female mice exposed to pheromonal constituents of male urine. *Neuroscience* 90:1463–1470.
- Breton-Provencher V, Lemasson M, Peralta MR, & Saghatelian A (2009) Interneurons produced in adulthood are required for the normal functioning of the olfactory bulb network and for the execution of selected olfactory behaviors. *J Neurosci* 29:15245–15257.
- Brezun JM, & Daszuta A (1999) Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* 89:999–1002.
- Brezun JM, & Daszuta A (2000) Serotonergic reinnervation reverses lesion-induced decreases in PSA-NCAM labeling and proliferation of hippocampal cells in adult rats. *Hippocampus* 10:37–46.
- Broadbent NJ, Squire LR, & Clark RE (2004) Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:14515–14520.
- Brown JP, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van Praag H, Winkler J, Gage FH, & Kuhn HG (2003a) Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci* 17:2042–2046.
- Brown JP, Couillard-Després S, Cooper-Kuhn CM, Winkler J, Aigner L, & Kuhn HG (2003b) Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *J Comp Neurol* 467:1–10.
- Bruel-Jungerman E, Davis S, & Laroche S (2007a) Brain plasticity mechanisms and memory: a party of four. *Neuroscientist* 13:492–505.

- Bruel-Jungerman E, Davis S, Rampon C, & Laroche S (2006) Long-term potentiation enhances neurogenesis in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 26:5888–5893.
- 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. *Eur J Neurosci* 21:513–521.
- Bruel-Jungerman E, Rampon C, & Laroche S (2007b) Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses. *Rev Neurosci* 18:93–114.
- Bruel-Jungerman E, Veyrac A, Dufour F, Horwood J, Laroche S, & Davis S (2009) Inhibition of PI3K-Akt signaling blocks exercise-mediated enhancement of adult neurogenesis and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *PLoS One* 4:e7901.
- Brunson KL, Baram TZ, & Bender RA (2005) Hippocampal neurogenesis is not enhanced by lifelong reduction of glucocorticoid levels. *Hippocampus* 15:491–501.
- Bryans WA (1959) Mitotic activity in the brain of the adult rat. *Anat Rec* 133:65–73.
- Buckmaster PS, & Jongen-Rêlo AL (1999) Highly Specific Neuron Loss Preserves Lateral Inhibitory Circuits in the Dentate Gyrus of Kainate-Induced Epileptic Rats. *J Neurosci* 19:9519–9529.
- Buckmaster PS, Wenzel HJ, Kunkel DD, & Schwartzkroin PA (1996) Axon arbors and synaptic connections of hippocampal mossy cells in the rat in vivo. *J Comp Neurol* 366:271–292.
- Bunk EC, Stelzer S, Hermann S, Schäfers M, Schlatt S, & Schwamborn JC (2011) Cellular organization of adult neurogenesis in the Common Marmoset. *Aging Cell* 10:28–38.
- Burd GD, & Nottebohm F (1985) Ultrastructural characterization of synaptic terminals formed on newly generated neurons in a song control nucleus of the adult canary forebrain. *J Comp Neurol* 240:143–152.
- Burwell RD, & Amaral DG (1998) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *J Comp Neurol* 398:179–205.
- Busto GU, Elie JE, Kermen F, Garcia S, Sacquet J, Jourdan F, Marcel D, Mandairon N, & Didier A (2009) Expression of Zif268 in the granule cell layer of the adult mouse olfactory bulb is modulated by experience. *Eur J Neurosci* 29:1431–1439.
- Cameron HA, & Gould E (1994) Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 61:203–209.
- Cameron HA, McEwen BS, & Gould E (1995) Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. *J Neurosci* 15:4687–4692.
- Cameron HA, & McKay RDG (1999) Restoring production of hippocampal neurons in old age. *Nature* 2:3–6.
- Cameron HA, & McKay RDG (2001) Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J Comp Neurol* 435:406–417.
- Cameron HA, Tanapat P, & Gould E (1998) Adrenal steroids and N-methyl-D-aspartate receptor activation regulate neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats through a common pathway. *Neuroscience* 82:349–354.

- Cameron HA, Woolley CS, McEwen BS, & Gould E (1993) Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience* 56:337–344.
- Campbell NR, Fernandes CC, Halff AW, & Berg DK (2010) Endogenous signaling through alpha7-containing nicotinic receptors promotes maturation and integration of adult-born neurons in the hippocampus. *J Neurosci* 30:8734–8744.
- Campbell NR, Fernandes CC, John D, Lozada AF, & Berg DK (2011) Nicotinic control of adult-born neuron fate. *Biochem Pharmacol* 82:820–827.
- Canales JJ (2007) Adult neurogenesis and the memories of drug addiction. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 257:261–270.
- Canzoniere D, Farioli-Vecchioli S, Conti F, Ciotti MT, Tata AM, Augusti-Tocco G, Mattei E, Lakshmana MK, Krizhanovsky V, Reeves S a, Giovannoni R, Castano F, Servadio A, Ben-Arie N, & Tirone F (2004) Dual control of neurogenesis by PC3 through cell cycle inhibition and induction of Math1. *J Neurosci* 24:3355–3369.
- Cao L, Jiao X, Zuzga DS, Liu Y, Fong DM, Young D, & During MJ (2004) VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. *Nat Genet* 36:827–835.
- Carlén M, Cassidy RM, Brismar H, Smith GA, Enquist LW, & Frise J (2002) Functional Integration of Adult-Born Neurons. *Curr Biol* 12:606–608.
- Cassel J-C, Cassel S, Galani R, Kelche C, Will B, & Jarrard L (1998) Fimbria-fornix vs selective hippocampal lesions in rats: effects on locomotor activity and spatial learning and memory. *Neurobiol Learn Mem* 69:22–45.
- Cayre M, Malaterre J, Scotto-lomassese S, Strambi C, & Strambi A (2002) The common properties of neurogenesis in the adult brain : from invertebrates to vertebrates. *Comp Biochem Physiol Part B* 132:1–15.
- Cayre M, Scotto-lomassese S, Malaterre J, Strambi C, & Strambi A (2007) Understanding the regulation and function of adult neurogenesis: contribution from an insect model, the house cricket. *Chem Senses* 32:385–395.
- Cayre M, Strambi C, Charpin P, Augier R, Meyer MR, Edwards JS, & Strambi A (1996) Neurogenesis in adult insect mushroom bodies. *J Comp Neurol* 371:300–310.
- Cayre M, Strambi C, & Strambi A (1994) Neurogenesis in an adult insect brain and its hormonal control. *Nature* 368:57–59.
- Chambers RA (2013) Adult hippocampal neurogenesis in the pathogenesis of addiction and dual diagnosis disorders. *Drug Alcohol Depend* 130:1–12.
- Chancey JH, Adlaf EW, Sapp MC, Pugh PC, Wadiche JI, & Overstreet-Wadiche LS (2013) GABA Depolarization Is Required for Experience-Dependent Synapse Unsilencing in Adult-Born Neurons. *J Neurosci* 33:6614–6622.
- Chavrier P, Lemaire P, Revelant O, Bravo R, & Charnay P (1988) Characterization of a mouse multigene family that encodes zinc finger structures. *Mol Cell Biol* 8:1319–1326.
- Chetverukhin VK, & Polenov AL (1993) Ultrastructural radioautographic analysis of neurogenesis in the hypothalamus of the adult frog, *Rana temporaria*, with special reference to physiological regeneration of the preoptic nucleus. I. Ventricular zone cell proliferation. *Cell Tissue Res* 271:341–350.

- Cheval H, Chagneau C, Levasseur G, Veyrac A, Faucon-Biguet N, Laroche S, & Davis S (2011) Distinctive features of Egr transcription factor regulation and DNA binding activity in CA1 of the hippocampus in synaptic plasticity and consolidation and reconsolidation of fear memory. *Hippocampus* 22:631–642.
- Chevaleyre V, & Siegelbaum SA (2010) Strong CA2 pyramidal neuron synapses define a powerful disinaptic cortico-hippocampal loop. *Neuron* 66:560–572.
- Chow C, Epp JR, Lieblich SE, Barha CK, & Galea L a M (2013) Sex differences in neurogenesis and activation of new neurons in response to spatial learning and memory. *Psychoneuroendocrinology* 38:1236–1250.
- Christy B, & Nathans D (1989) DNA binding site of the growth factor-inducible protein Zif268. *Proc Natl Acad Sci* 86:8737–8741.
- 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.
- Clark PJ, Bhattacharya TK, Miller DS, Kohman R a, DeYoung EK, & Rhodes JS (2012) New neurons generated from running are broadly recruited into neuronal activation associated with three different hippocampus-involved tasks. *Hippocampus* 22:1860–1867.
- Clark PJ, Brzezinska WJ, Thomas MW, Ryzhenko N a., Toshkov S a., & Rhodes JS (2008) Intact neurogenesis is required for benefits of exercise on spatial memory but not motor performance or contextual fear conditioning in C57BL/6J mice. *Neuroscience* 155:1048–1058.
- Clayton DF (2013) The genomics of memory and learning in songbirds. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 14:45–65.
- Clayton NS, Bussey TJ, & Dickinson A (2003) Can animals recall the past and plan for the future? *Nat Rev Neurosci* 4:685–691.
- Clayton NS, Dally J, Gilbert J, & Dickinson A (2005) Food caching by western scrub-jays (*Aphelocoma californica*) is sensitive to the conditions at recovery. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 31:115–124.
- Clayton NS, & Dickinson A (1998) Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature* 395:272–274.
- Clayton NS, & Dickinson A (1999) Scrub jays (*Aphelocoma coerulescens*) remember the relative time of caching as well as the location and content of their caches. *J Comp Psychol* 113:403–416.
- Clayton NS, Griffiths DP, Emery NJ, & Dickinson A (2001a) Elements of episodic-like memory in animals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:1483–1491.
- Clayton NS, Yu KS, & Dickinson A (2001b) Scrub jays (*Aphelocoma coerulescens*) form integrated memories of the multiple features of caching episodes. *J Comp Psychol Anim Behav Process* 27:17–29.
- Clelland CD, Choi M, Romberg C, Clemenson GD, Fragniere A, Tyers P, Jessberger S, Saksida LM, Barker RA, & Gage F (2009) A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science* (80- ) 325:210.

- Coderre JA, Morris GM, Micca PL, Hopewell JW, Verhagen I, Kleiboer BJ, & van der Kogel AJ (2006) Late effects of radiation on the central nervous system: role of vascular endothelial damage and glial stem cell survival. *Radiat Res* 166:495–503.
- Cohen NJ, Poldrack RA, & Eichenbaum H (1997) Memory for items and memory for relations in the procedural/declarative memory framework. *Memory* 5:131–178.
- Cohen NJ, & Squire LR (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* (80- ) 210:207–210.
- Cole AJ, Bhat R V, Patt C, Worley PF, & Baraban JM (1992) D1 dopamine receptor activation of multiple transcription factor genes in rat striatum. *J Neurochem* 58:1420–1426.
- Cole AJ, Saffen DW, Baraban JM, & Worley PF (1989) Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature* 340:474–476.
- Colgin LL, Moser EI, & Moser M-B (2008) Understanding memory through hippocampal remapping. *Cell* 134:105–119.
- Collingridge GL, Isaac JTR, & Wang YT (2004) Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 5:952–962.
- Collingridge GL, Kehl SJ, & McLennan H (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J Physiol* 334:33–46.
- Conner JM, Lauterborn JC, Yan Q, Gall CM, & Varon S (1997) Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci* 17:2295–2313.
- Correia SPC, Dickinson A, & Clayton NS (2007) Western Scrub-Jays Anticipate Future Needs Independently of Their Current Motivational State. *Curr Biol* 17:856–861.
- Corrente G, Guardavaccaro D, & Tirone F (2002) PC3 potentiates NGF-induced differentiation and protects neurons from apoptosis. *Neuroreport* 13:417–422.
- Covic M, Karaca E, & Lie DC (2010) Epigenetic regulation of neurogenesis in the adult hippocampus. *Heredity (Edinb)* 105:122–134.
- Creer DJ, Romberg C, Saksida LM, van Praag H, & Bussey TJ (2010) Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:2367–2372.
- Crowther AJ, & Song J (2014) Activity-dependent signaling mechanisms regulating adult hippocampal neural stem cells and their progeny. *Neurosci Bull* 30:542–556.
- Crystal JD (2009) Elements of episodic-like memory in animal models. *Behav Processes* 80:269–277.
- Crystal JD (2010) Episodic-like memory in animals. *Behav Brain Res* 215:235–243.
- Crystal JD (2013a) Remembering the past and planning for the future in rats. *Behav Processes* 93:39–49.
- Crystal JD (2013b) Prospective memory. *Curr Biol* 23:R750–R751.

- Crystal JD, & Wilson AG (2014) Prospective memory: A comparative perspective. *Behav Processes* 112:88–99.
- Cui Z, Wang H, Tan Y, Zaia KA, Zhang S, & Tsien JZ (2004) Inducible and reversible NR1 knockout reveals crucial role of the NMDA receptor in preserving remote memories in the brain. *Neuron* 41:781–793.
- Cuppini R, Bucherelli C, Ambrogini P, Ciuffoli S, Orsini L, Ferri P, & Baldi E (2006) Age-related naturally occurring depression of hippocampal neurogenesis does not affect trace fear conditioning. *Hippocampus* 16:141–148.
- Dally JM, Emery NJ, & Clayton NS (2006) Food-caching western scrub-jays keep track of who was watching when. *Science* (80- ) 312:1662–1665.
- Dardou D, Datiche F, & Cattarelli M (2006) Fos and Egr1 expression in the rat brain in response to olfactory cue after taste-potentiated odor aversion retrieval. *Learn Mem* 13:150–160.
- Daselaar SM, Rice HJ, Greenberg DL, Cabeza R, LaBar KS, & Rubin DC (2008) The spatiotemporal dynamics of autobiographical memory: Neural correlates of recall, emotional intensity, and reliving. *Cereb Cortex* 18:217–229.
- Daunais JB, & Mcginty JF (1996) The effects of D1 or D2 dopamine receptor blockage on zif268 and preprodynorphin gene expression in rat forebrain following a short-term cocaine binge. *Mol Brain Res* 35:237–248.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang J-W, Marsteller D, Mendez I, Drew M, Craig DA, Guiard BP, Guilloux JP, Artymyshyn RP, Gardier AM, Gerald C, Antonijevic IA, Leonardo ED, & Hen R (2009) Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron* 62:479–493.
- Davis S, Bozon B, & Laroche S (2003a) How necessary is the activation of the immediate early gene zif268 in synaptic plasticity and learning? *Behav Brain Res* 142:17–30.
- Davis S, Butcher SP, & Morris RGM (1992) The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *J Neurosci* 12:21–34.
- Davis S, & Laroche S (2006) Mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase signalling and memory stabilization: A review. *Genes, Brain Behav* 5:61–72.
- Davis S, Renaudineau S, Poirier R, Poucet B, Save E, & Laroche S (2010) The formation and stability of recognition memory: what happens upon recall? *Front Behav Neurosci* 4:177.
- Davis S, Vanhoutte P, Pagès C, Caboche J, & Laroche S (2000) The MAPK / ERK Cascade Targets Both Elk-1 and cAMP Response Element-Binding Protein to Control Long-Term Potentiation- Dependent Gene Expression in the Dentate Gyrus In Vivo. *J Neurosci* 20:4563–4572.
- Davis W, Chen ZJ, Ile KE, & Tew KD (2003b) Reciprocal regulation of expression of the human adenosine 5'-triphosphate binding cassette, sub-family A, transporter 2 (ABCA2) promoter by the early growth response-1 (EGR-1) and Sp-family transcription factors. *Nucleic Acids Res* 31:1097–1107.
- Dayer AG, Ford A a, Cleaver KM, Yassaee M, & Cameron H a (2003) Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* 460:563–572.

- De La Rosa-Prieto C, De Moya-Pinilla M, Saiz-Sanchez D, Ubeda-banon I, Arzate DM, Flores-Cuadrado A, Liberia T, Crespo C, & Martinez-Marcos A (2015) Olfactory and cortical projections to bulbar and hippocampal adult-born neurons. *Front Neuroanat* 9:1–10.
- Deisseroth K, Singla S, Toda H, Monje M, Palmer TD, & Malenka RC (2004) Excitation-Neurogenesis Coupling in Adult Neural Stem/Progenitor Cells. *Neuron* 42:535–552.
- Deng W, Aimone JB, & Gage FH (2010) New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 11:339–350.
- Deng W, Mayford M, & Gage FH (2013) Selection of distinct populations of dentate granule cells in response to inputs as a mechanism for pattern separation in mice. *Elife* 2:1–21.
- Deng W, Saxe MD, Gallina IS, & Gage FH (2009) Adult-born hippocampal dentate granule cells undergoing maturation modulate learning and memory in the brain. *J Neurosci* 29:13532–13542.
- Denis-Donini S, Dellarole A, Crociara P, Francese MT, Bortolotto V, Quadrato G, Canonico PL, Orsetti M, Ghi P, Memo M, Bonini SA, Ferrari-Toninelli G, & Grilli M (2008) Impaired adult neurogenesis associated with short-term memory defects in NF-kappaB p50-deficient mice. *J Neurosci* 28:3911–3919.
- Dere E, Huston J, & Silva MDS (2005a) Episodic-like memory in mice: simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. *Brain Res Protoc* 16:10–19.
- Dere E, Huston JP, & De Souza Silva M a. (2005b) Integrated memory for objects, places, and temporal order: Evidence for episodic-like memory in mice. *Neurobiol Learn Mem* 84:214–221.
- Dere E, Kart-Teke E, Huston JP, & De Souza Silva M a. (2006) The case for episodic memory in animals. *Neurosci Biobehav Rev* 30:1206–1224.
- Dere E, Pause BM, & Pietrowsky R (2010) Emotion and episodic memory in neuropsychiatric disorders. *Behav Brain Res* 215:162–171.
- Desouza LA, Ladiwala U, Daniel SM, Agashe S, Vaidya RA, & Vaidya VA (2005) Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain. *Mol Cell Neurosci* 29:414–426.
- DeVito LM, & Eichenbaum H (2010) Distinct contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex to the “what-where-when” components of episodic-like memory in mice. *Behav Brain Res* 215:318–325.
- Devito LM, & Eichenbaum H (2011) Memory for the order of events in specific sequences: contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 31:3169–3175.
- Diana RA, Yonelinas AP, & Ranganath C (2007) Imaging recollection and familiarity in the medial temporal lobe: a three-component model. *Trends Cogn Sci* 11:379–386.
- Diaz SL, Doly S, Narboux-Nême N, Fernández S, Mazot P, Banas SM, Boutourlinsky K, Moutkine I, Belmer A, Roumier A, & Maroteaux L (2012) 5-HT(2B) receptors are required for serotonin-selective antidepressant actions. *Mol Psychiatry* 17:154–163.
- Diaz SL, Narboux-n N, Trowbridge S, Scotto-Iomassese S, Borgmann FBK, Jessberger S, Giros B, Maroteaux L, Deneris E, & Gaspar P (2013) Paradoxical increase in survival of newborn neurons in the dentate gyrus of mice with constitutive depletion of serotonin. *Eur J Neurosci* 38:2650–2658.

- Difeo G, Li DMC, & Shors TJ (2015) The motirod : a novel physical skill task that enhances motivation to learn and thereby increases neurogenesis especially in the female hippocampus. *Brain Res*:1–10.
- Döbrössy MD, Drapeau E, Aurousseau C, Le Moal M, Piazza P-V, & Abrous DN (2003) Differential effects of learning on neurogenesis: learning increases or decreases the number of newly born cells depending on their birth date. *Mol Psychiatry* 8:974–982.
- Doetsch F (2003a) A niche for adult neural stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 13:543–550.
- Doetsch F (2003b) The glial identity of neural stem cells. *Nat Neurosci* 6:1127–1134.
- Doetsch F, García-Verdugo JM, & Alvarez-Buylla A (1999) Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:11619–11624.
- Dolorfo CL, & Amaral DG (1998) Entorhinal cortex of the rat: topographic organization of the cells of origin of the perforant path projection to the dentate gyrus. *J Comp Neurol* 398:25–48.
- Domínguez-Escribà L, Hernández-Rabaza V, Soriano-Navarro M, Barcia JA, Romero FJ, García-Verdugo JM, & Canales JJ (2006) Chronic cocaine exposure impairs progenitor proliferation but spares survival and maturation of neural precursors in adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 24:586–594.
- Donegà M, Giusto E, Cossetti C, & Pluchino S (2013) Systemic Neural Stem Cell-Based Therapeutic Interventions for Inflammatory CNS Disorders. *Intech:Chapter 11*.
- Doyère V, Srebro B, & Laroche S (1997) Heterosynaptic LTD and depotentiation in the medial perforant path of the dentate gyrus in the freely moving rat. *J Neurophysiol* 77:571–578.
- Dragunow M (1996) A role for immediate-early transcription factors in learning and memory. *Behav Genet* 26:293–299.
- Dranovsky A, Picchini AM, Moadel T, Sisti AC, Kimura S, Leonardo ED, & Hen R (2012) Experience Dictates Stem Cell Fate in the Adult Hippocampus. *Neuron* 70:908–923.
- 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, Le Moal M, Piazza P-V, & Abrous DN (2003) Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:14385–14390.
- Driscoll I, Howard SR, Stone JC, Monfils M-H, Tomanek B, Brooks WM, & Sutherland RJ (2006) The aging hippocampus: A multi-level analysis in the rat. *Neuroscience* 139:1173–1185.
- Duan X, Chang JH, Ge S, Faulkner RL, Kim JY, Kitabatake Y, Liu X, Yang C-H, Jordan JD, Ma DK, Liu CY, Ganesan S, Cheng H-J, Ming G, Lu B, & Song H (2007) Disrupted-In-Schizophrenia 1 regulates integration of newly generated neurons in the adult brain. *Cell* 130:1146–1158.
- Dudek SM, & Bear MF (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci* 89:4363–4367.
- Dupret D, & Abrous DN (2010) Un nouveau chapitre dans le domaine de la mémoire : la néo-neurogenèse hippocampique. *Biol Aujourd'hui* 204:113–129.

- Dupret D, Fabre A, Döbrössy MD, Panatier A, Rodríguez JJ, Lamarque S, Lemaire V, Olier SHR, Piazza P-V, & Abrous DN (2007) Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. *PLoS Biol* 5:e214.
- Dupret D, Montaron M-F, Drapeau E, Aurousseau C, Le Moal M, Piazza PV, & Abrous DN (2005) Methylazoxymethanol acetate does not fully block cell genesis in the young and aged dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 22:778–783.
- 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:e1959.
- Dusek JA, & Eichenbaum H (1997) The hippocampus and memory for orderly stimulus relations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:7109–7114.
- Duveau V, Laustela S, Barth L, Gianolini F, Vogt KE, Keist R, Chandra D, Homanics GE, Rudolph U, & Fritschy J (2011) Spatio-temporal specificity of GABA A receptor-mediated regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 34:362–373.
- Eacott MJ, & Easton A (2010) Episodic memory in animals: remembering which occasion. *Neuropsychologia* 48:2273–2280.
- Eacott MJ, Easton A, & Zinkivskay A (2005) Recollection in an episodic-like memory task in the rat. *Learn Mem* 12:221–223.
- Eacott MJ, & Norman G (2004) Integrated memory for object, place, and context in rats: a possible model of episodic-like memory? *J Neurosci* 24:1948–1953.
- Easton A, & Eacott MJ (2008) A new working definition of episodic memory: replacing “when” with “which.” In: *Handbook of Episodic Memory*, pp 185–196.
- Easton A, & Eacott MJ (2010) Recollection of episodic memory within the medial temporal lobe: Behavioural dissociations from other types of memory. *Behav Brain Res* 215:310–317.
- Easton A, Zinkivskay A, & Eacott MJ (2009) Recollection is impaired, but familiarity remains intact in rats with lesions of the fornix. *Hippocampus* 19:837–843.
- Eckenhoff MF, & Rakic P (1988) Nature and Fate of Proliferative Cells in the Hippocampal Gyrus During the Life Span of the Rhesus Monkey Dentate. *J Neurosci* 8:2729–2747.
- Edwards FA (1995) LTP - a structural model to explain the inconsistencies. *Trends Neurosci* 18:250–255.
- Egeland M, Zunszain P a., & Pariante CM (2015) Molecular mechanisms in the regulation of adult neurogenesis during stress. *Nat Rev Neurosci* 16:189–200.
- Ehninger D, & Kempermann G (2008) Neurogenesis in the adult hippocampus. *Cell Tissue Res* 331:243–250.
- Ehrengruber MU, Muhlebach SG, Söhrman S, Leutenegger CM, Lester HA, & Davidson N (2000) Modulation of early growth response (EGR) transcription factor-dependent gene expression by using recombinant adenovirus. *Gene* 258:63–69.
- Eichenbaum H (2001) The hippocampus and declarative memory: Cognitive mechanisms and neural codes. *Behav Brain Res* 127:199–207.
- Eichenbaum H (2004) Hippocampus: Cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 44:109–120.

- Eichenbaum H (2007) *The Hippocampal System and Declarative Memory in Animals*.
- Eichenbaum H, & Cohen NJ (2004) *From Conditioning to Conscious Recollection*. Oxford Psychol Ser.
- Eichenbaum H, Dudchenko P, Wood E, Shapiro M, & Tanila H (1999) The hippocampus, memory, and place cells: Is it spatial memory or a memory space? *Neuron* 23:209–226.
- Eichenbaum H, & Fortin NJ (2005) Bridging the gap between brain and behavior: cognitive and neural mechanisms of episodic memory. *J Exp Anal Behav* 84:619–629.
- Eichenbaum H, Otto T, & Cohen NJ (1992) The hippocampus--what does it do? *Behav Neural Biol* 57:2–36.
- Eichenbaum H, Yonelinas AP, & Ranganath C (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* 30:123–152.
- Eid MA, Kumar MV, Iczkowski KA, Bostwick DG, & Tindall DJ (1998) Expression of early growth response genes in human prostate cancer. *Cancer Res* 58:2461–2468.
- Eisch AJ, Barrot M, Schad CA, Self DW, & Nestler EJ (2000) Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:7579–7584.
- Elgersma Y, Sweatt JD, & Giese KP (2004) Mouse genetic approaches to investigating calcium/calmodulin-dependent protein kinase II function in plasticity and cognition. *J Neurosci* 24:8410–8415.
- Emsley JG, & Hagg T (2003) Endogenous and exogenous ciliary neurotrophic factor enhances forebrain neurogenesis in adult mice. *Exp Neurol* 183:298–310.
- Emsley JG, Mitchell BD, Kempermann G, & Macklis JD (2005) Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells. *Prog Neurobiol* 75:321–341.
- Encinas JM, Michurina T V, Peunova N, Park J-H, Tordo J, Peterson DA, Fishell G, Koulakov A, & Enikolopov G (2011) Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 8:566–579.
- Encinas JM, Vaahtokari A, & Enikolopov G (2006) Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:8233–8238.
- Engert F, & Bonhoeffer T (1999) Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399:66–70.
- Episkopou V (2005) SOX2 functions in adult neural stem cells. *Trends Neurosci* 28:219–221.
- Epp JR, Chow C, & Galea LAM (2013) Hippocampus-dependent learning influences hippocampal neurogenesis. *Front Neurosci* 7:1–9.
- Epp JR, Haack AK, & Galea L a M (2011a) Activation and survival of immature neurons in the dentate gyrus with spatial memory is dependent on time of exposure to spatial learning and age of cells at examination. *Neurobiol Learn Mem* 95:316–325.
- Epp JR, Scott NA, & Galea LAM (2011b) Strain differences in neurogenesis and activation of new neurons in the dentate gyrus in response to spatial learning. *Neuroscience* 172:342–354.

- Epp JR, Spritzer MD, & Galea LAM (2007) Hippocampus-dependent learning promotes survival of new neurons in the dentate gyrus at a specific time during cell maturation. *Neuroscience* 149:273–285.
- Ergorul C, & Eichenbaum H (2004) The hippocampus and memory for “what,” “where,” and “when.” *Learn Mem* 11:397–405.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, & Gage FH (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4:1313–1317.
- Ernst A, & Frisén J (2015) Adult Neurogenesis in Humans- Common and Unique Traits in Mammals. *PLoS Biol*:1–12.
- Errington ML, Lynch MA, & Bliss TVP (1987) Long-term potentiation in the dentate gyrus: induction and increased glutamate release are blocked by D(-)Aminophosphonovalerate. *Neuroscience* 20:279–284.
- Espósito MS, Piatti VC, Laplagne DA, Morgenstern NA, Ferrari CC, Pitossi FJ, & Schinder AF (2005) Neuronal differentiation in the adult hippocampus recapitulates embryonic development. *J Neurosci* 25:10074–10086.
- Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, Kuo CJ, & Palmer TD (2003) VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 18:2803–2812.
- Fan Y, Liu Z, Weinstein PR, Fike JR, & Liu J (2007) Environmental enrichment enhances neurogenesis and improves functional outcome after cranial irradiation. *Eur J Neurosci* 25:38–46.
- Fanselow MS, & Dong H-W (2010) Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65:7–19.
- Farioli-Vecchioli S, Sarauili 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 Biol* 6:e246.
- Farmer J, Zhao X, Van Praag H, Wodtke K, Gage FH, & Christie BR (2004) Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male sprague-dawley rats in vivo. *Neuroscience* 124:71–79.
- Faulkner RL, Jang M, Liu X, Duan X, Sailor KA, Kim JY, Ge S, Jones EG, Ming G, Song H, & Cheng H-J (2008) Development of hippocampal mossy fiber synaptic outputs by new neurons in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci* 105:14157–14162.
- Feldman L a, Shapiro ML, & Nalbantoglu J (2010) A novel, rapidly acquired and persistent spatial memory task that induces immediate early gene expression. *Behav Brain Funct* 6:35.
- Felice D, O’Leary OF, Pizzo RC, & Cryan JF (2012) Blockade of the GABA(B) receptor increases neurogenesis in the ventral but not dorsal adult hippocampus: relevance to antidepressant action. *Neuropharmacology* 63:1380–1388.
- Fellini L, & Morellini F (2013) Mice create what-where-when hippocampus-dependent memories of unique experiences. *J Neurosci* 33:1038–1043.
- Ferkin MH, Combs A, Delbarco-Trillo J, Pierce AA, & Franklin S (2008) Meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*, have the capacity to recall the “what”, “where”, and “when” of a single past event. *Anim Cogn* 11:147–159.

- Fernández-Hernández I, Rhiner C, & Moreno E (2013) Adult neurogenesis in *Drosophila*. *Cell Rep* 3:1857–1865.
- Ferrer I, Puig B, Goutan E, Gombau L, & Muñoz-Cánoves P (2001) Methylazoximethanol acetate-induced cell death in the granule cell layer of the developing mouse cerebellum is associated with caspase-3 activation, but does not depend on the tissue-type plasminogen activator. *Neurosci Lett* 299:77–80.
- Ferri ALM, Cavallaro M, Braidà D, Di Cristofano A, Canta A, Vezzani A, Ottolenghi S, Pandolfi PP, Sala M, DeBiasi S, & Nicolis SK (2004) Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain. *Development* 131:3805–3819.
- Filippov V, Kronenberg G, Pivneva T, Reuter K, Steiner B, Wang L-P, Yamaguchi M, Kettenmann H, & Kempermann G (2003) Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Mol Cell Neurosci* 23:373–382.
- Fischer SJ, Arguello AA, Charlton JJ, Fuller DC, Zachariou V, & Eisch AJ (2008) Morphine blood levels, dependence, and regulation of hippocampal subgranular zone proliferation rely on administration paradigm. *Neuroscience* 151:1217–1224.
- Font E, Desfilis E, Pérez-Cañellas MM, & García-Verdugo JM (2001) Neurogenesis and neuronal regeneration in the adult reptilian brain. *Brain Behav Evol* 58:276–295.
- Fortin NJ, Agster KL, & Eichenbaum H (2002) Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. *Nat Neurosci* 5:458–462.
- Fortin NJ, Wright SP, & Eichenbaum H (2004) Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature* 431:188–191.
- Forwood SE, Winters BD, & Bussey TJ (2005) Hippocampal lesions that abolish spatial maze performance spare object recognition memory at delays of up to 48 hours. *Hippocampus* 15:347–355.
- Fouquet C, Tobin C, & Rondi-Reig L (2010) A new approach for modeling episodic memory from rodents to humans: the temporal order memory. *Behav Brain Res* 215:172–179.
- Fournier NM, & Duman RS (2012) Role of vascular endothelial growth factor in adult hippocampal neurogenesis: Implications for the pathophysiology and treatment of depression. *Behav Brain Res* 227:440–449.
- Frankland PW, & Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 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* (80- ) 304:881–883.
- 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* 411:309–313.
- French PJ, O'Connor V, Jones MW, Davis S, Errington ML, Voss K, Truchet B, Wotjak C, Stean T, Doyère V, Maroun M, Laroche S, & Bliss TVP (2001) Subfield-specific immediate early gene expression associated with hippocampal long-term potentiation in vivo. *Eur J Neurosci* 13:968–976.
- Freund TF (2003) Interneuron Diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci* 26:489–495.

- Freund TF, & Buzsáki G (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347–470.
- Frey U, & Morris RGM (1997) Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature* 385:533–536.
- Friedman WJ (1993) Memory for the time of past events. *Psychol Bull* 113:44–66.
- Fu M, Zhu X, Zhang J, Liang J, Lin Y, Zhao L, Ehrenguber MU, & Chen YE (2003) Egr-1 target genes in human endothelial cells identified by microarray analysis. *Gene* 315:33–41.
- Fuchs E, & Flügge G (1998) Stress, glucocorticoids and structural plasticity of the hippocampus. *Neurosci Biobehav Rev* 23:295–300.
- Fuchs E, Flügge G, Ohl F, Lucassen P, Vollmann-Honsdorf GK, & Michaelis T (2001) Psychosocial stress, glucocorticoids, and structural alterations in the tree shrew hippocampus. *Physiol Behav* 73:285–291.
- Fujioka T, Fujioka A, & Duman RS (2004) Activation of cAMP signaling facilitates the morphological maturation of newborn neurons in adult hippocampus. *J Neurosci* 24:319–328.
- Fukada T, & Tonks NK (2001) The reciprocal role of Egr-1 and Sp family proteins in regulation of the PTP1B promoter in response to the p210 Bcr-Abl oncoprotein-tyrosine kinase. *J Biol Chem* 276:25512–25519.
- Fukuda S, Kato F, Tozuka Y, Yamaguchi M, Miyamoto Y, & Hisatsune T (2003) Two Distinct Subpopulations of Nestin-Positive Cells in Adult Mouse Dentate Gyrus. *J Neurosci* 23:9357–9366.
- Fyhn M, Molden S, Witter MP, Moser EI, & Moser M-B (2004) Spatial Representation in the Entorhinal Cortex. *Science* (80- ) 305:1258–1265.
- Gabrieli JD, Corkin S, Mickel SF, & Growdon JH (1993) Intact acquisition and long-term retention of mirror-tracing skill in Alzheimer's disease and in global amnesia. *Behav Neurosci* 107:899–910.
- Gage F, & Kempermann G (1998) Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus. *J Neurobiol* 36:249–266.
- Gage FH (1998) Stem cells of the central nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 8:671–676.
- Gage FH (2000) Mammalian Neural Stem Cells. *Science* (80- ) 287:1433–1438.
- Galea LAM, & Mcewen BS (1999) Sex and seasonal changes in the rate of cell proliferation in the dentate gyrus of adult wild meadow voles. *Neuroscience* 89:955–964.
- Galea LAM, Wainwright SR, Roes MM, Duarte-Guterman P, Chow C, & Hamson DK (2013) Sex, hormones and neurogenesis in the hippocampus: Hormonal modulation of neurogenesis and potential functional implications. *J Neuroendocrinol* 25:1039–1061.
- Gangarossa G, Di Benedetto M, O'Sullivan GJ, Dunleavy M, Alcacer C, Bonito-Oliva A, Henshall DC, Waddington JL, Valjent E, & Fisone G (2011) Convulsant doses of a dopamine D1 receptor agonist result in Erk-dependent increases in Zif268 and Arc/Arg3.1 expression in mouse dentate gyrus. *PLoS One* 6:e19415.
- Gao Z, Ding P, & Hsieh J (2012) Profiling of REST-dependent micrnas reveals dynamic modes of expression. *Front Neurosci* 6:1–17.

- Gao Z, Ure K, Ables JL, Lagace DC, Nave K-A, Goebbels S, Eisch AJ, & Hsieh J (2009) Neurod1 is essential for the survival and maturation of adult-born neurons. *Nat Neurosci* 12:1090–1092.
- García-Verdugo JM, Ferrón S, Flames N, Collado L, Desfilis Iester, & Font E (2002) The proliferative ventricular zone in adult vertebrates : A comparative study using reptiles, birds, and mammals. *Brain Res Bull* 57:765–775.
- Garthe A, Behr J, & Kempermann G (2009) Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies. *PLoS One* 4:e5464.
- Gashler A, & Sukhatme VP (1995) Early Growth Response Protein 1 (Egr-1): Prototype of a Zinc-finger Family of Transcription Factors. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 50:191–224.
- Gass P, Herdegen T, Bravo R, & Kiessling M (1992) Induction of immediate early gene encoded proteins in the rat hippocampus after bicuculline-induced seizures: differential expression of KROX-24, FOS and JUN proteins. *Neuroscience* 48.
- Gass P, Herdegen T, Bravo R, & Kiessling M (1993a) Induction and suppression of immediate early genes in specific rat brain regions by the non-competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801. *Neuroscience* 53:749–758.
- Gass P, Herdegen T, Bravo R, & Kiessling M (1993b) Spatiotemporal Induction of Immediate Early Genes in the Rat Brain after Limbic Seizures: Effects of NMDA Receptor Antagonist MK-801. *Eur J Neurosci* 5:933–943.
- Gassmann M, & Bettler B (2012) Regulation of neuronal GABA B receptor functions by subunit composition. *Nat Rev Neurosci* 13:380–394.
- Ge S, Goh ELK, Sailor K a, Kitabatake Y, Ming G, & Song H (2006) GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* 439:589–593.
- Ge S, Yang C, Hsu K, Guo-li M, & Song H (2007) A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron* 54:559–566.
- Gebara E, Sultan S, Kocher-Braissant J, & Toni N (2013) Adult hippocampal neurogenesis inversely correlates with microglia in conditions of voluntary running and aging. *Front Neurosci* 7:1–9.
- Geinisman Y (2000) Structural synaptic modifications associated with hippocampal LTP and behavioral learning. *Cereb Cortex* 10:952–962.
- Geinisman Y, Berry RW, Disterhoft JF, Power JM, & Van der Zee EA (2001) Associative learning elicits the formation of multiple-synapse boutons. *J Neurosci* 21:5568–5573.
- Geinisman Y, De Toledo-Morrell L, & Morrell F (1991) Induction of long-term potentiation is associated with an increase in the number of axospinous synapses with segmented postsynaptic densities. *Brain Res* 566:77–88.
- Geinisman Y, Detoledo-Morrell L, Morrell F, Persina IS, & Beatty MA (1996) Synapse restructuring associated with the maintenance phase of hippocampal long-term potentiation. *J Comp Neurol* 368:413–423.
- Geinisman Y, DeToledo-Morrell L, Morrell F, Persina IS, & Rossi M (1992) Structural synaptic plasticity associated with the induction of long-term potentiation is preserved in the dentate gyrus of aged rats. *Hippocampus* 2:445–456.

- Geinisman Y, Disterhoft JF, Gundersen HJG, Mcechron MD, Persina IS, Power JM, Van Der Zee EA, & West MJ (2000) Remodeling of hippocampal synapses after hippocampus-dependent associative learning. *J Comp Neurol* 417:49–59.
- Genoux D, Haditsch U, Knobloch M, Michalon A, Storm D, & Mansuy IM (2002) Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory. *Nature* 418:970–975.
- Gerlai RT, McNamara A, Williams S, & Phillips HS (2002) Hippocampal dysfunction and behavioral deficit in the water maze in mice: An unresolved issue? *Brain Res Bull* 57:3–9.
- Gheusi G, Lepousez G, & Lledo Pi-M (2013) Adult-born neurons in the olfactory bulb: integration and functional consequences. *Curr Top Behav Neurosci* 15:49–72.
- Gheusi G, & Lledo P-M (2014) *Adult neurogenesis in the olfactory system shapes odor memory and perception*, 1st ed. Elsevier B.V.
- Gheusi G, Ortega-Perez I, Murray K, & Lledo PM (2009) A niche for adult neurogenesis in social behavior. *Behav Brain Res* 200:315–322.
- Giachino C, Barz M, Tchorz JS, Tome M, Gassmann M, Bischofberger J, Bettler B, & Taylor V (2014) GABA suppresses neurogenesis in the adult hippocampus through GABAB receptors. *Development* 141:83–90.
- Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, & Silva alcino J (1998) Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science (80- )* 279:870–873.
- Gilbert PE, & Kesner RP (2003) Localization of function within the dorsal hippocampus: the role of the CA3 subregion in paired-associate learning. *Behav Neurosci* 117:1385–1394.
- Gilbert PE, Kesner RP, & Lee I (2001) Dissociating Hippocampal Subregions: A Double Dissociation Between Dentate Gyrus and CA1. *Hippocampus* 11:626–636.
- Gilboa A, Winocur G, Grady CL, Hevenor SJ, & Moscovitch M (2004) Remembering our past: Functional neuroanatomy of recollection of recent and very remote personal events. *Cereb Cortex* 14:1214–1225.
- Gil-Mohapel J, Brocardo PS, Choquette W, Gothard R, Simpson JM, & Christie BR (2013) Hippocampal neurogenesis levels predict WATERMAZE search strategies in the aging brain. *PLoS One* 8:e75125.
- Glisky EL, Rubin SR, & Davidson PSR (2001) Source memory in older adults: an encoding or retrieval problem? *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 27:1131–1146.
- Gobes SMH, Ter Haar SM, Vignal C, Vergne AL, Mathevon N, & Bolhuis JJ (2009) Differential responsiveness in brain and behavior to sexually dimorphic long calls in male and female zebra finches. *J Comp Neurol* 516:312–320.
- Goelet P, Castellucci VF, Schacher S, & Kandel ER (1986) The long and the short of long-term memory: A molecular framework. *Nature* 322:419–422.
- Goh JJ, & Manahan-Vaughan D (2013) Endogenous hippocampal LTD that is enabled by spatial object recognition requires activation of NMDA receptors and the metabotropic glutamate receptor, mGlu5. *Hippocampus* 23:129–138.
- Goldschmidt RB, & Steward O (1980) Preferential neurotoxicity of colchicine for granule cells of the dentate gyrus of the adult rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77:3047–3051.

- Goldschmidt RB, & Steward O (1982) Neurotoxic effects of colchicine: Differential susceptibility of CNS neuronal populations. *Neuroscience* 7:695–714.
- Goodman T, Trouche S, Massou I, Verret L, Zerwas M, Rouillet P, & Rampon C (2010) Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. *Neuroscience* 171:769–778.
- Goodrich-Hunsaker NJ, Hunsaker MR, & Kesner RP (2008) The interactions and dissociations of the dorsal hippocampus subregions: how the dentate gyrus, CA3, and CA1 process spatial information. *Behav Neurosci* 122:16–26.
- Goshen I, Brodsky M, Prakash R, Wallace J, Gradinaru V, Ramakrishnan C, & Deisseroth K (2011) Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell* 147:678–689.
- Gossen M, & Bujard H (1992) Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:5547–5551.
- Gould E (2007) How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat Rev Neurosci* 8:481–488.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, & Shors TJ (1999a) Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 2:260–265.
- Gould E, Cameron HA, Daniels DC, Woolley CS, & Mc Ewen BS (1992) Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci* 12:3642–3650.
- Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LAM, & Fuchs E (1997) Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Tree Shrew Is Regulated by Psychosocial Stress and NMDA Receptor Activation. *J Neurosci* 17:2492–2498.
- Gould E, Reeves AJ, Graziano MSA, & Gross CG (1999b) Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* (80- ) 286:548–553.
- Gould E, Tanapat P, Hastings NB, & Shors TJ (1999c) Neurogenesis in adulthood : a possible role in learning. *Trends Cogn Sci* 3:186–192.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flügge G, & Fuchs E (1998) Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci* 95:3168–3171.
- Gould E, Tanapat P, Rydel T, & Hastings N (2000) Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. *Biol Psychiatry* 3223:715–720.
- Gould E, Vail N, Wagers M, & Gross CG (2001) Adult-generated hippocampal and neocortical neurons in macaques have a transient existence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:10910–10917.
- Gould E, Woolley CS, Cameron HA, Daniels DC, & McEwen BS (1991) Adrenal steroids regulate postnatal development of the rat dentate gyrus: II. Effects of glucocorticoids and mineralocorticoids on cell birth. *J Comp Neurol* 313:486–493.
- Gräff J, Woldemichael BT, Berchtold D, Dewarrat G, & Mansuy IM (2012) Dynamic histone marks in the hippocampus and cortex facilitate memory consolidation. *Nat Commun* 3:991.
- Grant SGN, O'Dell TJ, Karl KA, Stein PL, Soriano P, & Kandel ER (1992) Impaired long-term potentiation, spatial learning, and hippocampal development in *fyn* mutant mice. *Science* (80- ) 258:1903–1910.

- Grassi Zucconi G, Cipriani S, Balgouranidou I, & Scattoni R (2006) "One night" sleep deprivation stimulates hippocampal neurogenesis. *Brain Res Bull* 69:375–381.
- Gratzner HG (1982) Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science* (80- ) 218:474–475.
- Gray WP, & Cheung A (2014) *Nitric oxide regulation of adult neurogenesis*, 1st ed. Elsevier Inc.
- Greenough WT, & Bailey CH (1988) The anatomy of a memory: convergence of results across a diversity of tests. *Trends Neurosci* 11:142–147.
- Greenough WT, Larson JR, & Withers GS (1985) Effects of unilateral and bilateral training in a reaching task on dendritic branching of neurons in the rat motor-sensory forelimb cortex. *Behav Neural Biol* 44:301–314.
- Grégoire C-A, Bonenfant D, Le Nguyen A, Aumont A, & Fernandes KJL (2014) Untangling the influences of voluntary running, environmental complexity, social housing and stress on adult hippocampal neurogenesis. *PLoS One* 9:e86237.
- Griffiths D, Dickinson A, & Clayton N (1999) Episodic memory: What can animals remember about their past? *Trends Cogn Sci* 3:74–80.
- Grimm R, & Tischmeyer W (1997) Complex patterns of immediate early gene induction in rat brain following brightness discrimination training and pseudotraining. *Behav Brain Res* 84:109–116.
- Gross CG (2000) Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Rev Neurosci* 1:67–73.
- Groves JO, Leslie I, Huang G-J, McHugh SB, Taylor A, Mott R, Munafò M, Bannerman DM, & Flint J (2013) Ablating adult neurogenesis in the rat has no effect on spatial processing: evidence from a novel pharmacogenetic model. *PLoS Genet* 9:e1003718.
- Gu Y, Arruda-Carvalho M, Wang J, Janoschka SR, Josselyn S a, Frankland PW, & Ge S (2012a) Optical controlling reveals time-dependent roles for adult-born dentate granule cells. *Nat Neurosci* 15:1700–1706.
- Gu Y, Janoschka S, & Ge S (2012b) Neurogenesis and Hippocampal Plasticity in Adult Brain. *Curr Top Behav Neurosci* 217.
- Gusev PA, & Gubin AN (2010) Arc/Arg3.1 mRNA global expression patterns elicited by memory recall in cerebral cortex differ for remote versus recent spatial memories. *Front Integr Neurosci* 4:15.
- Guzman-Marin R, Suntsova N, Methippara M, Greiffenstein R, Szymusiak R, & McGinty D (2005) Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur J Neurosci* 22:2111–2116.
- Guzmán-Marín R, Suntsova N, Stewart DR, Gong H, Szymusiak R, & McGinty D (2003) Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *J Physiol* 549:563–571.
- Guzowski JF, 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. *J Neurosci* 21:5089–5098.
- 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.

- Hagihara H, Ohira K, Toyama K, & Miyakawa T (2011) Expression of the AMPA Receptor Subunits GluR1 and GluR2 is Associated with Granule Cell Maturation in the Dentate Gyrus. *Front Neurosci* 5:100.
- Hairston IS, Little MTM, Scanlon MD, Barakat MT, Palmer TD, Sapolsky RM, & Heller HC (2005) Sleep restriction suppresses neurogenesis induced by hippocampus-dependent learning. *J Neurophysiol* 94:4224–4233.
- Halasy K, & Somogyi P (1993) Subdivisions in the multiple GABAergic innervation of granule cells in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 5:411–429.
- Hall J, Thomas KL, & Everitt BJ (2000) Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nature* 3:533–535.
- Hall J, Thomas KL, & Everitt BJ (2001) Cellular Imaging of zif268 Expression in the Hippocampus and Amygdala during Contextual and Cued Fear Memory Retrieval : Selective Activation of Hippocampal CA1 Neurons during the Recall of Contextual Memories. *J Comp Neurol* 21:2186–2193.
- Hamilton A (1901) The division of differentiated cells in the central nervous system of the white rat. *J Comp Neurol* 11:297–320.
- Harada T, Morooka T, Ogawa S, & Nishida E (2001) ERK induces p35, a neuron-specific activator of Cdk5, through induction of Egr1. *Nat Cell Biol* 3:453–459.
- Harburg GC, Hall FS, Harrist A V, Sora I, Uhl GR, & Eisch AJ (2007) Knockout of the mu opioid receptor enhances the survival of adult-generated hippocampal granule cell neurons. *Neuroscience* 144:77–87.
- Harrist A, Beech RD, King SL, Zanardi A, Cleary MA, Caldarone BJ, Eisch AJ, Zoli M, & Picciotto MR (2004) Alteration of hippocampal cell proliferation in mice lacking the beta 2 subunit of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Synapse* 54:200–206.
- Hartley T, Maguire EA, Spiers HJ, & 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.
- Hassabis D, & Maguire EA (2007) Deconstructing episodic memory with construction. *Trends Cogn Sci* 11:299–306.
- Hastings NB, & Gould E (1999) Rapid extension of axons into the CA3 region by adult-generated granule cells. *J Comp Neurol* 413:146–154.
- Hayashi ML, Choi SY, Shankaranarayana Rao BS, Jung HY, Lee HK, Zhang D, Chattarji S, Kirkwood A, & Tonegawa S (2004) Altered cortical synaptic morphology and impaired memory consolidation in forebrain-specific dominant-negative PAK transgenic mice. *Neuron* 42:773–787.
- He J, Nixon K, Shetty AK, & Crews FT (2005) Chronic alcohol exposure reduces hippocampal neurogenesis and dendritic growth of newborn neurons. *Eur J Neurosci* 21:2711–2720.
- Hebb DO (1949) The first stage of perception: growth of the assembly. *Organ Behav*:60–78.
- 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 Res Rev* 28:370–490.

- Herdegen T, Walker T, Leah J, Bravo R, & Zimmermann M (1990) The KROX-24 protein, a new transcription regulating factor: expression in the rat central nervous system following afferent somatosensory stimulation. *Neurosci Lett* 120:21–24.
- Hernández-Rabaza V, Llorens-Martín M, Velázquez-Sánchez C, Ferragud A, Arcusa A, Gumus HG, Gómez-Pinedo U, Pérez-Villalba A, Roselló J, Trejo JL, Barcia JA, & Canales JJ (2009) Inhibition of adult hippocampal neurogenesis disrupts contextual learning but spares spatial working memory, long-term conditional rule retention and spatial reversal. *Neuroscience* 159:59–68.
- Heynen AJ, & Bear MF (2001) Long-Term Potentiation of Thalamocortical Transmission in the Adult Visual Cortex In Vivo. *J Neurosci* 21:9801–9813.
- Hoffman KL, & McNaughton BL (2002) Coordinated reactivation of distributed memory traces in primate neocortex. *Science* (80- ) 297:2070–2073.
- Höglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, Oertel WH, Caille I, & Hirsch EC (2004) Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 7:726–735.
- Hoshooley JS, & Sherry DF (2007) Greater hippocampal neuronal recruitment in food-storing than in non-food-storing birds. *Dev Neurobiol*:406–414.
- Hsieh J, Nakashima K, Kuwabara T, Mejia E, & Gage FH (2004) Histone deacetylase inhibition-mediated neuronal differentiation of multipotent adult neural progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:16659–16664.
- Hu Q, Zhang L, Wen J, Wang S, Li M, Feng R, Yang X, & Li L (2010) The EGF receptor-sox2-EGF receptor feedback loop positively regulates the self-renewal of neural precursor cells. *Stem Cells* 28:279–286.
- Hua K, Schindler MK, McQuail J a., Forbes ME, & Riddle DR (2012) Regionally Distinct Responses of Microglia and Glial Progenitor Cells to Whole Brain Irradiation in Adult and Aging Rats. *PLoS One* 7.
- Hughes P, & Dragunow M (1995) Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system. *Pharmacol Rev* 47:133–178.
- Hughes P, Lawlor P, & Dragunow M (1992) Basal expression of Fos, Fos-related, Jun, and Krox 24 proteins in rat hippocampus. *Mol Brain Res* 13:355–357.
- Hunsaker MR, & Kesner RP (2008) Evaluating the differential roles of the dorsal dentate gyrus, dorsal CA3, and dorsal CA1 during a temporal ordering for spatial locations task. *Hippocampus* 18:955–964.
- Ibi D, Takuma K, Koike H, Mizoguchi H, Tsuritani K, Kuwahara Y, Kamei H, Nagai T, Yoneda Y, Nabeshima T, & Yamada K (2008) Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice. *J Neurochem* 105:921–932.
- Imayoshi I, Ohtsuka T, Metzger D, Chambon P, & Kageyama R (2006) Temporal regulation of Cre recombinase activity in neural stem cells. *Genesis* 44:233–238.
- Imayoshi I, Sakamoto M, & Kageyama R (2011) Genetic methods to identify and manipulate newly born neurons in the adult brain. *Front Neurosci* 5:64.

- Imayoshi I, Sakamoto M, Ohtsuka T, Takao K, Miyakawa T, Yamaguchi M, Mori K, Ikeda T, Itoharu S, & Kageyama R (2008) Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci* 11:1153–1161.
- Isaac JTR, Nicoll RA, & Malenka RC (1995) Evidence for silent synapses: Implications for the expression of LTP. *Neuron* 15:427–434.
- Iwata Y, Suzuki K, Wakuda T, Seki N, Thanseem I, Matsuzaki H, Mamiya T, Ueki T, Mikawa S, Sasaki T, Suda S, Yamamoto S, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nakamura K, Sato K, Takei N, Hashimoto K, & Mori N (2008) Irradiation in adulthood as a new model of schizophrenia. *PLoS One* 3:4–11.
- Izquierdo I, Quillfeldt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK, & Medina JH (1997) Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *Eur J Neurosci* 9:786–793.
- Jaako-Movits K, & Zharkovsky A (2005) Impaired fear memory and decreased hippocampal neurogenesis following olfactory bulbectomy in rats. *Eur J Neurosci* 22:2871–2878.
- Jagasia R, Song H, Gage FH, & Lie DC (2006) New regulators in adult neurogenesis and their potential role for repair. *Trends Mol Med* 12:400–405.
- Jagasia R, Steib K, Englberger E, Herold S, Faus-Kessler T, Saxe M, Gage FH, Song H, & Lie DC (2009) GABA-CREB signalling regulates maturation and survival of newly generated neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* 29:7966–7977.
- Jaholkowski P, Kiryk A, Jedynek P, Ben Abdallah NMB, Knapska E, Kowalczyk A, Piechal A, Blecharz-Klin K, Figiel I, Liudyno V, Widy-Tyszkiewicz E, Wilczynski GM, Lipp H-P, Kaczmarek L, & Filipkowski RK (2009) New hippocampal neurons are not obligatory for memory formation; cyclin D2 knockout mice with no adult brain neurogenesis show learning. *Learn Mem* 16:439–451.
- James AB, Conway A-M, & Morris BJ (2005) Genomic profiling of the neuronal target genes of the plasticity-related transcription factor -- Zif268. *J Neurochem* 95:796–810.
- Jarvis ED, Mello C V, & Nottebohm F (1995) Associative learning and stimulus novelty influence the song-induced expression of an immediate early gene in the canary forebrain. *Learn Mem* 2:62–80.
- Jawerka M, Colak D, Dimou L, Spiller C, Lager S, Montgomery RL, Olson EN, Wurst W, Göttlicher M, & Götz M (2010) The specific role of histone deacetylase 2 in adult neurogenesis. *Neuron Glia Biol* 6:93–107.
- Jeltsch H, Bertrand F, Lazarus C, & Cassel J-C (2001) Cognitive performances and locomotor activity following dentate granule cell damage in rats: role of lesion extent and type of memory tested. *Neurobiol Learn Mem* 76:81–105.
- Jessberger S, Aigner S, Clemenson GD, Toni N, Lie DC, Karalay O, Overall RW, Kempermann G, & Gage FH (2008) Cdk5 regulates accurate maturation of newborn granule cells in the adult hippocampus. *PLoS Biol* 6:e272.
- Jessberger S, & Kempermann G (2003) Adult-born hippocampal neurons mature into activity-dependent responsiveness. *Eur J Neurosci* 18:2707–2712.
- Jin K, Mao XO, Sun Y, Xie L, Jin L, Nishi E, Klagsbrun M, & Greenberg DA (2002a) Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor: Hypoxia-Inducible Expression In Vitro and Stimulation of Neurogenesis In Vitro and In Vivo. *J Neurosci* 22:5365–5373.

- Jin K, Sun Y, Xie L, Bateur S, Mao X, Smelick C, Logvinova A, & David G (2003) Neurogenesis and aging: FGF-2 and HB-EGF restore neurogenesis in hippocampus and subventricular zone of aged mice. *Aging Cell*:175–183.
- Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, Xie L, & Greenberg DA (2002b) Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 99:11946–11950.
- Jinno S (2011a) Topographic differences in adult neurogenesis in the mouse hippocampus: A stereology-based study using endogenous markers. *Hippocampus* 21:467–480.
- Jinno S (2011b) Decline in adult neurogenesis during aging follows a topographic pattern in the mouse hippocampus. *J Comp Neurol* 519:451–466.
- Johnston M V, & Coyle JT (1979) Histological and neurochemical effects of fetal treatment with methylazoxymethanol on rat neocortex in adulthood. *Brain Res* 170:135–155.
- Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss TVP, Garel S, Charnay P, Bozon B, Laroche S, & Davis S (2001) A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci* 4:289–296.
- Jones MW, French PJ, Bliss TVP, & Rosenblum K (1999) Molecular Mechanisms of Long-Term Potentiation in the Insular Cortex In Vivo. *J Neurosci* 19:1–8.
- Jozet-Alves C, Bertin M, & Clayton NS (2013) Evidence of episodic-like memory in cuttlefish. *Curr Biol* 23:R1033–R1035.
- Jungenitz T, Radic T, Jedlicka P, & Schwarzacher SW (2013) High-Frequency Stimulation Induces Gradual Immediate Early Gene Expression in Maturing Adult-Generated Hippocampal Granule Cells. *Cereb cortex*.
- Kaczmarek L, & Chaudhuri A (1997) Sensory regulation of immediate–early gene expression in mammalian visual cortex: implications for functional mapping and neural plasticity. *Brain Res Rev* 23:237–256.
- Kahn L, Alonso G, Normand E, & Manzoni OJ (2005) Repeated morphine treatment alters polysialylated neural cell adhesion molecule, glutamate decarboxylase-67 expression and cell proliferation in the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 21:493–500.
- Kannangara TS, Bostrom CA, Ratzlaff A, Thompson L, Cater RM, Gil-Mohapel J, & Christie BR (2014) Deletion of the NMDA Receptor GluN2A Subunit Significantly Decreases Dendritic Growth in Maturing Dentate Granule Neurons. *PLoS One* 9:e103155.
- Kaplan MS (1981) Neurogenesis in the 3-month-old rat visual cortex. *J Comp Neurol* 195:323–338.
- Kaplan MS (1985) Formation and turnover of neurons in young and senescent animals: an electronmicroscopic and morphometric analysis. *Ann N Y Acad Sci* 457:173–192.
- Kaplan MS (2001) Environment complexity stimulates visual cortex neurogenesis: death of a dogma and a research career. *Trends Neurosci* 24:617–620.
- Kaplan MS, & Bell DH (1984) Mitotic Neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old Rodent Hippocampus. *J Neurosci* 4:1429–1441.
- Kaplan MS, & Hinds JW (1977) Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* (80- ) 197:1092–1094.

- Kapoor R, Desouza LA, Nanavaty IN, Kernie SG, & Vaidya VA (2012) Thyroid hormone accelerates the differentiation of adult hippocampal progenitors. *J Neuroendocrinol* 24:1259–1271.
- Kapoor R, Fanibunda SE, Desouza LA, Guha SK, & Vaidya VA (2015) Perspectives on thyroid hormone action in adult neurogenesis. *J Neurochem* 133:599–616.
- Kapoor R, van Hogerlinden M, Wallis K, Ghosh H, Nordstrom K, Vennstrom B, & Vaidya VA (2010) Unliganded thyroid hormone receptor alpha1 impairs adult hippocampal neurogenesis. *FASEB J* 24:4793–4805.
- Kart-Teke E, Silva MDS, Huston J, & Dere E (2006) Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences. *Neurobiol Learn Mem* 85:173–182.
- Kaslin J, Ganz J, & Brand M (2008) Proliferation, neurogenesis and regeneration in the non-mammalian vertebrate brain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363:101–122.
- Katche C, Bekinschtein P, Slipczuk L, Goldin A, Izquierdo IA, Cammarota M, & Medina JH (2010) Delayed wave of c-Fos expression in the dorsal hippocampus involved specifically in persistence of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:349–354.
- Katche C, Dorman G, Gonzalez C, Kramar CP, Slipczuk L, Rossato JI, Cammarota M, & Medina JH (2013a) On the role of retrosplenial cortex in long-lasting memory storage. *Hippocampus* 23:295–302.
- Katche C, Dorman G, Slipczuk L, Cammarota M, & Medina JH (2013b) Functional integrity of the retrosplenial cortex is essential for rapid consolidation and recall of fear memory. *Learn Mem* 20:170–173.
- Katoh-Semba R, Asano T, Ueda H, Morishita R, Takeuchi IK, Inaguma Y, & Kato K (2002) Riluzole enhances expression of brain-derived neurotrophic factor with consequent proliferation of granule precursor cells in the rat hippocampus. *FASEB J* 16:1328–1330.
- Kaufmann K, Bach K, & Thiel G (2001) The extracellular signal-regulated protein kinases Erk1/Erk2 stimulate expression and biological activity of the transcriptional regulator Egr-1. *Biol Chem* 382:1077–1081.
- Kaufmann K, & Thiel G (2001) Epidermal growth factor and platelet-derived growth factor induce expression of Egr-1, a zinc finger transcription factor, in human malignant glioma cells. *J Neurol Sci* 189:83–91.
- Kaufmann K, & Thiel G (2002) Epidermal growth factor and thrombin induced proliferation of immortalized human keratinocytes is coupled to the synthesis of Egr-1, a zinc finger transcriptional regulator. *J Cell Biochem* 85:381–391.
- Kee N, Teixeira CM, Wang AH, & Frankland PW (2007) Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat Neurosci* 10:355–362.
- Kelly A, Laroche S, & Davis S (2003) Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory. *J Neurosci* 23:5354–5360.
- Kemp A, & Manahan-Vaughan D (2007) Hippocampal long-term depression: master or minion in declarative memory processes? *Trends Neurosci* 30:111–118.

- Kemp A, Tischmeyer W, & Manahan-Vaughan D (2013) Learning-facilitated long-term depression requires activation of the immediate early gene, c-fos, and is transcription dependent. *Behav Brain Res* 254:83–91.
- Kempermann G, Brandon EP, & Gage FH (1998a) Environmental stimulation of 129/SvJ mice causes increased cell proliferation and neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Curr Biol* 8:939–942.
- Kempermann G, Chesler EJ, Lu L, Williams RW, & Gage FH (2006) Natural variation and genetic covariance in adult hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:780–785.
- Kempermann G, & Gage FH (1999) Experience-Dependent Regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis : Effects of Long-Term Stimulation and Stimulus Withdrawal. *Hippocampus* 9:321–332.
- Kempermann G, & Gage FH (2002a) Genetic influence on phenotypic differentiation in adult hippocampal neurogenesis. *Brain Res Dev Brain Res* 134:1–12.
- Kempermann G, & Gage FH (2002b) Genetic determinants of adult hippocampal neurogenesis correlate with acquisition, but not probe trial performance, in the water maze task. *Eur J Neurosci* 16:129–136.
- Kempermann G, Gast D, Kronenberg G, Yamaguchi M, & Gage FH (2003) Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development* 130:391–399.
- Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, & Kronenberg G (2004) Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* 27:447–452.
- Kempermann G, Kuhn HG, & Gage FH (1997a) Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Proc Natl Acad Sci* 94:10409–10414.
- Kempermann G, Kuhn HG, & Gage FH (1997b) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386:493–495.
- Kempermann G, Kuhn HG, & Gage FH (1998b) Experience-Induced Neurogenesis in the Senescent Dentate Gyrus. *J Neurosci* 18:3206–3212.
- Kesner RP (2007) A behavioral analysis of dentate gyrus function. *Prog brain* 163:567–576.
- Kesner RP, Gilbert PE, & Wallenstein G V (2000) Testing neural network models of memory with behavioral experiments. *Curr Opin Neurobiol* 10:260–265.
- Kesner RP, Hunsaker MR, & Gilbert PE (2005) The Role of CA1 in the Acquisition of an Object-Trace-Odor Paired Associate Task. *Behav Neurosci* 119.
- Kida S, Josselyn S a, Peña de Ortiz S, Kogan JH, Chevere I, Masushige S, & Silva AJ (2002) CREB required for the stability of new and reactivated fear memories. *Nat Neurosci* 5:348–355.
- Kim JJ, & Fanselow MS (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science (80- )* 256:675–677.
- Kim J-S, Jung J, Lee HJ, Kim JC, Wang H, Kim SH, Shin T, & Moon C (2009a) Differences in immunoreactivities of Ki-67 and doublecortin in the adult hippocampus in three strains of mice. *Acta Histochem* 111:150–156.

- Kim JY, Duan X, Liu CY, Jang MH, Guo JU, Pow-anpongkul N, Kang E, Song H, & Ming GL (2009b) DISC1 Regulates New Neuron Development in the Adult Brain via Modulation of AKT-mTOR Signaling through KIAA1212. *Neuron* 63:761–773.
- Kim MJ, Dunah AW, Yu TW, & Sheng M (2005) Differential roles of NR2A- and NR2B-containing NMDA receptors in Ras-ERK signaling and AMPA receptor trafficking. *Neuron* 46:745–760.
- Kim YP, Kim H, Shin MS, Chang HK, Jang MH, Shin MC, Lee SJ, Lee HH, Yoon JH, Jeong IG, & Kim CJ (2004) Age-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rats. *Neurosci Lett* 355:152–154.
- Kippin TE, Kapur S, & van der Kooy D (2005) Dopamine specifically inhibits forebrain neural stem cell proliferation, suggesting a novel effect of antipsychotic drugs. *J Neurosci* 25:5815–5823.
- Kirby ED, Kuwahara AA, Messer RL, & Wyss-Coray T (2015) Adult hippocampal neural stem and progenitor cells regulate the neurogenic niche by secreting VEGF. *Proc Natl Acad Sci*.
- Kirn J, Loughlin BO, Kasparian S, & Nottebohm F (1994) Cell death and neuronal recruitment in the high vocal center of adult male canaries are temporally related to changes in song. *J Neurosci* 14:7844–7848.
- Kitamura T, Saitoh Y, Takashima N, Murayama A, Niibori Y, Ageta H, Sekiguchi M, Sugiyama H, & Inokuchi K (2009) Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell* 139:814–827.
- Kitayama T, Yoneyama M, Tamaki K, & Yoneda Y (2004) Regulation of neuronal differentiation by N-methyl-D-aspartate receptors expressed in neural progenitor cells isolated from adult mouse hippocampus. *J Neurosci Res* 76:599–612.
- Kizil C, Kaslin J, Kroehne V, & Brand M (2012) Adult neurogenesis and brain regeneration in zebrafish. *Dev Neurobiol* 72:429–461.
- Klaus F, Hauser T, Lindholm AK, Cameron HA, Slomianka L, Lipp HP, & Amrein I (2012) Different regulation of adult hippocampal neurogenesis in Western house mice (*Mus musculus domesticus*) and C57BL/6 mice. *Behav Brain Res* 227:340–347.
- Klempin F, Babu H, De Pietri Tonelli D, Alarcon E, Fabel K, & Kempermann G (2010) Oppositional effects of serotonin receptors 5-HT<sub>1a</sub>, 2, and 2c in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Front Mol Neurosci* 3:1–11.
- Knapska E, & Kaczmarek L (2004) A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK? *Prog Neurobiol* 74:183–211.
- Knowlton BJ, & Squire LR (1993) The learning of categories: parallel brain systems for item memory and category knowledge. *Science* (80- ) 262:1747–1749.
- Ko H-G, Jang D-J, Son J, Kwak C, Choi J-H, Ji Y-H, Lee Y-S, Son H, & Kaang B-K (2009) Effect of ablated hippocampal neurogenesis on the formation and extinction of contextual fear memory. *Mol Brain* 2:1.
- Konorski J (1948) Conditioned reflexes and neuron organization.
- Koo JW, Park CH, Choi SH, Kim NJ, Kim HS, Choe JC, & Suh YH (2003) The postnatal environment can counteract prenatal effects on cognitive ability, cell proliferation, and synaptic protein expression. *FASEB J* 17:1556–1558.

- Kornack DR, & Rakic P (1999) Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci* 96:5768–5773.
- Kornack DR, & Rakic P (2001) The generation, migration, and differentiation of olfactory neurons in the adult primate brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:4752–4757.
- Kowalczyk A, Filipkowski RK, Rylski M, Wilczynski GM, Konopacki F a., Jaworski J, Ciemerych M a., Sicinski P, & Kaczmarek L (2004) The critical role of cyclin D2 in adult neurogenesis. *J Cell Biol* 167:209–213.
- Kozorovitskiy Y, & Gould E (2004) Dominance hierarchy influences adult neurogenesis in the dentate gyrus. *J Neurosci* 24:6755–6759.
- Krawczyk DC (2002) Contributions of the prefrontal cortex to the neural basis of human decision making.
- Kronenberg G, Bick-Sander A, Bunk E, Wolf C, Ehninger D, & Kempermann G (2006) Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. *Neurobiol Aging* 27:1505–1513.
- Kronenberg G, Reuter K, Steiner B, Brandt MD, Jessberger S, Yamaguchi M, & Kempermann G (2003) Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J Comp Neurol* 467:455–463.
- Kruse AA, Stripling R, & Clayton DF (2004) Context-specific habituation of the zenk gene response to song in adult zebra finches. *Neurobiol Learn Mem* 82:99–108.
- Kuhn HG, Biebl M, Wilhelm D, Li M, Friedlander RM, & Winkler J (2005) Increased generation of granule cells in adult Bcl-2-overexpressing mice: a role for cell death during continued hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 22:1907–1915.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson H, & Gage FH (1996) Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Rat : Age-related Decrease of Neuronal Progenitor Proliferation. *J Neurosci* 16:2027–2033.
- Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, Thal LJ, & Gage FH (1997) Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J Neurosci* 17:5820–5829.
- Kulkarni VA, Jha S, & Vaidya VA (2002) Depletion of norepinephrine decreases the proliferation, but does not influence the survival and differentiation, of granule cell progenitors in the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 16:2008–2012.
- Kullmann DM (2003) Silent synapses: what are they telling us about long-term potentiation? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:727–733.
- Kumamoto N, Gu Y, Wang J, Janoschka S, Takemaru K-I, Levine J, & Ge S (2012) A role for primary cilia in glutamatergic synaptic integration of adult-born neurons. *Nat Neurosci* 15:399–405.
- Kumbrink J, Gerlinger M, & Johnson JP (2005) Egr-1 induces the expression of its corepressor Nab2 by activation of the Nab2 promoter thereby establishing a negative feedback loop. *J Biol Chem* 280:42785–42793.
- Kuo LJ, & Yang L-X (2008) Gamma-H2AX - A novel biomarker for DNA double-strand breaks. *In Vivo (Brooklyn)* 22:305–309.

- Kuwabara T, Hsieh J, Muotri A, Yeo G, Warashina M, Lie DC, Moore L, Nakashima K, Asashima M, & Gage FH (2009) Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. *Nat Neurosci* 12:1097–1105.
- Kvajo M, McKellar H, Arguello PA, Drew LJ, Moore H, MacDermott AB, Karayiorgou M, & Gogos JA (2008) A mutation in mouse *Disc1* that models a schizophrenia risk allele leads to specific alterations in neuronal architecture and cognition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:7076–7081.
- Kwapis JL, Jarome TJ, Lee JL, & Helmstetter FJ (2015) The retrosplenial cortex is involved in the formation of memory for context and trace fear conditioning. *Neurobiol Learn Mem* 123:110–116.
- Lagace DC, Benavides DR, Kansy JW, Mapelli M, Greengard P, Bibb JA, & Eisch AJ (2008) Cdk5 is essential for adult hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:18567–18571.
- Lagace DC, Fischer SJ, & Eisch AJ (2007a) Gender and endogenous levels of Estradiol do not influence adult hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 17:175–180.
- Lagace DC, Whitman MC, Noonan MA, Ables JL, DeCarolus NA, Arguello A a, Donovan MH, Fischer SJ, Farnbauch LA, Beech RD, DiLeone RJ, Greer CA, Mandyam CD, & Eisch AJ (2007b) Dynamic contribution of nestin-expressing stem cells to adult neurogenesis. *J Neurosci* 27:12623–12629.
- Lai K, Kaspar BK, Gage FH, & Schaffer D V (2003) Sonic hedgehog regulates adult neural progenitor proliferation in vitro and in vivo. *Nat Neurosci* 6:21–27.
- Lamprecht R, & Dudai Y (1995) Differential modulation of brain immediate early genes by intraperitoneal LiCl. *Neuroreport* 7:289–293.
- Landfield PW, Waymire JC, & Lynch G (1978) Hippocampal aging and adrenocorticoids: quantitative correlations. *Science* (80- ) 202:1098–1102.
- Laplagne DA, Espósito MS, Piatti VC, Morgenstern NA, Zhao C, van Praag H, Gage FH, & Schinder AF (2006) Functional convergence of neurons generated in the developing and adult hippocampus. *PLoS Biol* 4:e409.
- Laroche S (2010) Mécanismes cellulaires et moléculaires de la mémoire. *Biol Aujourd'hui* 204:93–102.
- Laroche S, Doyere V, & Bloch V (1989) Linear relation between the magnitude of long-term potentiation in the dentate gyrus and associative learning in the rat. A demonstration using commissural inhibition and local infusion of an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Neuroscience* 28:375–386.
- Laroche S, Errington ML, Lynch MA, & Bliss TVP (1987) Increase in [3H]glutamate release from slices of dentate gyrus and hippocampus following classical conditioning in the rat. *Behav Brain Res* 25:23–29.
- Lau BWM, Yau S-Y, Lee TMC, Ching Y-P, Tang S-W, & So K-F (2009) Intracerebroventricular infusion of cytosine-arabioside causes prepulse inhibition disruption. *Neuroreport* 20:371–377.
- Lau LF, & Nathans D (1987) Expression of a set of growth-related immediate early genes in BALB/c 3T3 cells : Coordinate regulation with c-fos or c-myc. *Proc Natl Acad Sci* 84:1182–1186.

- Laudien JH, Wencker S, Ferstl R, & Pause BM (2008) Context effects on odor processing: An event-related potential study. *Neuroimage* 41:1426–1436.
- Lavado A, Lagutin O V, Chow LML, Baker SJ, & Oliver G (2010) Prox1 is required for granule cell maturation and intermediate progenitor maintenance during brain neurogenesis. *PLoS Biol* 8:e1000460.
- Lavenex P, Steele MA, & Jacobs LF (2000) The seasonal pattern of cell proliferation and neuron number in the dentate gyrus of wild adult eastern grey squirrels. *Eur J Neurosci* 12:643–648.
- Lazarini F, Mouthon M a., Gheusi G, de Chaumont F, Olivo-Marin JC, Lamarque S, Abrous DN, Boussin FD, & Lledo PM (2009) Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS One* 4:1–11.
- Leasure JL, & Decker L (2009) Social isolation prevents exercise-induced proliferation of hippocampal progenitor cells in female rats. *Hippocampus* 19:907–912.
- Lee CH, Yoo DY, Park OK, Park JH, Yi SS, Yoon YS, Won MH, & Hwang IK (2011) Effects of adrenalectomy and replacement therapy of corticosterone on cell proliferation and neuroblast differentiation in the rat dentate gyrus. *Neurochem Res* 36:1767–1775.
- Lee H, Kang E, GoodSmith D, Yoon DY, Song H, Knierim JJ, Ming G, & Christian KM (2015) DISC1-mediated dysregulation of adult hippocampal neurogenesis in rats. *Front Syst Neurosci* 9:1–8.
- Lee I, & Kesner RP (2004) Encoding versus retrieval of spatial memory: Double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14:66–76.
- Lee J, Duan W, & Mattson MP (2002) Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem* 82:1367–1375.
- Lee JLC (2009) Reconsolidation: maintaining memory relevance. *Trends Neurosci* 32:413–420.
- Lee JLC, Di Ciano P, Thomas KL, & Everitt BJ (2005) Disrupting reconsolidation of drug memories reduces cocaine-seeking behavior. *Neuron* 47:795–801.
- Lee JLC, Everitt BJ, & Thomas KL (2004) Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* (80- ) 304:839–843.
- Lee SL, Sadovsky Y, Swirnoff AH, Polish JA, Goda P, Gavrilina G, & Milbrandt J (1996) Luteinizing hormone deficiency and female infertility in mice lacking the transcription factor NGFI-A (Egr-1). *Science* (80- ) 273:1219–1221.
- Lee SW, Clemenson GD, & Gage FH (2012) New neurons in an aged brain. *Behav Brain Res* 227:497–507.
- Lemaire P, Vesque C, Schmitt J, Stunnenberg H, Frank R, & Charnay P (1990) The Serum-Inducible Mouse Gene Krox-24 Encodes Specific Transcriptional Activator Sequence-. *Mol Cell Biol* 10:3456–3467.
- Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, & Abrous DN (2000) Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:11032–11037.

- Lemaire V, Tronel S, Montaron M-F, Fabre A, Dugast E, & Abrous DN (2012) Long-Lasting Plasticity of Hippocampal Adult-Born Neurons. *J Neurosci* 32:3101–3108.
- Lepousez G, Valley MT, & Lledo P-M (2013) The impact of adult neurogenesis on olfactory bulb circuits and computations. *Annu Rev Physiol* 75:339–363.
- Leuner B, Falduto J, & Shors TJ (2003) Associative memory formation increases the observation of dendritic spines in the hippocampus. *J Neurosci* 23:659–665.
- Leuner B, Gould E, & Shors TJ (2006a) Is there a link between adult neurogenesis and learning? *Hippocampus* 16:216–224.
- Leuner B, Kozorovitskiy Y, Gross CG, & Gould E (2007) Diminished adult neurogenesis in the marmoset brain precedes old age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:17169–17173.
- Leuner B, Mendolia-Loffredo S, Kozorovitskiy Y, Samburg D, Gould E, & Shors TJ (2004) Learning enhances the survival of new neurons beyond the time when the hippocampus is required for memory. *J Neurosci* 24:7477–7481.
- Leuner B, Waddell J, Gould E, & Shors TJ (2006b) Temporal discontiguity is neither necessary nor sufficient for learning-induced effects on adult neurogenesis. *J Neurosci* 26:13437–13442.
- Leutgeb JK, Leutgeb S, Moser M-B, & Moser EI (2007) Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus. *Science* (80- ) 315:961–966.
- Li L, Carter J, Gao X, Whitehead J, & Tourtellotte WG (2005) The neuroplasticity-associated arc gene is a direct transcriptional target of early growth response (Egr) transcription factors. *Mol Cell Biol* 25:10286–10300.
- Li Q-Q, Qiao G-Q, Ma J, Fan H-W, & Li Y-B (2015) Cortical neurogenesis in adult rats after ischemic brain injury: most new neurons fail to mature. *Neural Regen Res* 10:277–285.
- Li X, Barkho BZ, Luo Y, Smrt RD, Santistevan NJ, Liu C, Kuwabara T, Gage FH, & Zhao X (2008) Epigenetic regulation of the stem cell mitogen Fgf-2 by Mbd1 in adult neural stem/progenitor cells. *J Biol Chem* 283:27644–27652.
- Libkuman TM, Stabler CL, & Otani H (2004) Arousal, valence, and memory for detail. *Memory* 12:237–247.
- Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Bennett SA, Lynch CD, Sonntag WE, & Riddle DR (2001) Intracerebroventricular infusion of insulin-like growth factor-I ameliorates the age-related decline in hippocampal neurogenesis. *Neuroscience* 107:603–613.
- Lie D-C, Colamarino SA, Song H-J, Désiré L, Mira H, Consiglio A, Lein ES, Jessberger S, Lansford H, Dearie AR, & Gage FH (2005) Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature* 437:1370–1375.
- Lieberwirth C, & Wang Z (2012) The Social Environment and Neurogenesis in the Adult Mammalian Brain. *Front Hum Neurosci* 6:1–19.
- Limoli CL, Giedzinski E, Rola R, Otsuka S, Palmer TD, & Fike JR (2004) Radiation response of neural precursor cells: linking cellular sensitivity to cell cycle checkpoints, apoptosis and oxidative stress. *Radiat Res* 161:17–27.
- Lindecke A, Korte M, Zagrebelsky M, Horejschi V, Elvers M, Widera D, Prüllage M, Pfeiffer J, Kaltschmidt B, & Kaltschmidt C (2006) Long-term depression activates transcription of

- immediate early transcription factor genes: involvement of serum response factor/Elk-1. *Eur J Neurosci* 24:555–563.
- Lisman J (2003) Long-term potentiation: outstanding questions and attempted synthesis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:829–842.
- Lisman J, Schulman H, & Cline H (2002) The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 3:175–190.
- Liu C, Teng Z-Q, Santistevan NJ, Szulwach KE, Guo W, Jin P, & Zhao X (2010) Epigenetic regulation of miR-184 by MBD1 governs neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell Stem Cell* 6:433–444.
- Liu HK, Belz T, Bock D, Takacs A, Wu H, Lichter P, Chai M, & Schütz G (2008) The nuclear receptor tailless is required for neurogenesis in the adult subventricular zone. *Genes Dev* 22:2473–2478.
- Liu L, Wong TP, Pozza MF, Lingenhoehl K, Wang Y, Sheng M, Auberson YP, & Wang YT (2004) Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science* (80- ) 304:1021–1024.
- Liu S, Wang J, Zhu D, Fu Y, Lukowiak K, & Lu YM (2003) Generation of functional inhibitory neurons in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 23:732–736.
- Liu X, Tilwalli S, Ye G, Lio PA, Pasternak JF, & Trommer BL (2000) Morphologic and electrophysiologic maturation in developing dentate gyrus granule cells. *Brain Res* 856:202–212.
- Lledo P-M, Alonso M, & Grubb MS (2006) Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci* 7:179–193.
- Llorens-martín M, Jurado-arjona J, Avila J, & Hernández F (2015) Novel connection between newborn granule neurons and the hippocampal CA2 field. *Exp Neurol* 263:285–292.
- Llorens-Martín M, Tejeda GS, & Trejo JL (2010) Differential regulation of the variations induced by environmental richness in adult neurogenesis as a function of time: a dual birthdating analysis. *PLoS One* 5:e12188.
- Logue SF, Paylor R, & Wehner JM (1997) Hippocampal lesions cause learning deficits in inbred mice in the Morris water maze and conditioned-fear task. *Behav Neurosci* 111:104–113.
- Lois C, & Alvarez-buylla A (1994) Long-Distance Neuronal Migration in the Adult Mammalian Brain. *Science* (80- ) 264:1145–1148.
- Lonergan ME, Gafford GM, Jarome TJ, & Helmstetter FJ (2010) Time-dependent expression of Arc and zif268 after acquisition of fear conditioning. *Neural Plast* 2010.
- Lopez-Fernandez MA, Montaron M-F, Varea E, Rougon G, Venero C, Abrous DN, & Sandi C (2007) Upregulation of polysialylated neural cell adhesion molecule in the dorsal hippocampus after contextual fear conditioning is involved in long-term memory formation. *J Neurosci* 27:4552–4561.
- Lorente De Nó R (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J für Psychol und Neurol* 46:113–177.
- Lourdes M, Natividad R, Maria PJ, & M BHWG (1992) Administration of quinolinic acid in the rat hippocampus induces expression of c-fos and NGF1-A. *Mol Brain Res* 16:88–96.

- Lowe A, Dalton M, Sidhu K, Sachdev P, Reynolds B, & Valenzuela M (2015) Neurogenesis and precursor cell differences in the dorsal and ventral adult canine hippocampus. *Neurosci Lett*.
- Lu L, Bao G, Chen H, Xia P, Fan X, Zhang J, Pei G, & Ma L (2003) Modification of hippocampal neurogenesis and neuroplasticity by social environments. *Exp Neurol* 183:600–609.
- Lubin FD, Roth TL, & Sweatt JD (2008) Epigenetic regulation of BDNF gene transcription in the consolidation of fear memory. *J Neurosci* 28:10576–10586.
- Lubin FD, & Sweatt JD (2007) The I $\kappa$ B kinase regulates chromatin structure during reconsolidation of conditioned fear memories. *Neuron* 55:942–957.
- Lucassen PJ, Meerlo P, Naylor AS, Dam AM Van, Dayer AG, Fuchs E, Oomen CA, & Czeh B (2010) Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action. *Eur Neuropsychopharmacol* 20:1–17.
- Ludwig A, Uvarov P, Soni S, Thomas-Crusells J, Airaksinen MS, & Rivera C (2011) Early growth response 4 mediates BDNF induction of potassium chloride cotransporter 2 transcription. *J Neurosci* 31:644–649.
- Lupien S, Lecours AR, Lussier I, Schwartz G, Nair NP V, & Meaney MJ (1994) Basal cortisol levels and cognitive deficits in human aging. *J Neurosci* 14:2893–2903.
- Luu P, Becker S, Wojtowicz JM, & Smith DM (2012) The Role of Adult Hippocampal Neurogenesis in Reducing Interference. *Behav Neurosci* 126:381–391.
- Lynch GS, Dunwiddie T, & Gribkoff V (1977) Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* 266:737–739.
- Lynch MA (2004) Long-Term Potentiation and Memory. *Physiol Rev* 84:87–136.
- Ma DK, Jang MH, Guo JU, Kitabatake Y, Chang M, Pow-Anpongkul N, Flavell RA, Lu B, Ming G, & Song H (2009a) Neuronal Activity-Induced Gadd45b Promotes Epigenetic DNA Demethylation and Adult Neurogenesis. *Science* (80- ) 323:1074.
- Ma DK, Kim W, Ming G, & Song H (2009b) Activity-dependent extrinsic regulation of adult olfactory bulb and hippocampal neurogenesis. *Annu New York Acad Sci J* 1170:664–673.
- Ma DK, Marchetto MC, Guo JU, Ming G, Gage FH, & Song H (2010) Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Nat Neurosci* 13:1338–1344.
- Ma DK, Ming G-L, & Song H (2005) Glial influences on neural stem cell development: cellular niches for adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 15:514–520.
- Ma X, Hamadeh MJ, Christie BR, Foster JA, & Tarnopolsky MA (2012) Impact of Treadmill Running and Sex on Hippocampal Neurogenesis in the Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS One* 7:e36048.
- Machold R, Hayashi S, Rutlin M, Muzumdar MD, Nery S, Corbin JG, Gritti-Linde A, Dellovade T, Porter JA, Rubin LL, Dudek H, McMahon AP, & Fishell G (2003) Sonic hedgehog is required for progenitor cell maintenance in telencephalic stem cell niches. *Neuron* 39:937–950.
- Mack KJ, & Mack PA (1992) Induction of transcription factors in somatosensory cortex after tactile stimulation. *Mol Brain Res* 12:141–147.

- Mackler SA, Brooks BP, & Eberwine JH (1992) Stimulus-induced coordinate changes in mRNA abundance in single postsynaptic hippocampal CA1 neurons. *Neuron* 9:539–548.
- Maddox SA, Monsey MS, & Schafe GE (2011) Early growth response gene 1 (Egr-1) is required for new and reactivated fear memories in the lateral amygdala. *Learn Mem* 18:24–38.
- Madroñal N, López-Aracil C, Rangel A, del Río J a, Delgado-García JM, & Gruart A (2010) Effects of enriched physical and social environments on motor performance, associative learning, and hippocampal neurogenesis in mice. *PLoS One* 5:e11130.
- Madsen T, Kristjansen P, Bolwig T, & Wortwein G (2003) Arrested neuronal proliferation and impaired hippocampal function following fractionated brain irradiation in the adult rat. *Neuroscience* 119:635–642.
- Maekawa M, Takashima N, Arai Y, Nomura T, Inokuchi K, Yuasi S, & Osumi N (2005) Pax6 is required for production and maintenance of progenitor cells in postnatal hippocampal neurogenesis. *Genes to Cells* 10:1001–1014.
- Magavi SS, Leavitt BR, & Macklis JD (2000) Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature* 405:951–955.
- Maguire EA, & Frith CD (2003) Lateral asymmetry in the hippocampal response to the remoteness of autobiographical memories. *J Neurosci* 23:5302–5307.
- Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS, Good CD, Ashburner J, Frackowiak RSJ, & Frith CD (2000) Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:4398–4403.
- Maguire EA, Spiers HJ, Good CD, Hartley T, Frackowiak RSJ, & Burgess N (2003) Navigation expertise and the human hippocampus: A structural brain imaging analysis. *Hippocampus* 13:250–259.
- Mailleux P, Zhang F, & Vanderhaeghen J-J (1992) The dopamine D1 receptor antagonist SCH-23390 decreases the mRNA levels of the transcription factor zif268 (krox-24) in adult rat intact striatum -an in situ hybridization study. *Neurosci Lett* 147:182–184.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, & Duman RS (2000) Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 20:9104–9110.
- Maletic-Savatic M, Malinow, & Svoboda K (1999) Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity. *Science* (80- ) 283:1923–1927.
- Malinow R (2003) AMPA receptor trafficking and long-term potentiation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:707–714.
- Malinow R, Mainen ZF, & Hayashi Y (2000) LTP mechanisms: From silence to four-lane traffic. *Curr Opin Neurobiol* 10:352–357.
- Malkani S, & Rosen JB (2000) Specific induction of early growth response gene 1 in the lateral nucleus of the amygdala following contextual fear conditioning in rats. *Neuroscience* 97:693–702.
- Malkani S, Wallace KJ, Donley MP, & Rosen JB (2004) An egr-1 (zif268) antisense oligodeoxynucleotide infused into the amygdala disrupts fear conditioning. *Learn Mem* 11:617–624.

- Malleret G, Haditsch U, Genoux D, Jones MW, Bliss TVP, Vanhoose AM, Weitlauf C, Kandel ER, Winder DG, & Mansuy IM (2001) Inducible and reversible enhancement of learning, memory, and long-term potentiation by genetic inhibition of calcineurin. *Cell* 104:675–686.
- Mandaïron N, Didier A, & Linster C (2008) Odor enrichment increases interneurons responsiveness in spatially defined regions of the olfactory bulb correlated with perception. *Neurobiol Learn Mem* 90:178–184.
- Mandaïron N, & Linster C (2009) Odor perception and olfactory bulb plasticity in adult mammals. *J Neurophysiol* 101:2204–2209.
- Mansuy IM, Winder DG, Moallem TM, Osman M, Mayford M, Hawkins RD, & Kandel ER (1998) Inducible and reversible gene expression with the rtTA system for the study of memory. *Neuron* 21:257–265.
- Mao J Bin, & Robinson JK (1998) Microinjection of GABA-A agonist muscimol into the dorsal but not the ventral hippocampus impairs non-mnemonic measures of delayed non-matching- to- position performance in rats. *Brain Res* 784:139–147.
- Maren S, Aharonov G, & Fanselow MS (1997) Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav Brain Res* 88:261–274.
- Marín-Burgin A, & Schinder AF (2012) Requirement of adult-born neurons for hippocampus-dependent learning. *Behav Brain Res* 227:391–399.
- Markakis EA, & Gage FH (1999) Adult-Generated Neurons in the Dentate Gyrus Send Axonal Projections to Field CA 3 and Are Surrounded by Synaptic Vesicles. *J Comp Neurol* 460:449–460.
- Markowitsch HJ, Thiel A, Reinkemeier M, Kessler J, Koyuncu A, & Heiss W-D (2000) Right amygdalar and temporofrontal activation during autobiographic, but not during fictitious memory retrieval. *Behav Neurol* 12:181–190.
- Maroteaux M, Valjent E, Longueville S, Topilko P, Girault J-A, & Hervé D (2014) Role of the plasticity-associated transcription factor zif268 in the early phase of instrumental learning. *PLoS One* 9.
- Marr D (1970) A theory for cerebral neocortex. *Proc R Soc London Ser B, Biol Sci* 176:161–234.
- Marr D (1971) Simple memory: A theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 262:23–81.
- Martin SJ, De Hoz L, & Morris RGM (2005) Retrograde amnesia: Neither partial nor complete hippocampal lesions in rats result in preferential sparing of remote spatial memory, even after reminding. *Neuropsychologia* 43:609–624.
- Martinez-Canabal A, Akers KG, Josselyn SA, & Frankland PW (2012) Age-dependent effects of hippocampal neurogenesis suppression on spatial learning. *Hippocampus* 23:66–74.
- Martin-Ordas G, Haun D, Colmenares F, & Call J (2010) Keeping track of time: Evidence for episodic-like memory in great apes. *Anim Cogn* 13:331–340.
- Maruki K, Izaki Y, Hori K, Nomura M, & Yamauchi T (2001) Effects of rat ventral and dorsal hippocampus temporal inactivation on delayed alternation task. *Brain Res* 895:273–276.

- Masaoka Y, Sugiyama H, Katayama A, Kashiwagi M, & Homma I (2012) Slow breathing and emotions associated with odor-induced autobiographical memories. *Chem Senses* 37:379–388.
- Matsumoto I, Leah J, Shanley B, & Wilce PA (1993) Immediate early gene expression in the rat brain during ethanol withdrawal. *Mol Cell Neurosci* 4:485–491.
- Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, & Bontempi B (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science* (80- ) 305:96–99.
- Mayford M, Bach ME, Huang Y-Y, Wang L, Hawkins RD, & Kandel ER (1996) Control of memory formation through regulated expression of a CaMKII transgene. *Science* 274:1678–1683.
- McClelland JL, McNaughton BL, & O'Reilly RC (1995) Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 102:419–457.
- McClure RES, Barha CK, & Galea LAM (2013) 17 $\beta$ -Estradiol, but not estrone, increases the survival and activation of new neurons in the hippocampus in response to spatial memory in adult female rats. *Horm Behav* 63:144–157.
- McDonald HY, & Wojtowicz JM (2005) Dynamics of neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats. *Neurosci Lett* 385:70–75.
- Mcgaugh JL (1966) Time-dependent processes in memory storage. *Science* (80- ) 153:1351–1358.
- McGaugh JL, & Roozendaal B (2002) Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr Opin Neurobiol* 12:205–210.
- Mchugh SB, Deacon RMJ, Rawlins JNP, & Bannerman DM (2004) Amygdala and ventral hippocampus contribute differentially to mechanisms of fear and anxiety. *Behav Neurosci* 118:63–78.
- McHugh TJ, Jones MW, Quinn JJ, Balthasar N, Coppari R, Elmquist JK, Lowell BB, Fanselow MS, Wilson M a, & Tonegawa S (2007) Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network. *Science* (80- ) 317:94–99.
- McKenzie S, & Eichenbaum H (2011) Consolidation and Reconsolidation: Two Lives of Memories? *Neuron* 71:224–233.
- McLamb RL, Mundy WR, & Tilson HA (1988) Intradentate colchicine disrupts the acquisition and performance of a working memory task in the radial arm maze. *Neurotoxicology* 9:521–528.
- McNaughton BL, Barnes C a., & O'Keefe J (1984) The contributions of position, direction, and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely-moving rats. *Exp Brain Res* 54:195.
- McNaughton BL, Barnes CA, Meltzer J, & Sutherland RJ (1989) Hippocampal granule cells are necessary for normal spatial learning but not for spatially-selective pyramidal cell discharge. *Exp brain Res* 76:485–496.
- Mello C V, Vicario DS, & Claytont DF (1992) Song presentation induces gene expression in the songbird forebrain. *Proc Natl Acad Sci* 89:6818–6822.
- Meshi D, Drew MR, Saxe M, Ansorge MS, David D, Santarelli L, Malapani C, Moore H, & Hen R (2006) Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat Neurosci* 9:729–731.

- Migaud M, Batailler M, Segura S, Duittoz A, Franceschini I, & Pilon D (2010) Emerging new sites for adult neurogenesis in the mammalian brain: A comparative study between the hypothalamus and the classical neurogenic zones. *Eur J Neurosci* 32:2042–2052.
- Milbrandt J (1987) A Nerve Growth Factor-Induced Gene Encodes a Possible Transcriptional Regulatory Factor. *Science* (80- ) 238:797–799.
- Miller AMP, Vedder LC, Law LM, & Smith DM (2014) Cues, context, and long-term memory: the role of the retrosplenial cortex in spatial cognition. *Front Hum Neurosci* 8:1–15.
- Miller MW, & Nowakowski RS (1988) Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res* 457:44–52.
- Miller R (1996) Neural assemblies and laminar interactions in the cerebral cortex. *Biol Cybern* 75:253–261.
- Milner B (1972) Disorders of learning and memory after temporal lobe lesions in man. *Clin Neurosurg* 19:421–446.
- Ming G, & Song H (2005) Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 28:223–250.
- Ming G-L, & Song H (2011) Adult neurogenesis in the Mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70:687–702.
- Mirescu C, & Gould E (2006) Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus* 16:233–238.
- Mishkin M (1978) Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature* 273:297–298.
- Mizumatsu S, Monje ML, Morhardt DR, Rola R, Palmer TD, & Fike JR (2003) Extreme Sensitivity of Adult Neurogenesis to Low Doses of Extreme Sensitivity of Adult Neurogenesis to Low Doses of X-Irradiation. *Cancer Res* 63:4021–4027.
- Mohammed AK, Winblad B, Ebendal T, & Lärkfors L (1990) Environmental influence on behaviour and nerve growth factor in the brain. *Brain Res* 528:62–72.
- Mohapel P, Leanza G, Kokaia M, & Lindvall O (2005) Forebrain acetylcholine regulates adult hippocampal neurogenesis and learning. *Neurobiol Aging* 26:939–946.
- Mohapel P, Mundt-Petersen K, Brundin P, & Frielingsdorf H (2006) Working memory training decreases hippocampal neurogenesis. *Neuroscience* 142:609–613.
- Mongiat L a, Espósito MS, Lombardi G, & Schinder AF (2009) Reliable activation of immature neurons in the adult hippocampus. *PLoS One* 4:e5320.
- Mongiat LA, & Schinder AF (2011) Adult neurogenesis and the plasticity of the dentate gyrus network. *Eur J Neurosci* 33:1055–1061.
- Monje ML, Toda H, & Palmer TD (2003) Inflammatory blockage restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* (80- ) 302:1760–1765.
- Montaron M-F, Drapeau E, Dupret D, Kitchener P, Aurousseau C, Le Moal M, Piazza P-V, & Abrous DN (2006) Lifelong corticosterone level determines age-related decline in neurogenesis and memory. *Neurobiol Aging* 27:645–654.

- Monteiro BMM, Moreira FA, Massensini AR, Moraes MFD, & Pereira GS (2014) Enriched environment increases neurogenesis and improves social memory persistence in socially isolated adult mice. *Hippocampus* 24:239–248.
- Montero-Pedrazuela A, Venero C, Lavado-Autric R, Fernández-Lamo I, García-Verdugo JM, Bernal J, & Guadaño-Ferraz A (2006) Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Mol Psychiatry* 11:361–371.
- Montkowski A, Poettig M, Mederer A, & Holsboer F (1997) Behavioural performance in three substrains of mouse strain 129. *Brain Res* 762:12–18.
- Moody SL, Wise SP, di Pellegrino G, & Zipser D (1998) A model that accounts for activity in primate frontal cortex during a delayed matching-to-sample task. *J Neurosci* 18:399–410.
- Moreno MM, Linster C, Escanilla O, Sacquet J, Didier A, & Mandairon N (2009) Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:17980–17985.
- Morris AM, Churchwell JC, Kesner RP, & Gilbert PE (2012) Selective lesions of the dentate gyrus produce disruptions in place learning for adjacent spatial locations. *Neurobiol Learn Mem* 97:326–331.
- Morris AM, Curtis BJ, Churchwell JC, Maasberg DW, & Kesner RP (2013a) Temporal associations for spatial events: The role of the dentate gyrus. *Behav Brain Res* 256:250–256.
- Morris AM, Weeden CS, Churchwell JC, & Kesner RP (2013b) The role of the dentate gyrus in the formation of contextual representations. *Hippocampus* 23:162–168.
- Morris RGM (2013) NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology* 74:32–40.
- Morris RGM, & Frey U (1997) Hippocampal synaptic plasticity: role in spatial learning or the automatic recording of attended experience? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 352:1489–1503.
- Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP, & O'Keefe J (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297.
- Morris RGM, Schenk F, Tweedie F, & Jarrard LE (1990) Ibotenate lesions of hippocampus and/or subiculum: Dissociating components of allocentric spatial learning. *Eur J Neurosci* 2:1016–1028.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, & Rosenbaum RS (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:179–190.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, 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. *J Anat* 207:35–66.
- Moser E, Moser M-B, & Andersen P (1993) Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci* 13:3916–3925.
- Moser M, 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. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:12673–12675.

- Moser M-B, & Moser EI (1998) Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* 8:608–619.
- Moser M-B, Moser EI, Forrest E, Andersen P, & Morris RGM (1995) Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 92:9697–9701.
- Moser M-B, Rowland DC, & Moser EI (2015) Place Cells, Grid Cells, and Memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol*:1–16.
- Mu Y, Lee SW, & Gage FH (2010) Signaling in adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 20:416–423.
- Mudò G, Bonomo A, Di Liberto V, Frinchi M, Fuxe K, & Belluardo N (2009) The FGF-2/FGFRs neurotrophic system promotes neurogenesis in the adult brain. *J Neural Transm* 116:995–1005.
- Muller RU, & Kubie JL (1987) The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J Neurosci* 7:1951–1968.
- Muller RU, Kubie JL, & Ranck JB (1987) Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. *J Neurosci* 7:1935–1950.
- Nacher J, Alonso-Llosa G, Rosell DR, & McEwen BS (2003) NMDA receptor antagonist treatment increases the production of new neurons in the aged rat hippocampus. *Neurobiol Aging* 24:273–284.
- Nacher J, Crespo C, & McEwen BS (2001a) Doublecortin expression in the adult rat telencephalon. *Eur J Neurosci* 14:629–644.
- Nacher J, & McEwen BS (2006) The role of N-methyl-D-aspartate receptors in neurogenesis. *Hippocampus* 16:267–270.
- Nacher J, Rosell DR, Alonso-Llosa G, & McEwen BS (2001b) NMDA receptor antagonist treatment induces a long-lasting increase in the number of proliferating cells, PSA-NCAM-immunoreactive granule neurons and radial glia in the adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 13:512–520.
- Nacher J, Varea E, Blasco-Ibañez JM, Castillo-Gomez E, Crespo C, Martinez-Guijarro FJ, & McEwen BS (2005) Expression of the transcription factor Pax6 in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci Res* 81:753–761.
- Nadel L, & Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia, and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7:217–227.
- Nadel L, Samsonovich A, Ryan L, & Moscovitch M (2000) Multiple trace theory of human memory: Computational, neuroimaging, and neuropsychological results. *Hippocampus* 10:352–368.
- Nader K (2003) Memory traces unbound. *Trends Neurosci* 26:65–72.
- Nader K, & Hardt O (2009) A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 10:224–234.
- Nader K, Schafe GE, & LeDoux JE (2000a) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722–726.
- Nader K, Schafe GE, & LeDoux JE (2000b) The labile nature of consolidation theory. *Nat Rev Neurosci* 1:216–219.

- Nagai R, Tsunoda S, Hori Y, & Asada H (2000) Selective vulnerability to radiation in the hippocampal dentate granule cells. *Surg Neurol* 53:503–506; discussion 506–507.
- Nakagawa S, Kim J-E, Lee R, Chen J, Fujioka T, Malberg J, Tsuji S, & Duman RS (2002) Localization of phosphorylated cAMP response element-binding protein in immature neurons of adult hippocampus. *J Neurosci* 22:9868–9876.
- Nakashiba T, Cushman JD, Pelkey K a, Renaudineau S, Buhl DL, McHugh TJ, Barrera VR, Chittajallu R, Iwamoto KS, McBain CJ, Fanselow MS, & Tonegawa S (2012) Young Dentate Granule Cells Mediate Pattern Separation, whereas Old Granule Cells Facilitate Pattern Completion. *Cell* 149:188–201.
- Namba T, Ming G, Song H, Waga C, Enomoto A, Kaibuchi K, Kohsaka S, & Uchino S (2011) NMDA receptor regulates migration of newly generated neurons in the adult hippocampus via Disrupted-In-Schizophrenia 1 (DISC1). *J Neurochem* 118:34–44.
- Nanry KP, Mundy WR, & Tilson HA (1989) Colchicine-induced alterations of reference memory in rats: role of spatial versus non-spatial task components. *Behav Brain Res* 35:45–53.
- Naqshbandi M, Feeney MC, McKenzie TLB, & Roberts W a (2007) Testing for episodic-like memory in rats in the absence of time of day cues: replication of Babb and Crystal. *Behav Processes* 74:217–225.
- Nelson AJD, Hindley EL, Haddon JE, Vann SD, & Aggleton JP (2014) A novel role for the rat retrosplenial cortex in cognitive control. *Learn Mem* 21:90–97.
- Nguyen P V, Abel T, & Kandel ER (1994) Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science* (80- ) 265:1104–1107.
- Ngwenya A, Patzke N, Ihunwo AO, & Manger PR (2011) Organisation and chemical neuroanatomy of the African elephant (*Loxodonta africana*) olfactory bulb. *Brain Struct Funct* 216:403–416.
- Nikolaev E, Kaminska B, Tischmeyer W, Matthies H, & Kaczmarek L (1992) Induction of expression of genes encoding transcription factors in the rat brain elicited by behavioral training. *Brain Res Bull* 28:479–484.
- Nilsson M, Perfilieva E, Johansson U, Orwar O, & Eriksson PS (1999) Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. *J Neurobiol* 39:569–578.
- Nishijima T, Llorens-Martín M, Tejeda GS, Inoue K, Yamamura Y, Soya H, Trejo JL, & Torres-Alemán I (2013) Cessation of voluntary wheel running increases anxiety-like behavior and impairs adult hippocampal neurogenesis in mice. *Behav Brain Res* 245:34–41.
- Nixon K, & Crews FT (2002) Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurochem* 83:1087–1093.
- Nottebohm F (2002) Neuronal replacement in adult brain. *Brain Res Bull* 57:737–749.
- Nowak E, Etienne O, Millet P, Lages CS, Mathieu C, Mouthon M-A, & Boussin FD (2006) Radiation-induced H2AX phosphorylation and neural precursor apoptosis in the developing brain of mice. *Radiat Res* 165:155–164.
- Nowakowski RS, Lewin SB, & Miller MW (1989) Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and the DNA-synthetic phase for an anatomically defined population. *J Neurocytol* 318:311–318.

- O'Keefe J (1976) Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Exp Neurol* 51:78–109.
- O'Keefe J, & Conway DH (1978) Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Exp brain Res* 31:573–590.
- O'Keefe J, & Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34:171–175.
- O'Keefe J, & Nadel L (1978) The hippocampus as a cognitive map.
- O'Keefe J, & Speakman A (1987) Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Exp brain Res* 68:1–27.
- O'Reilly RC, & Rudy JW (2000) Computational principles of learning in the neocortex and hippocampus. *Hippocampus* 10:389–397.
- Okuno H, & Miyashita Y (1996) Expression of the Transcription Factor Zif268 in the Temporal Cortex of Monkeys during Visual Paired Associate Learning. *Eur J Neurosci* 8:2118–2128.
- Olariu A, Cleaver KM, & Cameron HA (2007) Decreased neurogenesis in aged rats results from loss of granule cell precursors without lengthening of the cell cycle. *J Comp Neurol* 501:589–667.
- Olariu A, Cleaver KM, Shore LE, Brewer MD, & Cameron HA (2005) A natural form of learning can increase and decrease the survival of new neurons in the dentate gyrus. *Hippocampus* 15:750–762.
- Olsson T, Mohammed AH, Donaldson LF, Henriksson BG, & Seckl JR (1994) Glucocorticoid receptor and NGFI-A gene expression are induced in the hippocampus after environmental enrichment in adult rats. *Mol Brain Res* 23:349–353.
- Olton DS, Collison C, & Werz MA (1977) Spatial memory and radial arm maze performance of rats. *Learn Motiv* 8:289–314.
- 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. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 2:97–116.
- Ormerod BK, & Galea LA M (2001) Reproductive status influences cell proliferation and cell survival in the dentate gyrus of adult female meadow voles: A possible regulatory role for estradiol. *Neuroscience* 102:369–379.
- Ormerod BK, Lee TTY, & Galea LA M (2003) Estradiol initially enhances but subsequently suppresses (via adrenal steroids) granule cell proliferation in the dentate gyrus of adult female rats. *J Neurobiol* 55:247–260.
- Ortega-Martínez S (2015) Influences of prenatal and postnatal stress on adult hippocampal neurogenesis: The double neurogenic niche hypothesis. *Behav Brain Res* 281:309–317.
- Osvath M (2009) Spontaneous planning for future stone throwing by a male chimpanzee. *Curr Biol* 19:190–191.
- Overstreet LS, Hentges ST, Bumashny VF, de Souza FSJ, Smart JL, Santangelo AM, Low MJ, Westbrook GL, & Rubinstein M (2004) A transgenic marker for newly born granule cells in dentate gyrus. *J Neurosci* 24:3251–3259.

- Overstreet-Wadiche LS, Bensen AL, & Westbrook GL (2006) Delayed development of adult-generated granule cells in dentate gyrus. *J Neurosci* 26:2326–2334.
- Overstreet-Wadiche LS, Bromberg DA, Bensen AL, & Westbrook GL (2005) GABAergic signaling to newborn neurons in dentate gyrus. *J Neurophysiol* 94:4528–4532.
- Overstreet-Wadiche LS, & Westbrook GL (2006) Functional maturation of adult-generated granule cells. *Hippocampus* 16:208–215.
- Owen E., Logue S., Rasmussen D., & J. M. Wehner (1997) Assessment of learning by the Morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F1 hybrids: implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. *Neuroscience* 80:1087–1099.
- Ozen I, Galichet C, Watts C, Parras C, Guillemot F, & Raineteau O (2007) Proliferating neuronal progenitors in the postnatal hippocampus transiently express the proneural gene Ngn2. *Eur J Neurosci* 25:2591–2603.
- Paban V, Jaffard M, Chambon C, Malafosse M, & Alescio-Lautier B (2005) Time course of behavioral changes following basal forebrain cholinergic damage in rats: Environmental enrichment as a therapeutic intervention. *Neuroscience* 132:13–32.
- Packard MG, & Cahill L (2001) Affective modulation of multiple memory systems. *Curr Opin Neurobiol* 11:752–756.
- Packer MA, Stasiv Y, Benraiss A, Chmielnicki E, Grinberg A, Westphal H, Goldman SA, & Enikolopov G (2003) Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:9566–9571.
- Pallotto M, & Deprez F (2014) Regulation of adult neurogenesis by GABAergic transmission: signaling beyond GABAA-receptors. *Front Cell Neurosci* 8:166.
- Palmer TD, Willhoite AR, & Gage FH (2000) Vascular Niche for Adult Hippocampal Neurogenesis. *J Comp Neurol* 494:479–494.
- Panagiotakos G, Alshamy G, Chan B, Abrams R, Greenberg E, Saxena A, Bradbury M, Edgar M, Gutin P, & Tabar V (2007) Long-term impact of radiation on the stem cell and oligodendrocyte precursors in the brain. *PLoS One* 2.
- Paré D (2003) Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Prog Neurobiol* 70:409–420.
- Parent JM (2007) Adult neurogenesis in the intact and epileptic dentate gyrus. *Prog Brain Res* 163:529–540.
- Parent JM, Tada E, Fike JR, & Lowenstein DH (1999) Inhibition of dentate granule cell neurogenesis with brain irradiation does not prevent seizure-induced mossy fiber synaptic reorganization in the rat. *J Neurosci* 19:4508–4519.
- Patel SN, Clayton NS, & Krebs JR (1997) Spatial learning induces neurogenesis in the avian brain. *Behav Brain Res* 89:115–128.
- Paton JA, & Nottebohm FN (1984) Neurons generated in the adult brain are recruited into functional circuits. *Science* (80-) 225:11–13.

- Patten AR, Sickmann H, Hryciw BN, Kucharsky T, Parton R, Kernick A, & Christie BR (2013) Long-term exercise is needed to enhance synaptic plasticity in the hippocampus. *Learn Mem* 20:642–647.
- Patzke N, Olaleye O, Haagensen M, Hof PR, Ihunwo AO, & Manger PR (2014) Organization and chemical neuroanatomy of the African elephant (*Loxodonta africana*) hippocampus. *Brain Struct Funct* 219:1587–1601.
- Pause BM, Zlomuzica A, Kinugawa K, Mariani J, Pietrowsky R, & Dere E (2013) Perspectives on episodic-like and episodic memory. *Front Behav Neurosci* 7:33.
- Peissner W, Kocher M, Treuer H, & Gillardon F (1999) Ionizing radiation-induced apoptosis of proliferating stem cells in the dentate gyrus of the adult rat hippocampus. *Mol brain Res* 71:61–68.
- Pencea V, Bingaman KD, Freedman LJ, & Luskin MB (2001) Neurogenesis in the subventricular zone and rostral migratory stream of the neonatal and adult primate forebrain. *Exp Neurol* 172:1–16.
- Penke Z, Morice E, Veyrac A, Gros A, Chagneau C, Samson N, Baumgärtel K, Mansuy IM, Davis S, Leblanc P, & Laroche S (2013) Zif268/Egr1 gain of function facilitates hippocampal synaptic plasticity and long-term spatial recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369.
- Peragine DE, Simpson JA, Mooney SJ, Lovern MB, & Holmes MM (2014) Social regulation of adult neurogenesis in a eusocial mammal. *Neuroscience* 268:10–20.
- Pérez-Cañellas M, Font E, & García-Verdugo JM (1997) Postnatal neurogenesis in the telencephalon of turtles: evidence for nonradial migration of new neurons from distant proliferative ventricular zones to the olfactory bulbs. *Dev Brain Res* 101:125–137.
- Pérez-Cañellas M, & García-Verdugo JM (1996) Adult neurogenesis in the telencephalon of a lizard: a thymidine autoradiographic and bromodeoxyuridine immunocytochemical study. *Dev brain Res* 93:49–61.
- Perez-Martin M, Azcoitia I, Trejo JL, Sierra A, & Garcia-Segura LM (2003) An antagonist of estrogen receptors blocks the induction of adult neurogenesis by insulin-like growth factor-I in the dentate gyrus of adult female rat. *Eur J Neurosci* 18:923–930.
- Pérez-Martín M, Cifuentes M, Grondona JM, J. Bermúdez-Silva F, Arrabal PM, Pérez-Fígares JM, Jiménez a. J, & García-Segura LM (2003) Neurogenesis in explants from the walls of the lateral ventricle of adult bovine brain: role of endogenous IGF-1 as a survival factor. *Eur J Neurosci* 17:205–211.
- Perfillieva E, Risedal A, Nyberg J, Johansson BB, & Eriksson PS (2001) Gender and strain influence on neurogenesis in dentate gyrus of young rats. *J Cereb blood flow Metab* 21:211–217.
- Petersohn D, & Schoch S (1995) The human synapsin II gene promoter. *J Biol Chem* 270:24361–24369.
- Petrik D, Lagace DC, & Eisch AJ (2012) The neurogenesis hypothesis of affective and anxiety disorders: Are we mistaking the scaffolding for the building? *Neuropharmacology* 62:21–34.
- Petrovich GD, Canteras NS, & Swanson LW (2001) Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. *Brain Res Rev* 38:247–289.

- Petrus DS, Fabel K, Kronenberg G, Winter C, Steiner B, & Kempermann G (2009) NMDA and benzodiazepine receptors have synergistic and antagonistic effects on precursor cells in adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 29:244–252.
- Pham K, Mcewen BS, LeDoux JE, & Nader K (2005) Fear learning transiently impairs hippocampal cell proliferation. *Neuroscience* 130:17–24.
- Piatti VC, Davies-Sala MG, Espósito MS, Mongiat LA, Trincherro MF, & Schinder AF (2011) The timing for neuronal maturation in the adult hippocampus is modulated by local network activity. *J Neurosci* 31:7715–7728.
- Piatti VC, Espósito MS, & Schinder AF (2006) The timing of neuronal development in adult hippocampal neurogenesis. *Neurosci* 12:463–468.
- 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. *Ann N Y Acad Sci* 911:369–391.
- Platel J-C, & Kelsch W (2013) Role of NMDA receptors in adult neurogenesis: an ontogenetic (re)view on activity-dependent development. *Cell Mol life Sci* 70:3591–3601.
- Poirier GL, Amin E, & Aggleton JP (2008a) Qualitatively different hippocampal subfield engagement emerges with mastery of a spatial memory task by rats. *J Neurosci* 28:1034–1045.
- Poirier R, Cheval H, Mailhes C, Garel S, Charnay P, Davis S, & Laroche S (2008b) Distinct functions of egr gene family members in cognitive processes. *Front Neurosci* 2:47–55.
- Polston EK, & Erskine MS (1995) Patterns of induction of the immediate-early genes c-fos and egr-1 in the female rat brain following differential amounts of mating stimulation. *Neuroendocrinology* 62:370–384.
- Pontes A, Zhang Y, & Hu W (2013) Novel functions of GABA signaling in adult neurogenesis. *Front Biol (Beijing)* 8:1–19.
- Pothuizen HHJ, Zhang WN, Jongen-Rêlo AL, Feldon J, & Yee BK (2004) Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: A within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *Eur J Neurosci* 19:705–712.
- Poucet B, Thinus-Blanc C, & Muller RU (1994) Place cells in the ventral hippocampus of rats. *Neuroreport* 5:2045–2048.
- Quillfeldt JA, Zanatta MS, Schmitz PK, Quevedo J, Schaeffer E, Lima JB, Medina JH, & Izquierdo I (1996) Different brain areas are involved in memory expression at different times from training. *Neurobiol Learn Mem* 66:97–101.
- Raber J, Rola R, LeFevour A, Morhardt D, Curley J, Mizumatsu S, Vandenberg SR, & Fike JR (2004) Radiation-Induced Cognitive Impairments are Associated with Changes in Indicators of Hippocampal Neurogenesis. *Radiat Res* 162:39–47.
- Raby CR, Alexis DM, Dickinson A, & Clayton NS (2007) Planning for the future by western scrub-jays. *Nature* 445:919–921.
- Radley JJ, & Jacobs BL (2002) 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. *Brain Res* 955:264–267.

- Rai KS, Hattiangady B, & Shetty AK (2007) Enhanced production and dendritic growth of new dentate granule cells in the middle-aged hippocampus following intracerebroventricular FGF-2 infusions. *Eur J Neurosci* 26:1765–1779.
- Rakic P (1985a) DNA Synthesis and Cell Division in the Adult Primate Brain. *Ann N Y Acad Sci* 457:193–211.
- Rakic P (1985b) Limits of neurogenesis in primates. *Science* (80- ) 227:1054–1056.
- Rakic P (2002) Adult Neurogenesis in Mammals : An Identity Crisis. *J Neurosci* 22:614–618.
- Ramon y Cajal S (1894) La fine structure des centres nerveux. *Proc R Soc London*:444–468.
- Ramon y Cajal S (1911) *Histologie du système nerveux de l'homme & des vertébrés*.
- Ranieri F, Podda M V, Riccardi E, Frisullo G, Dileone M, Profice P, Pilato F, Di Lazzaro V, & Grassi C (2012) Modulation of LTP at rat hippocampal CA3-CA1 synapses by direct current stimulation. *J Neurophysiol* 107:1868–1880.
- Rao MS, Hattiangady B, Abdel-Rahman A, Stanley DP, & Shetty AK (2005) Newly born cells in the ageing dentate gyrus display normal migration, survival and neuronal fate choice but endure retarded early maturation. *Eur J Neurosci* 21:464–476.
- Rao MS, Hattiangady B, & Shetty AK (2006) The window and mechanisms of major age-related decline in the production of new neurons within the dentate gyrus of the hippocampus. *Aging Cell* 5:545–558.
- Rauci F, Di Fiore MM, Pinelli C, D'Aniello B, Luongo L, Polese G, & Rastogi RK (2006) Proliferative activity in the frog brain: a PCNA-immunohistochemistry analysis. *J Chem Neuroanat* 32:127–142.
- Raymond PA, & Easter SSJ (1983) Postembryonic growth of the optic tectum in goldfish. I. Location of germinal cells and numbers of neurons produced. *J Neurosci* 3:1077–1091.
- Raymond PA, Easter SSJ, Burnham JA, & Powers MK (1983) Postembryonic growth of the optic tectum in goldfish. II. Modulation of cell proliferation by retinal fiber input. *J Comp Neurol* 3:1092–1099.
- Remaud S, Gothié J-D, Morvan-Dubois G, & Demeneix BA (2014) Thyroid Hormone Signaling and Adult Neurogenesis in Mammals. *Front Endocrinol (Lausanne)* 5:62.
- Remondes M, & Schuman EM (2004) Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature* 431:699–703.
- Renaudineau S, Poucet B, Laroche S, Davis S, & Save E (2009) Impaired long-term stability of CA1 place cell representation in mice lacking the transcription factor *zif268/egr1*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:11771–11775.
- Renzel R, Sadek AR, Chang CH, Gray WP, Seifert G, & Steinhäuser C (2013) Polarized distribution of AMPA, but not GABAA, receptors in radial glia-like cells of the adult dentate gyrus. *Glia* 61:1146–1154.
- 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* 29:8206–8214.

- Revest J-M, Dupret D, Koehl M, Funk-Reiter C, Grosjean N, Piazza P-V, & Abrous DN (2009) Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol Psychiatry* 14:959–967.
- Reynolds BA, & Weiss S (1992) Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* (80- ) 255:1707–1710.
- Rhodes JS, van Praag H, Jeffrey S, Girard I, Mitchell GS, Garland T, & Gage FH (2003) Exercise increases hippocampal neurogenesis to high levels but does not improve spatial learning in mice bred for increased voluntary wheel running. *Behav Neurosci* 117:1006–1016.
- Ribak CE, Korn MJ, Shan Z, & Obenaus A (2004) Dendritic growth cones and recurrent basal dendrites are typical features of newly generated dentate granule cells in the adult hippocampus. *Brain Res* 1000:195–199.
- Ribak CE, & Seress L (1983) Five types of basket cell in the hippocampal dentate gyrus: a combined Golgi and electron microscopic study. *J Neurocytol* 12:577–597.
- Ribak CE, Seress L, & Amaral DG (1985) The development, ultrastructure and synaptic connections of the mossy cells of the dentate gyrus. *J Neurocytol* 14:835–857.
- Richardson CL, Tate WP, Mason SE, Lawlor PA, M D, & Abraham WC (1992) Correlation between the induction of an immediate early gene, *zif/268*, and long-term potentiation in the dentate gyrus. *Brain Res* 580:147–154.
- Richetin K, Leclerc C, Toni N, Gallopin T, Pech S, Roybon L, & Rampon C (2014) Genetic manipulation of adult-born hippocampal neurons rescues memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain* 138:440–455.
- Rickmann M, Amaral DG, & Cowan WM (1987) Organization of radial glial cells during the development of the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* 264:449–479.
- Ridderinkhof KR, Ullsperger M, Crone EA, & Nieuwenhuis S (2004) The Role of the Medial Frontal Cortex in Cognitive Control. *Science* (80- ) 306:443–447.
- Rizk P, Salazar J, Raisman-Vozari R, Marien M, Ruberg M, Colpaert F, & Debeir T (2006) The alpha2-adrenoceptor antagonist dexefaroxan enhances hippocampal neurogenesis by increasing the survival and differentiation of new granule cells. *Neuropsychopharmacology* 31:1146–1157.
- Roberts LA, Higgins MJ, O'Shaughnessy CT, Stone TW, & Morris BJ (1996) Changes in hippocampal gene expression associated with the induction of long-term potentiation. *Mol Brain Res* 42:123–127.
- Roberts WA (2002) Are animals stuck in time? *Psychol Bull* 128:473–489.
- Roberts WA, Feeney MC, Macpherson K, Petter M, McMillan N, & Musolino E (2008) Episodic-like memory in rats: is it based on when or how long ago? *Science* (80- ) 320:113–115.
- Rola R, Raber J, Rizk A, Otsuka S, Vandenberg SR, Morhardt DR, & Fike JR (2004) Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. *Exp Neurol* 188:316–330.
- Rolls ET (1996) A theory of hippocampal function in memory. *Hippocampus* 6:601–620.
- Rolls ET (2013) The mechanisms for pattern completion and pattern separation in the hippocampus. *Front Syst Neurosci* 7:74.

- Rolls ET, & Kesner RP (2006) A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Prog Neurobiol* 79:1–48.
- Rosen JB, Fanselow MS, Young SL, Sitcoske M, & Maren S (1998) Immediate-early gene expression in the amygdala following footshock stress and contextual fear conditioning. *Brain Res* 796:132–142.
- Rosenbaum RS, Priselac S, Köhler S, Black SE, Gao F, Nadel L, & Moscovitch M (2000) Remote spatial memory in an amnesic person with extensive bilateral hippocampal lesions. *Nat Neurosci* 3:1044–1048.
- 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. *Eur J Neurosci* 24:1850–1856.
- Roybon L, Hjalt T, Stott S, Guillemot F, Li JY, & Brundin P (2009) Neurogenin2 directs granule neuroblast production and amplification while neuroD1 specifies neuronal fate during hippocampal neurogenesis. *PLoS One* 4.
- Rudebeck PH, & Murray EA (2014) Review The Orbitofrontal Oracle : Cortical Mechanisms for the Prediction and Evaluation of Specific Behavioral Outcomes. *Neuron* 84:1143–1156.
- Rugg MD, Vilberg KL, Mattson JT, Yu SS, Johnson JD, & Suzuki M (2012) Item memory, context memory and the hippocampus: fMRI evidence. *Neuropsychologia* 50:3070–3079.
- Ryan L, Nadel L, Keil K, Putnam K, Schnyer D, Trouard T, & Moscovitch M (2001) Hippocampal complex and retrieval of recent and very remote autobiographical memories: Evidence from functional magnetic resonance imaging in neurologically intact people. *Hippocampus* 11:707–714.
- Rygh LJ, Suzuki R, Rahman W, Wong Y, Vonsy JL, Sandhu H, Webber M, Hunt S, & Dickenson AH (2006) Local and descending circuits regulate long-term potentiation and zif268 expression in spinal neurons. *Eur J Neurosci* 24:761–772.
- Saffen DW, Colet AJ, Worley PF, Christy BA, Ryder K, & Baraban JM (1988) Convulsant-induced increase in transcription factor messenger RNAs in rat brain. *Proc Natl Acad Sci* 85:7795–7799.
- Sahay A, & Hen R (2007) Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci* 10:1110–1115.
- Sahay A, Scobie KN, Hill AS, O'Carroll CM, Kheirbek MA, Burghardt NS, Fenton AA, Dranovsky A, & Hen R (2011a) Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* 472:466–470.
- Sahay A, Wilson DA, & Hen R (2011b) Pattern separation: a common function for new neurons in hippocampus and olfactory bulb. *Neuron* 70:582–588.
- Sairanen M, Lucas G, Ernfors P, Castrén M, & Castrén E (2005) Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 25:1089–1094.
- Saive AL, Ravel N, Thévenet M, Royet JP, & Plailly J (2013) A novel experimental approach to episodic memory in humans based on the privileged access of odors to memories. *J Neurosci Methods* 213:22–31.

- Saive A-L, Royet J-P, & Plailly J (2014a) A review on the neural bases of episodic odor memory: from laboratory-based to autobiographical approaches. *Front Behav Neurosci* 8:1–13.
- Saive A-L, Royet J-P, Ravel N, Thévenet M, Garcia S, & Plailly J (2014b) A unique memory process modulated by emotion underpins successful odor recognition and episodic retrieval in humans. *Front Behav Neurosci* 8:203.
- Salwiczek LH, Watanabe A, & Clayton NS (2010) Ten years of research into avian models of episodic-like memory and its implications for developmental and comparative cognition. *Behav Brain Res* 215:221–234.
- Sandeman DC, Bazin F, & Beltz BS (2011) Adult neurogenesis: Examples from the decapod crustaceans and comparisons with mammals. *Arthropod Struct Dev* 40:258–275.
- Sandeman R, & Sandeman D (2000) “Impoverished” and “enriched” living conditions influence the proliferation and survival of neurons in crayfish brain. *J Neurobiol* 45:215–226.
- Sandi C, & Haller J (2015) Stress and the social brain: behavioural effects and neurobiological mechanisms. *Nat Rev Neurosci* 16:290–304.
- Sandoval CJ, Martínez-Claros M, Bello-Medina PC, Pérez O, & Ramírez-Amaya V (2011) When are new hippocampal neurons, born in the adult brain, integrated into the network that processes spatial information? *PLoS One* 6:e17689.
- Santarelli L, Saxe M, Cross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, Belzung C, & Hen R (2003) Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the Behavioral Effects of Antidepressants. *Science* (80- ) 301:805–809.
- Sapolsky RM (1992) Do glucocorticoid concentrations rise with age in the rat? *Neurobiol Aging* 13:171–174.
- Sapolsky RM, Krey LC, & McEwen BS (1985) Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: implications for aging. *J Neurosci* 5:1222–1227.
- Satvat E, Schmidt B, Argraves M, Marrone DF, & Markus EJ (2011) Changes in Task Demands Alter the Pattern of zif268 Expression in the Dentate Gyrus. *J Neurosci* 31:7163–7167.
- Saxe MD, Battaglia F, Wang J-W, Malleret G, David DJ, Monckton JE, Garcia a DR, Sofroniew M V, Kandel ER, Santarelli L, Hen R, & Drew MR (2006) Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:17501–17506.
- Saxe MD, Malleret G, Vronskaya S, Mendez I, Garcia AD, Sofroniew M V, Kandel ER, & Hen R (2007) Paradoxical influence of hippocampal neurogenesis on working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:4642–4646.
- Scerri C, Stewart CA, Breen KC, & Balfour DJK (2006) The effects of chronic nicotine on spatial learning and bromodeoxyuridine incorporation into the dentate gyrus of the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 184:540–546.
- Schacter DL, Chiu CYP, & Ochsner KN (1993) Implicit memory: a selective review. *Annu Rev Neurosci* 16:159–182.
- Schänzer A, Wachs F-P, Wilhelm D, Acker T, Cooper-Kuhn C, Beck H, Winkler J, Aigner L, Plate KH, & Kuhn HG (2004) Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol* 14:237–248.

- Scharff C (2000) Chasing fate and function of new neurons in adult brains. *Curr Opin Neurobiol* 10:774–783.
- Scharfman HE (1995) Electrophysiological evidence that dentate hilar mossy cells are excitatory and innervate both granule cells and interneurons. *J Neurophysiol* 74:179–194.
- Scharfman HE (2004) Functional implications of seizure-induced neurogenesis. *Adv Exp Med Biol* 548:192–212.
- Schmidt HD, & Duman RS (2007) The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav Pharmacol* 18:391–418.
- Schmidt M (1997) Continuous neurogenesis in the olfactory brain of adult shore crabs, *Carcinus maenas*. *Brain Res* 762:131–143.
- Schmidt R, Strähle U, & Scholpp S (2013) Neurogenesis in zebrafish - from embryo to adult. *Neural Dev* 8:1–13.
- Schmidt-Hieber C, Jonas P, & Bischofberger J (2004) Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 429:184–187.
- Schoenbaum G, Chiba A a, & Gallagher M (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci* 19:1876–1884.
- Schoenbaum G, Nugent SL, Saddoris MP, & Setlow B (2002) Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. *Neuroreport* 13:885–890.
- Schoenfeld T, & Gould E (2012) Stress, stress hormones, and adult Neurogenesis. *Exp Neurol* 233:12–21.
- Scobie KN, Hall BJ, Wilke S a, Klemenhausen KC, Fujii-Kuriyama Y, Ghosh A, Hen R, & Sahay A (2009) Krüppel-like factor 9 is necessary for late-phase neuronal maturation in the developing dentate gyrus and during adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci* 29:9875–9887.
- Scotto-Lomassese S, Strambi C, Strambi A, Aouane A, Augier R, Rougon G, & Cayre M (2003) Suppression of adult neurogenesis impairs olfactory learning and memory in an adult insect. *J Neurosci* 23:9289–9296.
- Scoville W, & Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20:11–21.
- Seger R, & Krebs EG (1995) The MAPK signaling cascade. *FASEB J* 9:726–735.
- Segovia G, Yagüe AG, García-Verdugo JM, & Mora F (2006) Environmental enrichment promotes neurogenesis and changes the extracellular concentrations of glutamate and GABA in the hippocampus of aged rats. *Brain Res Bull* 70:8–14.
- Seki T (2002) Expression patterns of immature neuronal markers PSA-NCAM, CRMP-4 and NeuroD in the hippocampus of young adult and aged rodents. *J Neurosci Res* 70:327–334.
- Seki T, & Arai Y (1991) The persistent expression of a highly polysialylated NCAM in the dentate gyrus of the adult rat. *Neurosci Res* 12:503–513.
- Seki T, & Arai Y (1995) Age-related production of new granule cells in the adult dentate gyrus. *Neuroreport* 6:2479–2482.

- Seress L, & Pokorny J (1981) Structure of the granular layer of the rat dentate gyrus. A light microscopic and Golgi study. *J Anat* 133:181–195.
- Seress L, & Ribak CE (1983) GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Exp Brain Res* 50:173–182.
- Seri B, Garcı JM, Mcewen BS, & Alvarez-buylla A (2001) Astrocytes Give Rise to New Neurons in the Adult Mammalian Hippocampus. *J Neurosci* 21:7153–7160.
- Sheng M, & Greenberg ME (1990) The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. *Neuron* 4:477–485.
- Sherry DF, & Hoshooley JS (2010) Seasonal hippocampal plasticity in food-storing birds. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:933–943.
- Shimazu K, Zhao M, Sakata K, Akbarian S, Bates B, Jaenisch R, & Lu B (2006) NT-3 facilitates hippocampal plasticity and learning and memory by regulating neurogenesis. *Learn Mem* 13:307–315.
- Shimizu E, Tang Y-P, Rampon C, & Tsien JZ (2000) NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* (80- ) 290:1170–1174.
- Shingo AS, & Kito S (2005) Effects of nicotine on neurogenesis and plasticity of hippocampal neurons. *J Neural Transm* 112:1475–1478.
- Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T, & Gould E (2001) Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 410:372–376.
- Shors TJ, Townsend DA, Zhao M, Kozorovitskiy Y, & Gould E (2002) Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning. *Hippocampus* 12:578–584.
- Silva AJ (2003) Molecular and cellular cognitive studies of the role of synaptic plasticity in memory. *J Neurobiol* 54:224–237.
- Silva CF, Duarte FS, Lima TCM De, & De Oliveira CL (2011) Effects of social isolation and enriched environment on behavior of adult Swiss mice do not require hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res* 225:85–90.
- Simon M, Czéh B, & Fuchs E (2005) Age-dependent susceptibility of adult hippocampal cell proliferation to chronic psychosocial stress. *Brain Res* 1049:244–248.
- Sisti HM, Glass AL, & Shors TJ (2007) Neurogenesis and the spacing effect: learning over time enhances memory and the survival of new neurons. *Learn Mem* 14:368–375.
- Smrt RD, Szulwach KE, Pfeiffer RL, Li X, Guo W, Pathania M, Teng Z, Luo Y, Peng J, Bordey A, Jin P, & Zhao X (2010) MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase Mind Bomb-1. *Cell Stem Cell* 28:1060–1070.
- Snyder JS (2009) Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 19:360–370.
- Snyder JS, Choe JS, Clifford M a, Jeurling SI, Hurley P, Brown A, Kamhi JF, & Cameron H a (2009a) Adult-born hippocampal neurons are more numerous, faster maturing, and more involved in behavior in rats than in mice. *J Neurosci* 29:14484–14495.

- Snyder JS, Clifford M a, Jeurling SI, & Cameron H a (2012a) Complementary activation of hippocampal-cortical subregions and immature neurons following chronic training in single and multiple context versions of the water maze. *Behav Brain Res* 227:330–339.
- Snyder JS, Ferrante SC, & Cameron HA (2012b) Late Maturation of Adult-Born Neurons in the Temporal Dentate Gyrus Migaud M, ed. *PLoS One* 7:e48757.
- Snyder JS, Glover LR, Sanzone KM, Kamhi JF, & Cameron HA (2009b) The effects of exercise and stress on the survival and maturation of adult-generated granule cells. *Hippocampus* 19:898–906.
- Snyder JS, Hong NS, McDonald RJ, & Wojtowicz JM (2005) A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* 130:843–852.
- Snyder JS, Kee N, & Wojtowicz JM (2001) Effects of Adult Neurogenesis on Synaptic Plasticity in the Rat Dentate Gyrus. *J Neurophysiol* 85:2423–2431.
- Soderling TR, & Derkach VA (2000) Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 23:75–80.
- Somogyi P, & Klausberger T (2005) Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol* 562:9–26.
- Song H, Stevens CF, & Gage FH (2002) Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature* 417:39–44.
- Song J, Zhong C, Bonaguidi MA, Sun GJ, Hsu D, Gu Y, Meletis K, Huang ZJ, Ge S, Enikolopov G, Deisseroth K, Luscher B, Christian KM, Ming G, & Song H (2012) Neuronal circuitry mechanism regulatiing adult quiescent neural stem-cell fate decision. *Nature* 489:150–154.
- Soulé J, Penke Z, Kanhema T, Alme MN, Laroche S, & Bramham CR (2008) Object-place recognition learning triggers rapid induction of plasticity-related immediate early genes and synaptic proteins in the rat dentate gyrus. *Neural Plast* 2008.
- Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz B a, Possnert G, Mash DC, Druid H, & Frisén J (2013) Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153:1219–1227.
- Spampanato J, Sullivan RK, Turpin FR, Bartlett PF, & Sah P (2012) Properties of doublecortin expressing neurons in the adult mouse dentate gyrus. *PLoS One* 7:e41029.
- Spanswick SC, Epp JR, & Sutherland RJ (2011) Time-course of hippocampal granule cell degeneration and changes in adult neurogenesis after adrenalectomy in rats. *Neuroscience* 190:166–176.
- Spreng RN, Mar RA, & Kim ASN (2009) The common neural basis of autobiographical memory, prospection, navigation, theory of mind, and the default mode: a quantitative meta-analysis. *J Cogn Neurosci* 21:489–510.
- Spritzer MD, & Galea L a M (2007) Testosterone and dihydrotestosterone, but not estradiol, enhance survival of new hippocampal neurons in adult male rats. *Dev Neurobiol* 67:1321–1333.
- Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 99:195–231.

- Squire LR (2004) Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82:171–177.
- Squire LR, & Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5:169–177.
- Squire LR, & Zola-Morgan S (1991) Memory and brain. *Oxford Textbooks in Psychology*. Oxford: Oxford University Press.
- Squire LR, & Zola-Morgan S (1988) Memory: brain systems and behavior. *Trends Neurosci* 11:170–175.
- Squire LR, & Zola SM (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:13515–13522.
- Squire LR, & Zola SM (1997) Amnesia, memory and brain systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 352:1663–1673.
- Squire LR, & Zola-Morgan S (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science* (80- ) 253:1380–1386.
- Staiger JF, Bisler S, Schleicher A, Gass P, Stehle JH, & Zilles K (2000) Exploration of a novel environment leads to the expression of inducible transcription factors in barrel-related columns. *Neuroscience* 99:7–16.
- Stalnaker TA, Cooch NK, & Schoenbaum G (2015) What the orbitofrontal cortex does not do. *Nat Neurosci* 18:620–627.
- Stalnaker TA, Franz TM, Singh T, & Schoenbaum G (2007) Basolateral Amygdala Lesions Abolish Orbitofrontal-Dependent Reversal Impairments. *Neuron* 54:51–58.
- Steiner B, Klempin F, Wang L, Kott M, Kettenmann H, & Kempermann G (2006) Type-2 Cells as Link Between Glial and Neuronal Lineage in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Glia* 54:805–814.
- Steiner B, Kronenberg G, Jessberger S, Brandt MD, Reuter K, & Kempermann G (2004) Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia* 46:41–52.
- Stone SSD, Teixeira CM, Zaslavsky K, Wheeler AL, Martinez-Canabal A, Wang A, Sakaguchi M, Lozano AM, & Frankland PW (2011) Functional convergence of developmentally and adult-generated granule cells in dentate gyrus circuits supporting hippocampus-dependent memory. *Hippocampus* 21:1348–1362.
- Struble RG, Desmond NL, & Levy WB (1978) Anatomical evidence for interlaminar inhibition in the fascia dentata. *Brain Res* 152:580–585.
- Stuchlik A (2014) Dynamic learning and memory, synaptic plasticity and neurogenesis: an update. *Front Behav Neurosci* 8:106.
- Su XW, Li X-Y, Banasr M, Koo JW, Shahid M, Henry B, & Duman RS (2009) Chronic treatment with AMPA receptor potentiator Org 26576 increases neuronal cell proliferation and survival in adult rodent hippocampus. *Psychopharmacology (Berl)* 206:215–222.
- Suh H, Consiglio A, Ray J, Sawai T, D'Amour KA, & Gage FH (2007) In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 1:515–528.

- Sukhatme VP, Cao X, Chang LC, Tsai-Morris C-H, Stamenkovich D, Ferreira PCP, Cohen DR, Edwards steven A, Shows TB, Curran T, Le Beau MM, & Adamson ED (1988) A zinc finger-encoding gene coregulated with c-fos during growth and differentiation, and after cellular depolarization. *Cell* 53:37–43.
- Sun G, Yu RT, Evans RM, & Shi Y (2007) Orphan nuclear receptor TLX recruits histone deacetylases to repress transcription and regulate neural stem cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci* 104:15282–15287.
- Sun J, Sun J, Ming G-L, & Song H (2011) Epigenetic regulation of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Eur J Neurosci* 33:1087–1093.
- Sun W, Winseck A, Vinsant S, Park O, Kim H, & Oppenheim RW (2004) Programmed cell death of adult-generated hippocampal neurons is mediated by the proapoptotic gene Bax. *J Neurosci* 24:11205–11213.
- Sutanto W, & de Kloet ER (1994) The use of various animal models in the study of stress and stress-related phenomena. *Lab Anim* 28:293–306.
- Sutherland RJ, Whishaw IQ, & Kolb B (1983) A behavioural analysis of spatial localization following electrolytic, kainate- or colchicine-induced damage to the hippocampal formation in the rat. *Behav Brain Res* 7:133–153.
- Sutula T, Goldschmidt R, & Steward O (1983) Mechanisms of colchicine neurotoxicity in the dentate gyrus: dissociation of seizures and cell death. *Exp Neurol* 81:683–693.
- Suzuki S, Augerinos G, & Black AH (1980) Stimulus control of spatial behavior on the eight-arm maze in rats. *Learn Motiv* 11:1–18.
- Svaren J, Ehrig T, Abdulkadir SA, Ehrenguber MU, Watson MA, & Milbrandt J (2000) EGR1 target genes in prostate carcinoma cells identified by microarray analysis. *J Biol Chem* 275:38524–38531.
- Swan AA, Clutton JE, Chary PK, Cook SG, Liu GG, & Drew MR (2014) Characterization of the role of adult neurogenesis in touch-screen discrimination learning. *Hippocampus* 11:1581–1591.
- Swanson LW (1981) A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain Res* 217:150–154.
- Sweatt JD (2004) Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 14:311–317.
- Swirnoff AH, & Milbrandt J (1995) DNA-Binding Specificity of NGFI-A and Related Zinc Finger Transcription Factors. *Mol Cell Biol* 15:2275–2287.
- Szulwach KE, Li X, Smrt RD, Li Y, Luo Y, Lin L, Santistevan NJ, Li W, Zhao X, & Jin P (2010) Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. *J Cell Biol* 189:127–141.
- Tada E, Parent JM, Lowenstein DH, & Fike JR (2000) X-irradiation causes a prolonged reduction in cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats. *Neuroscience* 99:33–41.
- Takehara K, Kawahara S, & Kirino Y (2003) Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory retention in trace eyeblink conditioning. *J Neurosci* 23:9897–9905.

- Tanaka A, Watanabe Y, Kato H, & Araki T (2007) Immunohistochemical changes related to ageing in the mouse hippocampus and subventricular zone. *Mech Ageing Dev* 128:303–310.
- Tanapat P, Hastings NB, & Gould E (2005) Ovarian steroids influence cell proliferation in the dentate gyrus of the adult female rat in a dose- and time-dependent manner. *J Comp Neurol* 481:252–265.
- Tanapat P, Hastings NB, Reeves AJ, & Gould E (1999) Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *J Neurosci* 19:5792–5801.
- Tang Y-P, Shimizu E, Dube GR, Rampon C, Kerchner GA, Zhuo M, Liu G, & Tsien JZ (1999) Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 401:63–69.
- Tanila H, Shapiro ML, & Eichenbaum H (1997) Discordance of spatial representation in ensembles of hippocampal place cells. *Hippocampus* 7:613–623.
- 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. *J Neurosci* 27:3252–3259.
- Tashiro A, Sandler VM, Toni N, Zhao C, & Gage FH (2006) NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 442:929–933.
- Taupin P (2007) BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation. *Brain Res Rev* 53:198–214.
- Thiel G, & Cibelli G (2002) Regulation of life and death by the zinc finger transcription factor Egr-1. *J Cell Physiol* 193:287–292.
- Thiel G, Schoch S, & Petersohn D (1994) Regulation of synapsin I gene expression by the zinc finger transcription factor zif268/egr-1. *J Biol Chem* 269:15294–15301.
- Thomas KL, Hall J, & Everitt BJ (2002) Cellular imaging with zif268 expression in the rat nucleus accumbens and frontal cortex further dissociates the neural pathways activated following the retrieval of contextual and cued fear memory. *Eur J Neurosci* 16:1789–1796.
- Thompson LT, & Best PJ (1990) Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *Brain Res* 509:299–308.
- Toga AW, & Lothman EW (1983) Learning deficits after lesions of dentate gyrus granule cells. *Exp Neurol* 82:192–202.
- Tokuyama W, Okuno H, Hashimoto T, Li YX, & Miyashita Y (2002) Selective zif268 mRNA induction in the perirhinal cortex of macaque monkeys during formation of visual pair-association memory. *J Neurochem* 81:60–70.
- Tonegawa S, Nakazawa K, & Wilson MA (2003) Genetic neuroscience of mammalian learning and memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:787–795.
- Toni N, Buchs P-A, Nikonenko I, Bron CR, & Muller D (1999) LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402:421–425.
- Toni N, Buchs P-A, Nikonenko I, Povilaitite P, Parisi L, & Muller D (2001) Remodeling of synaptic membranes after induction of long-term potentiation. *J Neurosci* 21:6245–6251.

- Toni N, Laplagne D a, Zhao C, Lombardi G, Ribak CE, Gage FH, & Schinder AF (2008) Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nat Neurosci* 11:901–907.
- Toni N, & Sultan S (2011) Synapse formation on adult-born hippocampal neurons. *Eur J Neurosci* 33:1062–1068.
- Toni N, Teng EM, Bushong EA, Aimone JB, Zhao C, Consiglio A, van Praag H, Martone ME, Ellisman MH, & Gage FH (2007) Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat Neurosci* 10:727–734.
- Topilko P, Schneider-Maunoury S, Levi G, Trembleau A, Gourdji D, Driancourt M-A, Rao C V, & Charnay P (1997) Multiple Pituitary and Ovarian Defects in Krox-24 (NGFI-A, Egr-1)-Targeted Mice. *Mol Endocrinol* 12:107–122.
- Tozuka Y, Fukuda S, Namba T, Seki T, & Hisatsune T (2005) GABAergic Excitation Promotes Neuronal Differentiation in Adult Hippocampal Progenitor Cells. *Neuron* 47:803–815.
- Trejo JL, Carro E, & Torres-Aleman I (2001) Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* 21:1628–1634.
- Tronel S, Belnoue L, Grosjean N, Revest JM, Piazza PV, Koehl M, & Abrous DN (2012) Adult-born neurons are necessary for extended contextual discrimination. *Hippocampus* 22:292–298.
- Tronel S, Charrier V, Sage C, Maitre M, Leste-Lasserre T, & Abrous DN (2015) Adult-born dentate neurons are recruited in both spatial memory encoding and retrieval. *Hippocampus*.
- Tronel S, Fabre A, Charrier V, Oliet SHR, Gage FH, & Abrous DN (2010) Spatial learning sculpts the dendritic arbor of adult-born hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
- Trouche S, Bontempi B, Roulet P, & Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:5919–5924.
- Tse D, Langston RF, Kakeyama M, Bethus I, Spooner PA, Wood ER, Witter MP, & Morris RGM (2007) Schemas and memory consolidation. *Science* (80- ) 316:76–82.
- Tse D, Takeuchi T, Kakeyama M, Kajii Y, Okuno H, Tohyama C, Bitto H, & Morris RGM (2011) Schema-dependent gene activation and memory encoding in neocortex. *Science* (80- ) 333:891–895.
- Tsien JZ, Huerta PT, & Tonegawa S (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* 87:1327–1338.
- Tulving E (1972) Episodic and semantic memory: A comparison of amnesic and demented patients.
- Tulving E (1985a) How many memory systems are there? *Am Psychol* 40:385–398.
- Tulving E (1985b) Elements of Episodic Memory.
- Tulving E (1985c) Memory and Consciousness. *Can Psychol Can* 26:12.
- Tulving E (2002) Episodic Memory : From Mind to Brain. *Annu Rev Psychol* 53:1–25.

- Tulving E, & Markowitsch HJ (1998) Episodic and Declarative Memory: Role of the Hippocampus. *Hippocampus* 8:198–204.
- Urban DJ, & Roth BL (2015) DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs): Chemogenetic Tools with Therapeutic Utility. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 55:399–417.
- Valenstein E, Bowers D, Verfaellie M, Heilman KM, Day A, & Watson RT (1987) Retrosplenial amnesia. *Brain* 110 ( Pt 6:1631–1646.
- Van der Borght K, Havekes R, Bos T, Eggen BJL, & Van der Zee E a (2007) Exercise improves memory acquisition and retrieval in the Y-maze task: relationship with hippocampal neurogenesis. *Behav Neurosci* 121:324–334.
- Van der Borght K, Meerlo P, Paul PG, Eggen BJL, & Zee E a Van Der (2005) Effects of active shock avoidance learning on hippocampal neurogenesis and plasma levels of corticosterone. *Behav Brain Res* 157:23–30.
- Van Groen T, & Wyss JM (1990) Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections. *J Comp Neurol* 302:515–528.
- Van Groen T, & Wyss JM (1992) Connections of the retrosplenial dysgranular cortex in the rat. *J Comp Neurol* 315:200–216.
- Van Loo KMJ, Schaub C, Pernhorst K, Yaari Y, Beck H, Schoch S, & Becker AJ (2012) Transcriptional regulation of T-type calcium channel CaV3.2: Bi-directionality by early growth response 1 (Egr1) and repressor element 1 (RE-1) protein -silencing transcription factor (REST). *J Biol Chem* 287:15489–15501.
- Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, & Gage FH (1999a) Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:13427–13431.
- Van Praag H, Kempermann G, & Gage FH (1999b) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 2:266–270.
- Van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, & Gage FH (2002) Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415:1030–1034.
- Van Praag H, Shubert T, Zhao C, & Gage FH (2005) Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 25:8680–8685.
- Vann SD, & Albasser MM (2011) Hippocampus and neocortex: Recognition and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 21:440–445.
- Vann SD, Tsivilis D, Denby CE, Quamme JR, Yonelinas AP, Aggleton JP, Montaldi D, & Mayes AR (2009) Impaired recollection but spared familiarity in patients with extended hippocampal system damage revealed by 3 convergent methods. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:5442–5447.
- Verret L, Trouche S, Zerwas M, & Rampon C (2007) Hippocampal neurogenesis during normal and pathological aging. *Psychoneuroendocrinology* 32:26–30.
- Verwer RW, Meijer RJ, Van Uum HF, & Witter MP (1997) Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. *Hippocampus* 7:397–402.

- Vetere G, Restivo L, Cole CJ, Ross PJ, Ammassari-Teule M, Josselyn S a, & Frankland PW (2011) Spine growth in the anterior cingulate cortex is necessary for the consolidation of contextual fear memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:8456–8460.
- Veyrac A, Besnard A, Caboche J, Davis S, & Laroche S (2014) The transcription factor Zif268/Egr1, brain plasticity, and memory, 1st ed. Elsevier Inc.
- Veyrac A, Gros A, Bruel-jungerman E, Rochefort C, Borgmann FBK, Jessberger S, & Laroche S (2013) Zif268/egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning. *Proc Natl Acad Sci* 110:7062–7067.
- Veyrac A, Reibel S, Sacquet J, Mutin M, Camdessanche J-P, Kolattukudy P, Honnorat J, & Jourdan F (2011) CRMP5 regulates generation and survival of newborn neurons in olfactory and hippocampal neurogenic areas of the adult mouse brain. *PLoS One* 6:e23721.
- Vignal C, Andru J, & Mathevon N (2005) Social context modulates behavioural and brain immediate early gene responses to sound in male songbird. *Eur J Neurosci* 22:949–955.
- Virolle T, Kronen-Herzig A, Baron V, De Gregorio G, Adamson ED, & Mercola D (2003) Egr1 promotes growth and survival of prostate cancer cells. *J Biol Chem* 278:11802–11810.
- Viskontas I V, McAndrews MP, & Moscovitch M (2002) Memory for famous people in patients with unilateral temporal lobe epilepsy and excisions. *Neuropharmacology* 16:472–480.
- Waddell J, Anderson ML, & Shors TJ (2011) Changing the rate and hippocampal dependence of trace eyeblink conditioning: slow learning enhances survival of new neurons. *Neurobiol Learn Mem* 95:159–165.
- Wagner JP, Black IB, & DiCicco-Bloom E (1999) Stimulation of neonatal and adult brain neurogenesis by subcutaneous injection of basic fibroblast growth factor. *J Neurosci* 19:6006–6016.
- Wakabayashi T, Hidaka R, Fujimaki S, Asashima M, & Kuwabara T (2014) MicroRNAs and epigenetics in adult neurogenesis. Elsevier.
- Wallace CS, Kilman VL, Withers GS, & Greenough WT (1992) Increases in dendritic length in occipital cortex after 4 days of differential housing in weanling rats. *Behav Neural Biol* 58:64–68.
- Wallace CS, Withers GS, Weiler IJ, George JM, Clayton DF, & Greenough WT (1995) Correspondence between sites of NGFI-A induction and sites of morphological plasticity following exposure to environmental complexity. *Mol Brain Res* 32:211–220.
- Wallis JD (2007) Neuronal mechanisms in prefrontal cortex underlying adaptive choice behavior. *Ann N Y Acad Sci* 1121:447–460.
- Walsh TJ, Schulz DW, Tilson HA, & Schmechel DE (1986) Colchicine-induced granule cell loss in rat hippocampus: selective behavioral and histological alterations. *Brain Res* 398:23–36.
- Wang C, Dostanic S, Servant N, & Chalifour LE (2005a) Egr-1 negatively regulates expression of the sodium-calcium exchanger-1 in cardiomyocytes in vitro and in vivo. *Cardiovasc Res* 65:187–194.
- Wang H, Shimizu E, Tang Y-P, Cho M, Kyin M, Zuo W, Robinson D a, Alaimo PJ, Zhang C, Morimoto H, Zhuo M, Feng R, Shokat KM, & Tsien JZ (2003) Inducible protein knockout reveals temporal requirement of CaMKII reactivation for memory consolidation in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4287–4292.

- Wang JQ, Daunais JB, & McGinty JF (1994) Role of kainate/AMPA receptors in induction of striatal zif/268 and preprodynorphin mRNA by a single injection of amphetamine. *Mol Brain Res* 27:118–126.
- Wang J-W, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, & Hen R (2008) Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J Neurosci* 28:1374–1384.
- Wang L-P, Kempermann G, & Kettenmann H (2005b) A subpopulation of precursor cells in the mouse dentate gyrus receives synaptic GABAergic input. *Mol Cell Neurosci* 29:181–189.
- Wang N, Aviram R, & Kirn JR (1999) Deafening Alters Neuron Turnover within the Telencephalic Motor Pathway for Song Control in Adult Zebra Finches. *J Neurosci* 19:10554–10561.
- Wang S, Scott B, & Wojtowicz JM (2000) Heterogenous properties of dentate granule neurons in the adult rat. *J Neurobiol* 64:248–257.
- Warner-Schmidt JL, Madsen TM, & Duman RS (2008) Electroconvulsive seizure restores neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory after disruption by irradiation. *Eur J Neurosci* 27:1485–1493.
- Wati H, Kudo K, Qiao C, Kuroki T, & Kanba S (2006) A decreased survival of proliferated cells in the hippocampus is associated with a decline in spatial memory in aged rats. *Neurosci Lett* 399:171–174.
- Weaver ICG, D'Alessio AC, Brown SE, Hellstrom IC, Dymov S, Sharma S, Szyf M, & Meaney MJ (2007) The transcription factor nerve growth factor-inducible protein a mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes. *J Neurosci* 27:1756–1768.
- Weeden CSS, Roberts JM, Kamm AM, & Kesner RP (2015) The role of the ventral dentate gyrus in anxiety-based behaviors. *Hippocampus* 118:143–149.
- Wei Z, Belal C, Tu W, Chigurupati S, Ameli NJ, Lu Y, & Chan SL (2012) Chronic Nicotine Administration Impairs Activation of Cyclic AMP-Response Element Binding Protein and Survival of Newborn Cells in the Dentate Gyrus. *Stem Cells Dev* 21:411–422.
- Weitemier AZ, & Ryabinin AE (2004) Subregion-specific differences in hippocampal activity between Delay and Trace fear conditioning: an immunohistochemical analysis. *Brain Res* 995:55–65.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, & Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* (80- ) 313:1093–1097.
- Wigstrom H, & Gustafsson B (1983) Large long-lasting potentiation in the dentate gyrus in vitro during blockade of inhibition. *Brain Res* 275:153–158.
- Williams J, Dragunow M, Lawlor PA, Mason S, Abraham WC, Leah J, Bravo R, Demmer J, & Tate WP (1995) Krox20 may play a key role in the stabilization of long-term potentiation. *Mol Brain Res* 28:87–93.
- Williams JM, Beckmann AM, Mason-Parker SE, Abraham WC, Wilce PA, & Tate WP (2000) Sequential increase in Egr-1 and AP-1 DNA binding activity in the dentate gyrus following the induction of long-term potentiation. *Mol Brain Res* 77:258–266.
- Wilson AG, & Crystal JD (2012) Prospective memory in the rat. *Anim Cogn* 15:349–358.

- Wilson M a, & McNaughton BL (1993) Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science* 261:1055–1058.
- Winocur G, Wojtowicz JM, Sekeres M, Snyder JS, & Wang S (2006) Inhibition of neurogenesis interferes with hippocampus-dependent memory function. *Hippocampus* 16:296–304.
- Winters BD, Forwood SE, Cowell RA, Saksida LM, & Bussey TJ (2004) Double Dissociation between the Effects of Peri-Postrhinal Cortex and Hippocampal Lesions on Tests of Object Recognition and Spatial Memory : Heterogeneity of Function within the Temporal Lobe. *J Neurosci* 24:5901–5908.
- Winters BD, Saksida LM, & Bussey TJ (2008) Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neurosci Biobehav Rev* 32:1055–1070.
- Wisden W, Errington ML, Williams S, Dunnett SB, Waters C, Hitchcock D, Evan G, Bliss TVP, & Hunt SP (1990) Differential expression of immediate early genes in the hippocampus and spinal cord. *Neuron* 4:603–614.
- Witter MP, & Amaral DG (2004) *The Rat Nervous System*. Elsevier.
- Witter MP, & Moser EI (2006) Spatial representation and the architecture of the entorhinal cortex. *Trends Neurosci* 29:671–678.
- Wojtowicz JM (2006) Irradiation as an experimental tool in studies of adult neurogenesis. *Hippocampus* 16:261–266.
- Wojtowicz JM, Askew ML, & Winocur G (2008) The effects of running and of inhibiting adult neurogenesis on learning and memory in rats. *Eur J Neurosci* 27:1494–1502.
- Wong EYH, & Herbert J (2005) Roles of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the regulation of progenitor proliferation in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* 22:785–792.
- Wong EYH, & Herbert J (2006) Raised circulating corticosterone inhibits neuronal differentiation of progenitor cells in the adult hippocampus. *Neuroscience* 137:83–92.
- Wood ER, Dudchenko PA, & Eichenbaum H (1999) The global record of memory in hippocampal neuronal activity. *Nature* 397:613–616.
- Worley PF, Bhat R V, Baraban JM, Erickson CA, Mcnaughton BL, & Barnes CA (1993) Thresholds for Synaptic Activation of Transcription Factors Hippocampus : Correlation with Long-term Enhancement. *J Neurosci* 73:4776–4786.
- Worley PF, Christy BA, Nakabeppu Y, Bhat R V, Cole AJ, & Baraban JM (1991) Constitutive expression of zif268 in neocortex is regulated by synaptic activity. *Proc Natl Acad Sci* 88:5106–5110.
- Wurmser AE, Palmer TD, & Gage FH (2004) Cellular Interactions in the Stem Cell Niche. *Science* (80- ) 304:1253–1255.
- Wyss JM, & Van Groen T (1992) Connections between the retrosplenial cortex and the hippocampal formation in the rat: a review. *Hippocampus* 2:1–11.
- Xavier GF, Oliveira-Filho FJB, & Santos AMG (1999) Dentate gyrus-selective colchicine lesion and disruption of performance in spatial tasks: Difficulties in “place strategy” because of a lack of flexibility in the use of environmental cues? *Hippocampus* 9:668–681.

- Xu Z, Li J, Zhang F, Wu Y, Gao Y, Liang J, & Zhang C (2011) Working memory task decreases the survival of newly born neurons in hippocampus. *Neurobiol Learn Mem* 95:239–247.
- Yamaguchi M, Saito H, Suzuki M, & Mori K (2000) Visualization of neurogenesis in the central nervous system using nestin promoter-GFP transgenic mice. *Neuroreport* 11:1991–1996.
- Yamaguchi M, Suzuki T, Seki T, Namba T, Juan R, Arai H, Hori T, & Asada T (2004) Repetitive cocaine administration decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *Ann N Y Acad Sci* 1025:351–362.
- Yang M, Kim H, Kim J, Kim SH, Kim JC, Bae CS, Kim JS, Shin T, & Moon C (2012) Fast neutron irradiation deteriorates hippocampus-related memory ability in adult mice. *J Vet Sci* 13:1–6.
- Yassa MA, & Stark CEL (2011) Pattern separation in the hippocampus. *Trends Neurosci* 34:515–525.
- Yilmaz-Rastoder E, Miyamae T, Braun AE, & Thiels E (2011) LTP-and LTD-inducing stimulations cause opposite changes in arc/arg3. 1 mRNA level in hippocampal area CA1 in vivo. *Hippocampus* 21:1290–1301.
- Yonelinas AP (2001) Components of episodic memory: the contribution of recollection and familiarity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:1363–1374.
- Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, & During MJ (1999) Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat Med* 5:448–453.
- Young JJ, & Shapiro ML (2011) The orbitofrontal cortex and response selection. *Ann N Y Acad Sci* 1239:25–32.
- Yu J, Zhang H, Gu J, Lin S, Li J, Lu W, Wang Y, & Zhu J (2004) Methylation profiles of thirty four promoter-CpG islands and concordant methylation behaviours of sixteen genes that may contribute to carcinogenesis of astrocytoma. *BMC Cancer* 4:65.
- Yuan H, Chen R, Wu L, Chen Q, Hu A, Zhang T, Wang Z, & Zhu X (2015) The Regulatory Mechanism of Neurogenesis by IGF-1 in Adult Mice. *Mol Neurobiol* 51:512–522.
- Zhang C-L, Zou Y, He W, Gage FH, & Evans RM (2008) A role for adult TLX-positive neural stem cells in learning and behaviour. *Nature* 451:1004–1007.
- Zhang X, & Liu Y (2003) Suppression of HGF receptor gene expression by oxidative stress is mediated through the interplay between Sp1 and Egr-1. *Am J Physiol ...* 284:1216–1225.
- Zhang Z, Yang R, Zhou R, Li L, Sokabe M, & Chen L (2010) Progesterone promotes the survival of newborn neurons in the dentate gyrus of adult male mice. *Hippocampus* 20:402–412.
- Zhao C, Deng W, & Gage FH (2008) Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 132:645–660.
- Zhao C, Sun G, Li S, & Shi Y (2009) A feedback regulatory loop involving microRNA-9 and nuclear receptor TLX in neural stem cell fate determination. *Nat Struct Mol Biol* 16:365–371.
- Zhao C, Teng EM, Summers RG, Ming G-L, & Gage FH (2006) Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 26:3–11.

- Zhao MG, Toyoda H, Lee YS, Wu LJ, Ko SW, Zhang XH, Jia Y, Shum F, Xu H, Li BM, Kaang BK, & Zhuo M (2005) Roles of NMDA NR2B subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. *Neuron* 47:859–872.
- Zhao X, Ueba T, Christie BR, Barkho B, McConnell MJ, Nakashima K, Lein ES, Eadie BD, Willhoite AR, Muotri AR, Summers RG, Chun J, Lee K-F, & Gage FH (2003) Mice lacking methyl-CpG binding protein 1 have deficits in adult neurogenesis and hippocampal function. *Proc Natl Acad Sci* 100:6777–6782.
- Zheng H, Zhang Y, Li W, Loh HH, & Law P-Y (2013) NeuroD Modulates Opioid Agonist-Selective Regulation of Adult Neurogenesis and Contextual Memory Extinction. *Neuropsychopharmacology* 38:770–777.
- Zhou W, & Crystal JD (2009) Evidence for remembering when events occurred in a rodent model of episodic memory. *PNAS* 106:9525–9529.
- Zhou W, & Crystal JD (2011) Validation of a rodent model of episodic memory. *Anim Cogn*:325–340.
- Zola-Morgan S, & Squire LR (1990) The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science* (80- ) 250:288–290.
- Zola-Morgan S, Squire LR, & Ramus SJ (1994) Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus* 4:483–495.
- Zupanc GKH (1999) Neurogenesis, cell death and regeneration in the adult gymnotiform brain. *J Exp Biol* 202:1435–1446.
- Zupanc GKH (2008) Adult neurogenesis and neuronal regeneration in the brain of teleost fish. *J Physiol Paris* 102:357–373.
- Zupanc GKH, & Horschke I (1995) Proliferation zones in the brain of adult gymnotiform fish: a quantitative mapping study. *J Comp Neurol* 353:213–233.
- Zupanc GKH, & Sîrbulescu RF (2011) Adult neurogenesis and neuronal regeneration in the central nervous system of teleost fish. *Eur J Neurosci* 34:917–929.
- Zupanc GKH, & Zupanc MM (1992) Birth and migration of neurons in the central posterior/prepacemaker nucleus during adulthood in weakly electric knifefish (*Eigenmannia* sp.). *Proc Natl Acad Sci* 89:9539–9543.



# Annexes



# Liste des publications et communications

---

## Travaux de thèse publiés dans des revues internationales à comité de lecture

Veyrac, A., Allerborn, M.\*, **Gros, A.\***, Michon, F., Raguet, L., Kenney, J., Godinot, F., Thevenet, M., Garcia, S., Messaoudi, B., Laroche, S.<sup>#</sup> and Ravel, N.<sup>#</sup> (2015) Memory of occasional events in rats: Individual episodic memory profiles, flexibility and neural substrate. *Journal of Neurosciences*. 35(19): 7575-7586. \*,<sup>#</sup> equal contribution

Penke, Z., Morice, E., Veyrac, A., **Gros, A.**, Chagneau, C., Leblanc, P., Samson, N., Baumgärtel, K., Mansuy, I.M., Davis, S. and Laroche, S. (2013) Zif268/Egr1 gain of function facilitates hippocampal synaptic plasticity and long term spatial recognition memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological sciences*. 369(1633):20130159.

Veyrac, A.\*, **Gros, A.\***, Bruel-Jungerman, E., Rochefort, C., Kleine Borgmann, F., Jessberger, S. and Laroche, S. (2013) Zif268/Egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 110(17): 7062-7067. \* equal contribution

## Communications affichées

**Gros, A.**, Laroche, S. and Veyrac, A. Zif268/Egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons. Abcam conference – Adult neurogenesis: Evolution, Regulation and Function, Dresden, Germany. May 6-8, 2015

**Gros, A.**, Allerborn, M., Michon, F., Raguet, L., Kenney, J., Godinot, F., Thevenet, M., Garcia, S., Messaoudi, B., Laroche, S., Veyrac, A. and Ravel, N. Memory of unique events in the daily life of rats: an original episodic-like memory task. 9<sup>th</sup> Forum of the Federation of the European Neurosciences Societies, Milan, Italy. July 5-9, 2014

**Gros, A.**, Allerborn, M., Michon, F., Raguet, L., Kenney, J., Godinot, F., Thevenet, M., Garcia, S., Messaoudi, B., Laroche, S., Veyrac, A. and Ravel, N. Memory of unique events in the daily life of rats: an original episodic-like memory task. Forum of the Federation of the European Neurosciences Societies, Grasse, France, May 13-16, 2014

**Gros, A.**, Bruel-Jungerman, E., Rochefort, C., Laroche, S. and Veyrac, A. Zif268/Egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning. 11<sup>th</sup> Congress of the Société des Neurosciences, Lyon, France. May 21-24, 2013

Allerborn, M., Courtiol, E., **Gros, A.**, Kenney, J. Messaoudi, B., Thevenet, M., Garcia, S., Laroche, S., Veyrac, A. and Ravel, N. A new paradigm to test episodic\_like memory in rats based on odeor-place-context recollection. 11<sup>th</sup> Congress of the Société des Neurosciences, Lyon, France. May 21-24, 2013

Veyrac, A., Kenney, J., Allerborn, M., **Gros, A.**, Michon, F., Raguét, L., Godinot, F., Messaoudi, B., Thevenet, M., Garcia, S., Laroche, S. and Ravel, N. Characterization of the brain regions and molecular mechanisms associated with the storage of an episodic-like memory in rodents. 11<sup>th</sup> Congress of the Société des Neurosciences, Lyon, France. May 21-24, 2013

# Listes des abréviations

---

$\gamma$ H2AX : Phosphorylated histone H2AX  
ACC : cortex cingulaire antérieur  
AMPA : acide  $\alpha$ -3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazoleprionique  
Arc : activity-regulated cytoskeleton-associated protein  
ARNm : ARN messenger  
BDNF : brain derived neurotrophic factor  
BO : Bulbe olfactif  
BrdU : bromodeoxyuridine  
CA : champs ammoniens  
CREB : cAMP Response Element-binding protein  
DAB : 3,3'-Diaminobenzidine  
DCX : doublecortin  
DISC1 : disrupted-in-schizophrenia 1  
DLO : cortex orbitofrontal dorso-latéral  
DLT : depression à long terme  
EGF : epidermal growth factor  
Egr : early growth response protein  
ENT : cortex entorhinal  
ERE : egr response element  
ERK : extracellular signal-regulated kinases  
FGF : fibroblast growth factor  
GABA : acide  $\gamma$ -aminobutyrique  
GD : gyrus denté  
GFAP : glial fibrillary acidic protein  
GFP : green fluorescent protein  
Gy : Gray  
HC : home cage  
HDAC : histone désacétylase  
HET : hétérozygote

IEG : immediate early gene  
IGF : insulin-like growth factor  
KCC2 : K-Cl-cotransporter 2  
KO : Knock-out  
LC : cortex limbique  
LE : long evans  
LO : cortex orbitofrontal latéral  
LTM : lobe temporal median  
MAM : methyl-azoxy-méthanol  
MAPK : mitogen-activated protein kinase  
MiRNA : microARN  
MO : cortex orbitofrontal median  
NeuN : Neuronal Nuclei  
NKCC1 : Na-K-Cl transporter 1  
NMDA : N-methyl-D-aspartate  
NT : neurotrophin  
OSST : one single sign test  
PA : potential d'action  
PCA : principal component analysis  
PIR : cortex piriforme  
PLT : potentialisation à long terme  
Prh : cortex périrhinal  
PSA-NCAM : polysialylated-neural cell adhesion molecule  
RSG : cortex rétrospécial  
SGZ : zone sous-granulaire  
SVZ : zone sous-ventriculaire  
VEGF : vascular endothelial growth factor  
VO : cortex orbitofrontal ventral  
WT : wild type  
Zif : zinc finger transcriptionfactor

## **Zif268/Egr1 gain of function facilitates hippocampal synaptic plasticity and long-term spatial recognition memory**

Zsuzsa Penke, Elise Morice, Alexandra Veyrac, Alexandra Gros, Carine Chagneau, Pascale LeBlanc, Nathalie Samson, Karsten Baumgärtel, Isabelle M. Mansuy, Sabrina Davis and Serge Laroche

*Phil. Trans. R. Soc. B* 2014 **369**, 20130159, published 2 December 2013

---

### **References**

**This article cites 46 articles, 16 of which can be accessed free**

<http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/369/1633/20130159.full.html#ref-list-1>

### **Subject collections**

Articles on similar topics can be found in the following collections

[behaviour](#) (476 articles)  
[cognition](#) (298 articles)  
[neuroscience](#) (387 articles)

### **Email alerting service**

Receive free email alerts when new articles cite this article - sign up in the box at the top right-hand corner of the article or click [here](#)

## Research



**Cite this article:** Penke Z *et al.* 2014 *Zif268/Egr1* gain of function facilitates hippocampal synaptic plasticity and long-term spatial recognition memory. *Phil. Trans. R. Soc. B* **369**: 20130159.

<http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0159>

One contribution of 35 to a Discussion Meeting Issue 'Synaptic plasticity in health and disease'.

### Subject Areas:

neuroscience, behaviour, cognition

### Keywords:

recognition memory, long-term potentiation, dentate gyrus, transcription factor, conditional mutant mouse, *Egr1*

### Author for correspondence:

Serge Laroche  
e-mail: [serge.laroche@u-psud.fr](mailto:serge.laroche@u-psud.fr)

<sup>†</sup>Present address: INSERM UMRS 952, CNRS UMR 7224, University Paris 6, F-75252 Paris cedex 05, France.

<sup>‡</sup>Present address: Dart Neuroscience LLC, 7473 Lusk Boulevard, San Diego, CA 92121, USA.

# *Zif268/Egr1* gain of function facilitates hippocampal synaptic plasticity and long-term spatial recognition memory

Zsuzsa Penke<sup>1,2</sup>, Elise Morice<sup>1,2,†</sup>, Alexandra Veyrac<sup>1,2</sup>, Alexandra Gros<sup>1,2</sup>, Carine Chagneau<sup>1,2</sup>, Pascale LeBlanc<sup>1,2</sup>, Nathalie Samson<sup>1,2</sup>, Karsten Baumgärtel<sup>3,‡</sup>, Isabelle M. Mansuy<sup>3</sup>, Sabrina Davis<sup>1,2</sup> and Serge Laroche<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CNRS, Centre de Neurosciences Paris-Sud, UMR 8195, Orsay 91405, France

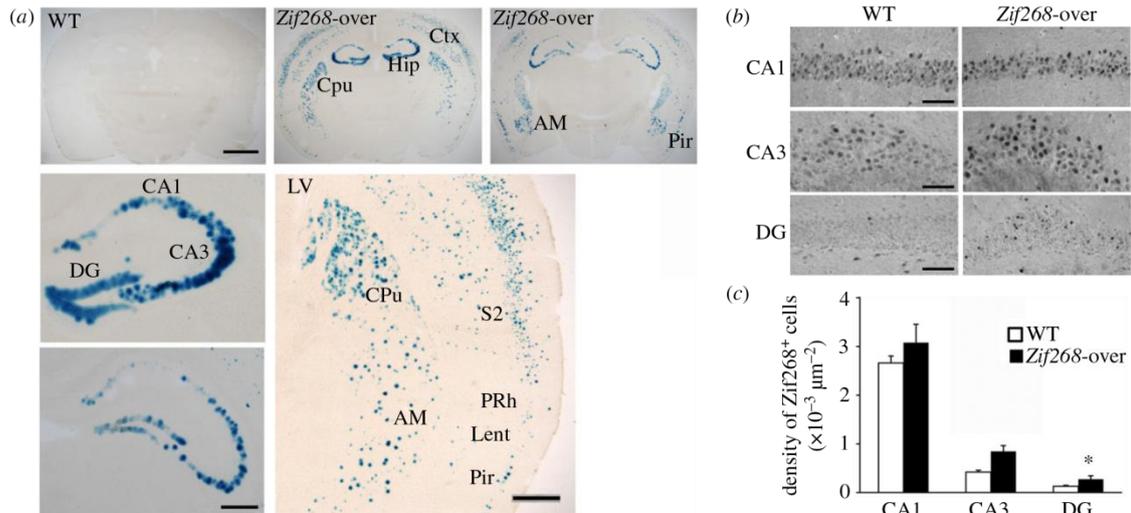
<sup>2</sup>University Paris-Sud, Centre de Neurosciences Paris-Sud, Orsay 91405, France

<sup>3</sup>Brain Research Institute, University of Zürich and Swiss Federal Institute of Technology, Zürich 8057, Switzerland

It is well established that *Zif268/Egr1*, a member of the *Egr* family of transcription factors, is critical for the consolidation of several forms of memory; however, it is as yet uncertain whether increasing expression of *Zif268* in neurons can facilitate memory formation. Here, we used an inducible transgenic mouse model to specifically induce *Zif268* overexpression in forebrain neurons and examined the effect on recognition memory and hippocampal synaptic transmission and plasticity. We found that *Zif268* overexpression during the establishment of memory for objects did not change the ability to form a long-term memory of objects, but enhanced the capacity to form a long-term memory of the spatial location of objects. This enhancement was paralleled by increased long-term potentiation in the dentate gyrus of the hippocampus and by increased activity-dependent expression of *Zif268* and selected *Zif268* target genes. These results provide novel evidence that transcriptional mechanisms engaging *Zif268* contribute to determining the strength of newly encoded memories.

## 1. Introduction

There has nearly been a century of interest in the idea that encoding and storage of information in the brain rely on changes in the efficacy of synaptic connections within the neural networks that are activated during a learning experience, a process required to form a stored memory trace available for recall. The prevailing model for cellular consolidation underlying the laying down of memory suggests that a sequence of events including receptor activation, synapse-to-nuclear signalling and the activation of selective gene programmes and subsequent synthesis of proteins is a key mechanism underlying the enduring modification of neural networks required for the stability of memories. One critical step in this process is the activation of a class of immediate early genes (IEGs) encoding inducible transcription factors that interact with promoter regulatory elements on a host of downstream late-response genes to regulate their expression. *Zif268/Egr1* is one such IEG encoding a zinc finger transcription factor of the *Egr* family that plays a crucial role in the maintenance of hippocampal long-term potentiation (LTP) and the consolidation of several forms of memories [1]. Studies in *Zif268* knockout mice highlighted a particular sensitivity to *Zif268*-deficiency of hippocampal-dependent spatial learning and spatial recognition memory [2,3]. Consistent with this, *Zif268*-deficiency was also found to impair the formation of stable hippocampal place cell representations of novel environments [4]. *Zif268* mRNA and protein are also rapidly induced in association with LTP and in defined brain structures following learning or recall of several types of memory (see [5,6] for reviews) and this can lead to a functional increase in *Zif268* protein binding to its DNA consensus *Egr* response element (ERE) [7]. Using a gain-of-function strategy in transgenic mice, a recent study reported that enhanced neuronal expression of



**Figure 1.** Zif268 overexpression in the brain of the transgenic mice. (a) Coronal brain sections of Dox-induced expression of  $\beta$ -galactosidase in WT and Zif268-overexpressing mice. Note the strong expression of *lacZ* in CA1, CA3 and dentate gyrus (DG) areas of the hippocampus (Hip), in neocortex (Ctx), medial caudate putamen (CPu), amygdala (AM) and piriform cortex (Pir). Bottom right image shows sparse *lacZ* expression in perirhinal (PRh) and lateral entorhinal (Lent) cortices. S2, somatosensory cortex; Pir, piriform cortex; LV, lateral ventricle. Scale bars, top: 2000  $\mu$ m, bottom: 500  $\mu$ m. (b) Photomicrographs showing higher Zif268 staining in CA1, CA3 and DG of the hippocampus in Zif268-overexpressing mice. Scale bar, 50  $\mu$ m. (c) The density of Zif268<sup>+</sup> cells was significantly increased in the DG of Zif268-overexpressing mice compared with WT mice. \* $p < 0.05$ . (Online version in colour.)

Zif268 can slow down extinction of conditioned taste aversion [8]. As resistance to extinction can be taken as a sign of stronger memory formed during initial training, this raises the question of whether Zif268 overexpression can directly facilitate the formation of long-term memory.

In the current study, we therefore examined whether Zif268 overexpression can enhance the capacity for forming long-term memory in a task that does not require an explicit reinforcer. To this end, we assessed memory performance of transgenic forebrain-specific Zif268 overexpressing mice and control littermates in object and object–place recognition memory tasks, allowing us to evaluate the impact of graded spatial demand in the same paradigm. Novel object recognition memory engages the perirhinal cortex as well as the hippocampus to varying degrees depending on the experimental conditions of the task, while object–place recognition memory is more strongly dependent on hippocampal functions [3, 9–12]. Spatial exploration of objects is associated with synaptic potentiation in the hippocampus [13] and increased Zif268 expression in the dentate gyrus of the hippocampus [14]. Whereas Zif268 knockout mice are impaired in both object and object–place recognition memory, heterozygous mice carrying half the complement of Zif268 are impaired in spatial, but not object recognition memory, suggesting increasing dependence on Zif268 activity as the explicit spatial demand of the task increases [1, 15]. We therefore predicted that Zif268 overexpression might be a prevalent aid to memory of the spatial location of objects. Because Zif268 deficiency impairs LTP in the dentate gyrus of the hippocampus [1], we also examined whether Zif268 overexpression would enhance dentate gyrus LTP.

## 2. Zif268 overexpressing mice

We used inducible transgenic Zif268 overexpressing mice based on the tetracycline-controlled transactivator system (rtTA2(S)-

M2), carrying a forebrain-specific CaMKII $\alpha$  promoter-rtTA2 transgene and a transgene carrying a bitetO-promoter fused to a *LacZ* reporter gene and a Zif268 open reading frame as described previously [8]. Experiments were performed blind to the genotype and in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and the French National Committee (87/848). Transgenic and control wild-type (WT) littermate mice (6–12 months old) were maintained under constant temperature and lighting conditions (22°C, 12 L : 12 D cycle) and received ad libitum doxycycline (Dox)-supplemented food prepared daily (6 mg per 100 g of wet food, West-Ward Pharmaceuticals or a generous gift from Mark Nelson, Paratek Pharmaceuticals) for at least 8 days before and then throughout the duration of the experiments to induce Zif268 overexpression. Because of the limited number of double transgenic mice available, females were used for behavioural experiments (all tested the same day) and males were used for electrophysiological measures (one per day). To confirm that there was no sex-dependent effect due to differences in Zif268 expression, we measured the level of Zif268 and targets of Zif268 in females and males. Basal levels of Zif268 ( $F_{3,21} = 1.53$ ;  $p = 0.235$ ), PSMB9 ( $F_{3,21} = 0.51$ ;  $p = 0.241$ ) and synapsin II ( $F_{3,21} = 1.51$ ;  $p = 0.241$ ) were similar in wild-type and Zif268-overexpressing females ( $n = 15$ ) and males ( $n = 10$ ).

With this protocol of Dox supplementation, analyses of  $\beta$ -galactosidase staining on brain sections [16] showed intense labelling in neocortex, hippocampus, medial caudate putamen, amygdala and piriform cortex of Zif268-overexpressing mice compared with WT mice on Dox (figure 1a). In allocortical regions such as the perirhinal and entorhinal cortices, labelling was sparse compared with the neocortical area (figure 1a). To examine expression of Zif268, we measured the density of Zif268 expressing cells in hippocampal subfields by immunofluorescence using a rabbit anti-Zif268 primary antibody (1/1000; Santa Cruz Biotechnology, CA, USA). Zif268 positive

cells were automatically counted under an Olympus BX60 microscope, coupled to a mapping software (MERCATOR PRO; Explora Nova, La Rochelle, France), in CA1, CA3 and dentate gyrus cell layers of the hippocampus (two sections per animal, inter-section intervals 280  $\mu\text{m}$ ) to estimate cell density (number of Zif268-positive cells per  $\mu\text{m}^2$ ). The volume of each layer was obtained from five sections (inter-section interval 280  $\mu\text{m}$ ) and the total number of neurons in each layer was estimated using NeuN immunohistochemistry (mouse anti-NeuN antibody, 1/2000, and goat anti-mouse antibody conjugated to Alexa 647; Molecular Probes, Eugene, OR, USA) and conventional unbiased stereological quantification methods, as described previously [17].

After Dox treatment, volumes of hippocampal subfields were indistinguishable between WT and *Zif268* overexpressing mice (CA1:  $p > 0.05$ ; CA3:  $p > 0.05$ ; dentate gyrus (DG):  $p > 0.05$ ; non-parametric Mann–Whitney comparisons, data not shown). Quantification of the number of neurons using NeuN labelling also revealed no differences between genotypes (CA1:  $p > 0.05$ ; CA3:  $p > 0.05$ ; DG:  $p > 0.05$ ; data not shown), suggesting that gross hippocampal anatomy was not affected in the transgenic mice. Analysis of basal levels of *Zif268* expression revealed a moderate (figure 1*b*), but non-significant increase in the density of Zif268-positive cells in CA1 and CA3 of *Zif268*-overexpressing mice ( $n = 5$ ) compared with WT ( $n = 4$ ) mice (CA1: Mann–Whitney  $p > 0.05$ ; CA3:  $p > 0.05$ ; figure 1*b*). In the dentate gyrus, however, a region where, in contrast to CA1 and CA3, basal expression is very low, there was a significant 2.07-fold increase in Zif268-positive cells in *zif268*-overexpressing mice (DG:  $p < 0.05$ ; figure 1*b,c*). This was confirmed by quantifying the number of Zif268-positive nuclei in relation to the total number of neurons. In the dentate gyrus, there was a near twofold increase in the proportion of Zif268-expressing neurons (WT:  $1.24 \pm 0.15\%$ ; *Zif268*-overexpressing mice (*Zif268*-over):  $2.40 \pm 0.81\%$ ;  $p < 0.05$ ), whereas in CA1/CA3, the proportion of Zif268-expressing neurons was much higher, but with a smaller and statistically non-significant increase in *Zif268*-overexpressing mice (WT:  $60.01 \pm 3.62\%$ ; *Zif268*-over:  $69.47 \pm 8.79\%$ , in CA1; WT:  $14.09 \pm 1.49\%$ ; *Zif268*-over:  $24.76 \pm 4.52\%$  in CA3). In all, these results show that, at the basal state, there is a substantial increase in Zif268 expressing neurons in the dentate gyrus in our transgenic mice under Dox treatment, and only a moderate increase in hippocampal pyramidal neurons. This, in comparison with  $\beta$ -galactosidase staining, suggests a relatively rapid turnover of Zif268 proteins in this region in the transgenic mice.

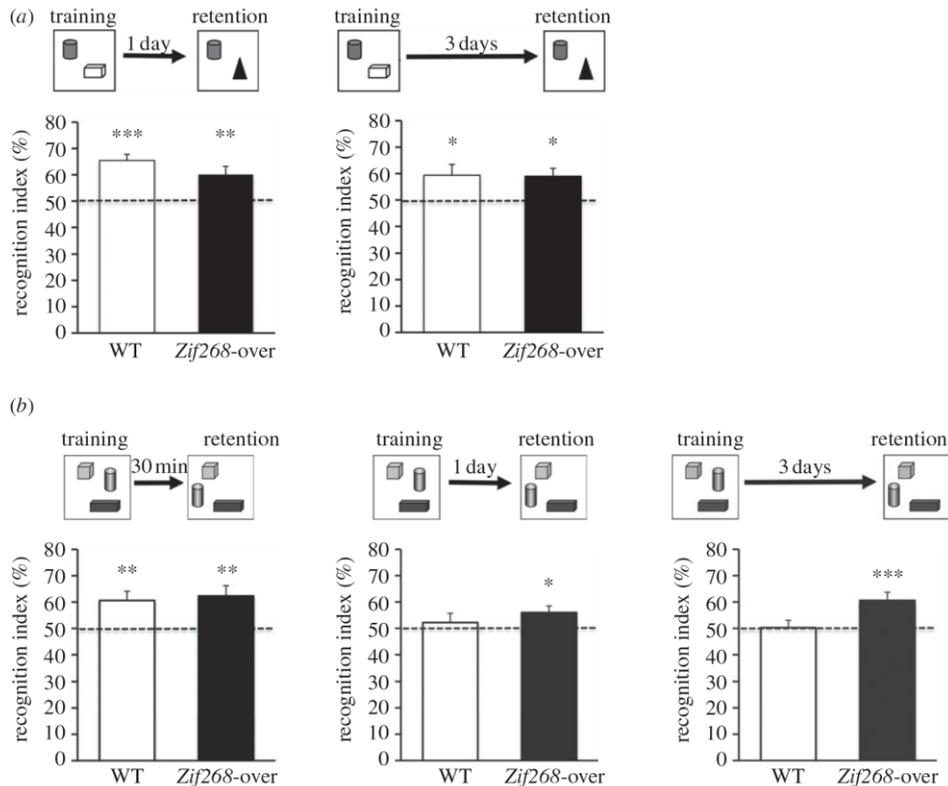
### 3. *Zif268* overexpression facilitates memory of the spatial location of objects

To determine the effect of *Zif268* overexpression on recognition memory, we first evaluated performance in an object recognition memory task using standardized procedures as previously described [1,15]. Briefly, the experimental apparatus was a black plastic square open field arena ( $45 \times 45 \times 30$  cm) with wood shavings on the floor and a cue card placed at a fixed location on the top of one of the walls of the open field to facilitate spatial mapping. It was located in a room with dim lighting and constant background noise, with a video camera mounted above the test apparatus that relayed to a video tracking system. General activity and exploratory behaviour of the animals were automatically recorded using ANY-MAZE software

(Stoelting Co., USA), and object exploration was manually scored. The criteria for exploration were based strictly on active exploration, where the mouse had both forelimbs within a circle of 4 cm around an object, head oriented towards it or touching it with its nose. Mice were handled (twice a day for 2 days) and familiarized to the empty open field (2 days) prior to the experiment. They were then allowed to explore two different objects made of wooden pieces or assembled interlocking plastic Lego pieces of different shapes and colours, for two 10-min sessions with a 10-min interval. Following a 1- or 3-day delay, one of the familiar objects was replaced with a novel object and the time spent exploring the familiar and novel objects was measured and compared with chance level. The objects and their spatial arrangement in the open field were chosen in a pseudorandom order and were counterbalanced among individuals and genotypes.

Exploratory behaviour during habituation to the open field was similar in WT and *Zif268*-overexpressing mice (total distance travelled: genotype: Student's *t*-test,  $t = 1.7$ ,  $p > 0.05$ ). Similarly, during the acquisition phase, mice of the two genotypes spent similar lengths of time exploring the two sample objects (WT: 134.7 s, *Zif268*-over: 173.9 s;  $t = 1.2$ ,  $p > 0.05$ ; data not shown), indicating no discernible effect of *Zif268* overexpression on locomotor activity or novelty-seeking behaviour. When retention was tested 1 day or 3 days after training with different sets of objects, both WT and *Zif268*-overexpressing mice explored the novel object preferentially (figure 2*a*). Statistical analyses showed that the time spent exploring the novel object was significantly above chance levels in both groups and for both retention delays, with no difference between genotypes (WT 1 day:  $t = 6.6$ ,  $p < 0.0001$ ,  $n = 13$ ; *Zif268*-over 1 day:  $t = 3.3$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ ; WT 3 days:  $t = 2.3$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 12$ ; *Zif268*-over 3 days:  $t = 3.0$ ,  $p < 0.05$ ;  $n = 9$ ).

We then assessed the performance of WT and *Zif268*-overexpressing mice in an object–place recognition memory task following procedures described previously [15,18]. In this task, three different objects were present during training (consisting of two 10-min sessions with a 10-min interval) and during the test conducted 30 min, 1 day or 3 days after training, the spatial position of one of the objects was changed, in a counterbalanced manner among individuals, to a new spatial location. The time spent exploring the displaced and non-displaced objects was measured and compared with chance level (50%, averaging the time spent exploring the two non-displaced objects). During the retention test 30 min after training, mice of both genotypes explored the displaced object above chance levels (WT:  $t = 3.0$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 11$ ; *Zif268*-over:  $t = 3.2$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ ; figure 2*b*), indicating similar level of short-term (30 min) object–place memory. WT mice showed no evidence for long-term object–place recognition memory, indicated by a similar level of exploration of the displaced and non-displaced objects, both at 1 day or 3 days post-training (WT 1 day:  $t = 0.6$ ,  $p > 0.05$ ,  $n = 20$ ; WT 3 days:  $t = 0.1$ ,  $p > 0.05$ ,  $n = 19$ ; figure 2*b*). Thus, with this more demanding task and a relatively short exposure protocol during acquisition, WT mice can form short-term but not long-term memory of the spatial location of objects, as previously observed with a similar training regime [18]. By contrast, *Zif268*-overexpressing mice still explored the displaced object significantly above chance, both 1 day and 3 days after training (*Zif268*-over 1 day:  $t = 2.4$ ,



**Figure 2.** Recognition memory in *Zif268*-overexpressing mice. (a) Schematic of the object recognition memory paradigm and retention performance of WT and *Zif268*-overexpressing (*Zif268*-over) mice 1 and 3 days after training. The histograms represent the recognition index expressed as the per cent time spent exploring the novel object over the total time of objects exploration. Both WT and *Zif268*-overexpressing mice spent significantly more time exploring the novel object at the 1 day ( $n = 13$  and  $n = 9$ , respectively) and 3 days ( $n = 12$  and  $n = 9$ , respectively) retention delays. (b) Schematic of the object–place recognition memory paradigm and retention performance of WT and *Zif268*-overexpressing mice 30 min, 1 and 3 days after training. Both WT ( $n = 11$ ) and *Zif268*-overexpressing mice ( $n = 9$ ) showed preferential exploration of the displaced object at the 30 min delay (left histograms). WT mice no longer showed a preference for the displaced object at the 1 day ( $n = 20$ ) or the 3 days ( $n = 19$ ) retention tests with the training protocol used in this study, whereas *Zif268*-overexpressing mice still spent significantly more time exploring the displaced object at both the 1 day ( $n = 16$ ) and 3 days ( $n = 16$ ) retention delays, indicating that *Zif268* overexpression facilitates the formation of long-term object–place recognition memory. The horizontal line represents equal exploration of the familiar and novel (a) or displaced (b) objects. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.005$  compared with chance.

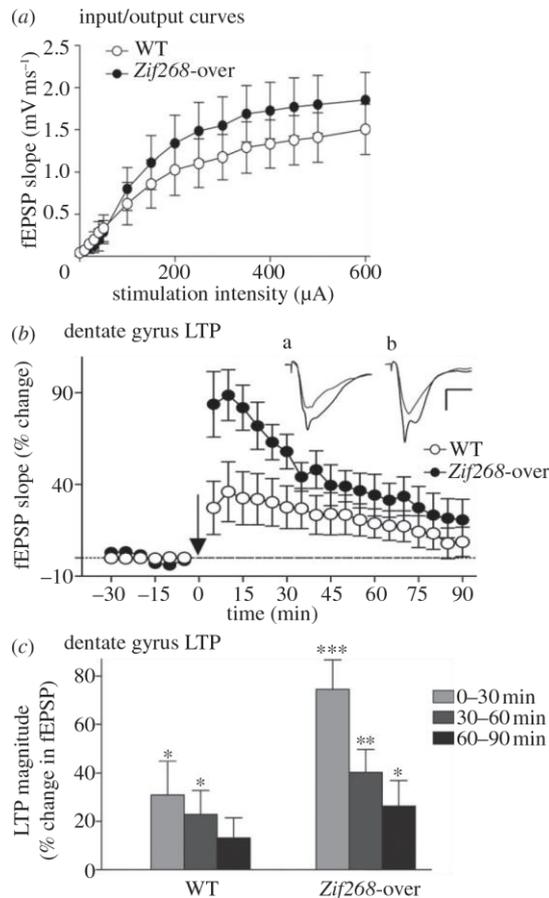
$p < 0.05$ ,  $n = 16$ ; *Zif268*-over 3 days:  $t = 3.4$ ,  $p < 0.005$ ,  $n = 16$ ; figure 2b), indicating that *Zif268* overexpression results in enhanced object–place long-term recognition memory.

#### 4. *Zif268* overexpression enhances dentate gyrus long-term potentiation

Next, we examined the effect of *Zif268* overexpression on synaptic transmission and LTP at the medial perforant path (MPP) to dentate granule cell synapses *in vivo*. Stimulation procedures and electrophysiological recordings were performed as previously described [19]. Briefly, WT and *Zif268*-overexpressing mice ( $n = 5$ –6 per group) were anaesthetized with a mixture of oxygen (Air Liquid Santé, Bonneuil-sur-Marne, France) and isoflurane (CSP Translab, Courmon, France) during surgery and throughout recordings. Animals, held in a stereotactic frame and maintained at a constant body temperature of  $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , were implanted with concentric bipolar stimulating electrodes in the perforant path (3 mm lateral to lambda, depth approximately 1.5 mm from brain surface) and a borosilicate glass micropipette recording electrode containing a

silver wire immersed in saline lowered into the dendritic layer of the ipsilateral dentate gyrus (2 mm posterior to bregma, 1.6 mm lateral, approximately 1.5 mm from brain surface). After surgery, low-frequency baseline stimuli ( $60 \mu\text{s}$  monophasic pulses, 0.033 Hz) were delivered to evoke a population field excitatory postsynaptic potential (fEPSP), stored for off-line analysis of the maximum slope of the rising phase of the fEPSP as described previously [1,19]. Analyses were performed using one- and two-way analyses of variance (ANOVA) with genotypes as between factor and intensity and time as within factors. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ . Significant main effects were further analysed by post hoc comparisons of means using Student–Newman–Keuls tests.

After a stable response was established, input–output (I/O) curves were generated using a range of stimulus intensities (0–600  $\mu\text{A}$ ; three responses for each intensity). I/O curves in both WT ( $n = 6$ ) and *Zif268*-overexpressing mice ( $n = 5$ ) showed a typical increase in the fEPSP with increasing stimulus strength (figure 3a). The slope of the fEPSP increased significantly with intensity for all mice ( $F_{15,135} = 40.47$ ,  $p < 0.0001$ ), and although the I/O curve in *Zif268*-overexpressing mice was slightly above that of the WT mice (figure 3a), no significant difference



**Figure 3.** Synaptic transmission and plasticity in the dentate gyrus of *Zif268*-overexpressing mice. (a) The graph plots stimulus–response relationships at MPP–granule cell synapses using a range of stimulation intensities (0–600  $\mu\text{A}$ ) in anaesthetized WT and *Zif268*-overexpressing mice (*Zif268-over*). Each data point is an average of fEPSP slope values from three responses (abscissa in the log scale). No significant change in the I/O relationship was observed between WT (open circles,  $n = 6$ ) and *Zif268*-overexpressing mice (filled circles,  $n = 5$ ). (b,c) Dentate gyrus LTP in WT and *Zif268*-overexpressing mice. (b) Time course of LTP induced at MPP–granule cell synapses (WT: open circles,  $n = 6$ ; *Zif268-over*: filled circles,  $n = 5$ ). Responses were recorded for 30 min before and 90 min after the tetanus (arrow) to the MPP. Each data point is an average of 10 consecutive responses recorded over 5 min. All mice showed significant potentiation of fEPSP slope after tetanic stimulation. Inserts are sample waveforms from a WT (a) and a *Zif268*-overexpressing mouse (b) recorded before (grey line) and 10 min after tetanic stimulation (black line). Scale bars, 1.5 mV; 10 ms. (c) Per cent potentiation of the fEPSP over three 30 min periods post-tetanus. LTP in *Zif268*-overexpressing mice was of a higher magnitude and lasted longer than in WT mice. Significant difference from baseline: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.005$ .

was observed (genotype effect:  $F_{1,135} = 0.45$ ,  $p > 0.05$ ; genotype  $\times$  intensity interaction:  $F_{15,135} = 1.01$ ,  $p > 0.05$ ), indicating normal basal synaptic transmission in the transgenic mice.

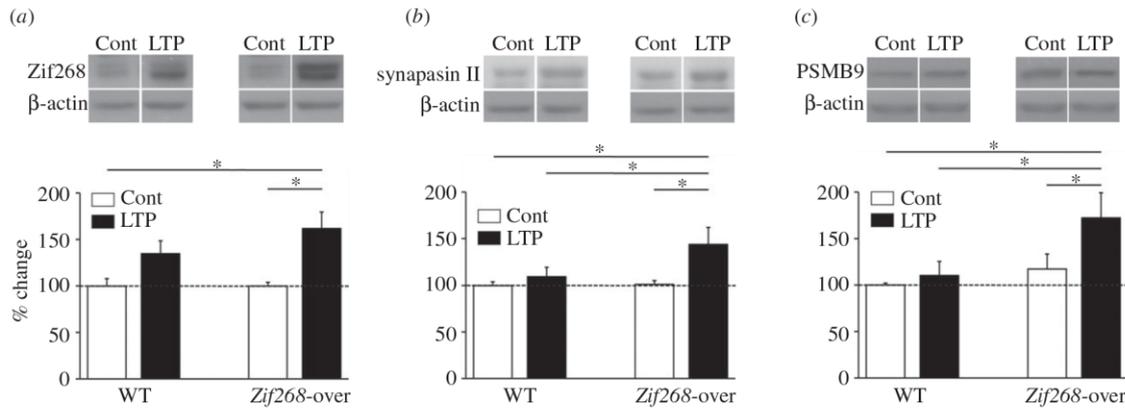
We then examined LTP in the same mice. To this end, test stimuli were delivered at 0.033 Hz for 30 min at an intensity to evoke an fEPSP slope at 50% of maximum, to establish a baseline. A tetanus was then delivered to the MPP, which consisted of six series of six trains of six stimuli at 400 Hz, 200 ms between trains, 20 s between series [1,19]. Pulse-width was doubled during the tetanus. After the tetanus, low-frequency

stimulation was resumed for 90 min. The stimulus intensity used in both groups of mice was comparable between genotypes (WT:  $235 \pm 49 \mu\text{A}$ ; *Zif268-over*:  $218 \pm 47 \mu\text{A}$ ; genotype effect:  $F_{1,9} = 0.058$ ;  $p > 0.05$ ), as was the mean fEPSP slope values during baseline (WT:  $1.14 \pm 0.14 \text{ mV ms}^{-1}$ ; *Zif268-over*:  $0.79 \pm 0.16 \text{ mV ms}^{-1}$ ; genotype effect:  $F_{1,9} = 2.875$ ;  $p > 0.05$ ). Tetanic stimulation of the MPP resulted in a robust, long-lasting potentiation of the fEPSP slope in both groups (figure 3b). Immediately after the tetanus, however, the magnitude of potentiation of the fEPSP measured during the first 5 min was significantly enhanced in *Zif268*-overexpressing mice compared with WT mice (WT:  $27.26 \pm 14.53\%$ ; *Zif268-over*:  $83.71 \pm 17.84\%$ ; genotype effect:  $F_{1,9} = 6.16$ ,  $p < 0.05$ ). Potentiation of the fEPSP remained above that of WT mice for the duration of recording, although the magnitude of LTP decreased progressively for both genotypes (time effect:  $F_{17,153} = 21.26$ ,  $p < 0.0001$ ; genotype  $\times$  time interaction:  $F_{17,153} = 5.53$ ,  $p < 0.0001$ ; figure 3b). Analysis of the averaged magnitude of fEPSP potentiation across successive 30 min periods post-tetanus (figure 3c) revealed significant effects of genotype ( $F_{1,36} = 7.57$ ,  $p < 0.01$ ) and time ( $F_{3,36} = 10.75$ ,  $p < 0.0001$ ). In WT mice, potentiation of the fEPSP was significantly above baseline for up to 60 min (0–30 min:  $F_{1,10} = 4.96$ ,  $p < 0.05$ ; 30–60 min:  $F_{1,10} = 5.33$ ,  $p < 0.05$ ), but not thereafter, whereas it remained significantly above baseline for the duration of recording in *Zif268*-overexpressing mice (0–30 min:  $F_{1,8} = 37.28$ ,  $p < 0.0005$ ; 30–60 min:  $F_{1,8} = 18.66$ ,  $p < 0.005$ ; 60–90 min:  $F_{1,8} = 6.15$ ,  $p < 0.05$ ). Thus, these results indicate that *Zif268* overexpression does not change basal synaptic transmission but increases the magnitude and prolongs the duration of LTP in the dentate gyrus *in vivo*.

## 5. *Zif268* overexpression increases activity-dependent expression of ZIF268 and target genes

LTP is associated with the activation of several intracellular signalling pathways, some of which direct rapid and transient activation of transcription factors, among them *Zif268*, leading to the expression of specific gene programmes. We therefore examined whether and to what extent LTP in *Zif268*-overexpressing mice would lead to enhanced activation of selected *Zif268* target proteins. For this, the dentate gyri ipsilateral and contralateral to the site of LTP induction were removed 3 h after LTP induction in WT ( $n = 5$ ) and *Zif268*-overexpressing ( $n = 5$ ) mice, a time point associated with activation of several LTP-associated genes [20,21]. We selected two downstream targets of *Zif268*, synapsin II and the proteasome 20S  $\beta$ -subunit PSMB9 (LMP2), a subunit of the proteasome belonging to the multisubunit catalytic core of the proteolytic machinery [22], to examine their expression following LTP. Both genes possess *Zif268* binding sites on their promoter regions [23–25]. Dentate gyrus tissue was processed for western blotting as described previously [26], using anti-synapsin II (1/15000 in TBST BSA 5%, Abcam, France) and anti-PSMB9 (1/1000 in TBST BSA 5%, Abcam, France) antibodies. We also examined *Zif268* expression using anti-*Zif268* antibodies (1/1000 in TBST BSA 5%, Cell Signalling, Ozyme, France). Protein values were normalized first to actin and then calculated as a per cent change from the contralateral side of the *Zif268* WT mice.

Overall analysis of variance (ANOVA) showed a significant difference in the expression of *Zif268* between groups



**Figure 4.** LTP-induced expression of *Zif268*, synapsin II and the proteasome 20S  $\beta$ -subunit PSMB9 in *Zif268*-overexpressing mice. (a) *Zif268*, (b) synapsin II and (c) PSMB9 protein expression was measured by western blotting from the dentate gyrus taken 3 h after induction of LTP (LTP side) and from the contralateral (non-stimulated) side (Cont). Data for each protein and genotype are normalized to the reference protein  $\beta$ -actin and expressed as a per cent change relative to protein levels in the control side of WT mice. There was a trend towards an increase in *Zif268*, but not synapsin II or PSMB9 expression after LTP in WT mice, and a higher and significant increase of all three proteins after LTP in *Zif268*-overexpressing mice (*Zif268*-over). Sample western blots of each protein and actin are represented above the histograms. \* $p < 0.05$ .

( $F_{3,16} = 6.19$ ;  $p < 0.01$ ; figure 4a). In the control, non-stimulated dentate gyrus contralateral to the site of LTP induction, there was no significant difference between genotypes (Fisher's post hoc  $p > 0.05$ ). This probably reflects the impracticality of western blotting from whole dentate gyrus tissue to detect small increases in the number of *Zif268*-positive neurons in this region, compared with quantification of immunolabelled neurons. Following LTP, there was a small but not significant increase in expression of *Zif268* in WT mice (LTP versus control side, Fisher's post hoc  $p > 0.05$ ; figure 4a) as expected at this relatively late time point [7]. By contrast, in *Zif268*-overexpressing mice, the increase in *Zif268* expression 3 h following LTP reached a high level, significantly above that of the control, non-stimulated sides of the WT and *Zif268*-overexpressing mice (*Zif268*-over: LTP versus control side,  $p < 0.05$ ; *Zif268*-over LTP side versus WT control side,  $p < 0.05$ ; figure 4a). Overall, while our *Zif268*-overexpressing mouse line shows a significant but moderate increase in the number of *Zif268*-expressing dentate gyrus neurons at basal levels (figure 1), a major feature is an enhanced capacity for activity-dependent expression of *Zif268*.

Analyses of synapsin II and PSMB9 expression revealed significant differences between genotypes for both proteins ( $F_{3,16} = 3.68$ ;  $p < 0.05$  and  $F_{3,16} = 3.43$ ;  $p < 0.05$ , respectively). In WT mice, there were no significant changes in synapsin II or PSMB9 protein levels after induction of LTP (WT mice: LTP versus control side, Fisher's post hoc  $p > 0.05$  for each protein; figure 4b,c). However, in *Zif268*-overexpressing mice, which displayed large overexpression of *Zif268* after LTP, LTP resulted in a significant increase in both synapsin II and PSMB9 expression (*Zif268*-over: LTP versus control side, Fisher's post hoc  $p < 0.05$  for each protein; figure 4b,c), suggesting that *Zif268* overexpression can boost regulation of target genes in an activity-dependent manner.

## 6. Discussion

The evidence to date suggests that rapid regulation of the expression of IEGs encoding inducible, regulatory transcription factors is a key mechanism of the genomic response underlying

synaptic plasticity and the modification of neural networks required for the stabilization of memories. In neurons activated by learning, these transcriptional events are thought to mediate the activation of selective gene programmes and subsequent synthesis of proteins, leading to stable functional and structural remodelling of the activated networks, so that the memory can later be reactivated upon recall. Over the last decades, novel insights have been gained in identifying key transcriptional regulators that can control the genomic response of synaptically activated neurons. Here, as an example of this approach, we focused on one such activity-dependent transcription factor, *Zif268*, known to be implicated in neuronal plasticity and memory formation. Whereas targeted deletion of the *Zif268* gene results in profound impairments of several forms of long-term memory, including a fundamental memory ability, recognition memory [1,2,15,27], here we report that overexpression of *Zif268* in forebrain neurons in mice is sufficient to augment the mice's ability to form a long-lasting spatial recognition memory. These findings, together with the demonstration that *Zif268* overexpression can slow down extinction of conditioned taste aversion [8], clearly add to the growing evidence that *Zif268* brain expression is an important factor for establishing stable long-lasting memories.

Interestingly, in previous experiments we showed that half the complement of *Zif268* in heterozygous mutant mice is not sufficient to allow the formation of a memory for the spatial location of objects as heterozygous mice are impaired in this task, however it is sufficient to form a memory of the nature of the objects [15]. Mirroring this, overexpression of *Zif268* leads to enhancement of the more demanding memory for the spatial location of objects, but not to improvement of object memory over and above that observed in WT mice. As discussed in detail previously, object recognition memory engages the perirhinal cortex [12] and the hippocampus with varying degree of requirement depending on the experimental conditions of the task, in particular the complexity and richness of the spatial context during objects exploration and their consequences on the ability to form spatial configurations, associative relationships between items and objects–scene relationships [3, 9–11]. The formation of object memory also recruits several of the same cellular and molecular mechanisms

in both structures (reviewed in [3,12]). Our  $\beta$ -galactosidase expression results, however, suggest moderate, if any, overexpression of *Zif268* in the perirhinal cortex. This may explain the apparent absence of enhancement of novel object recognition memory in our experimental conditions. However, it remains possible that the absence of improvement of object recognition memory, at least within the limit of 3 days after the mice first encountered the objects, is simply due to a ceiling effect, the control mice displaying robust long-term object memory at this delay. Alternatively, it is also possible that object memory is less sensitive to variations in *Zif268* expression, as exemplified by the absence of deficit in this task in *Zif268* heterozygous mice [1].

Spatial recognition memory places higher demands on hippocampal processing of information and *Zif268* heterozygous mice display as much impairment in spatial memory as *Zif268* homozygous mutant mice, while they are less impaired in tasks that do not place a high demand on hippocampal function [1], suggesting hippocampal functions are highly dependent on *Zif268* gene expression dosage. In support of this idea, it has been shown in contextual fear conditioning that partial knockdown (by approx. 66%) of *Zif268* by injection of antisense oligodesoxynucleotides in the hippocampus is insufficient to affect consolidation of contextual fear memory, but impairs its reconsolidation after recall [28], a memory process that is more vulnerable to interfering treatments than initial consolidation (see [29] for a review). The ubiquitin–proteasome system has also been involved in reconsolidation processes and during updating of memory content [30,31]. Furthermore, in a context pre-exposure facilitation paradigm, *Zif268* downregulation was shown to prevent updating of the hippocampal memory content when new information present at recall is linked to the retrieved memory [31]. These findings, together with the present results with *Zif268* overexpression, highlight the importance of *Zif268* gene expression dosage in determining the strength of memory in relation to task difficulty and cognitive demand.

Our results using conditional mice overexpressing *Zif268* in several structures of the forebrain cannot address precisely the issue of structure-specificity. However, the above findings all suggest a high sensitivity of hippocampal functions to *Zif268* gene expression dosage and thus lead to the proposal that in spatial/contextual and relational memory tasks, hippocampal *Zif268* expression levels become increasingly vital for the hippocampal component of the memory trace. In this brain area, in particular in the dentate gyrus, the extent of *Zif268* expression after LTP correlates with the persistence of LTP [32,33] and LTP in *Zif268* knockout mice cannot be maintained over 24 h, a phenotype found in both homozygous and heterozygous *Zif268* mutant mice [1]. Mirroring this, we now report that dentate gyrus LTP, but not basal synaptic transmission, is enhanced under conditions of *Zif268* overexpression, although in this case even the induction phase of LTP was enhanced, suggesting that *Zif268* overexpression may modify expression of as yet unknown molecular/cellular synaptic components involved in induction of LTP. In the continuing debate about the role of LTP mechanisms in memory, these findings provide an important complement to the suggestion that synaptic changes brought about by LTP and during memory consolidation and storage share, at least in part, common underlying molecular mechanisms.

Mechanistically, exploration of objects in an arena is associated with the slow development of NMDA receptor-

dependent synaptic potentiation in the hippocampus that can be occluded by prior induction of LTP, resulting in recognition memory deficits [13]. At the molecular level, several canonical cell-signalling cascades are activated (reviewed in [3,34]), including the MAP kinase cascade [26] known to be instrumental for LTP-induced regulation of *Zif268* [35]. Further, expression of *Zif268* is rapidly induced in the dentate gyrus of the hippocampus following spatial exploration of objects [14]. Here, we also found enhanced or prolonged LTP-induced expression both of *Zif268* itself and of two *Zif268* target genes in *Zif268*-overexpressing mice, suggesting that increasing the levels of *Zif268* increases the capacity for activity-dependent regulation of downstream gene programmes. Synapsin II contributes to regulation of transmitter release whereas PSMB9 is part of the ubiquitin–proteasome system. Although we observed a significant upregulation of these two target proteins and of *Zif268* in overexpressing mice 3 h following the induction of LTP, this is not the case in WT mice. It is possible that the time post-LTP is not the optimal window in which to detect significant changes in expression of these proteins in WT mice and that, as for *Zif268* itself, the observed changes in synapsin II and PSMB9 expression reflect a prolonged wave of expression following LTP in *Zif268*-overexpressing mice. In the absence of evidence clearly documenting the time course of regulation of these proteins following induction of LTP, we cannot rule out, however, the possibility that they may be functionally regulated by alternative signalling pathways when *Zif268* is overexpressed. Although the precise mechanisms by which *Zif268* overexpression facilitates LTP and long-term spatial recognition memory are unknown, the increased neuronal capacity to regulate *Zif268* downstream gene programmes may be one mechanism underlying the enhancement of LTP and the facilitation of the formation of a long-term recognition memory. Although several potential *Zif268* target genes bearing ERE consensus sequences on their promoter regions have been suggested [23,25,36], characterizing the selective gene programmes controlled by *Zif268* in relation to learning and memory remains a challenge for future research.

There is also accumulating evidence that transcriptional changes underlying long-term memory are supported by epigenetic modifications across diverse brain regions, including DNA methylation and posttranslational modifications of histone tails such as phosphorylation, acetylation and methylation [37]. Several findings suggest an important role of *Zif268* in experience-dependent epigenetic mechanisms that underlie memory. For example, regulation of histone methylation at the *Zif268* promoter can facilitate contextual fear memory [38], histone H4 acetylation at the *Zif268* promoter correlates with *Zif268* expression in the hippocampus [39] and histone acetylation critically modulates object recognition memory consolidation [40]. Furthermore, exploration of objects was recently shown to trigger rapid phosphorylation, acetylation and methylation of histones at the *Zif268* promoter in the hippocampus and the prefrontal cortex [41]. Blocking these epigenetic marks at the *Zif268* promoter impairs recognition memory, while their enhancement by intensive training or by transgenic intervention favours recognition memory [41]. Finally, *Zif268* can mediate epigenetic programming via DNA methylation and histone posttranslational modifications to influence downstream gene regulation [42,43]. Down-regulation of *Zif268* has been observed in ageing or certain diseases leading to cognitive deficits [44–46]. Selective intervention on these epigenetic mechanisms at the *Zif268*

promoter to enhance its expression could be one promising tool for attempting to rescue certain cognitive deficiencies.

**Acknowledgements.** The authors are grateful to Mark L. Nelson for the generous gift of doxycycline.

**Funding statement.** This work was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, France), University Paris-Sud (France), by a grant from the Agence Nationale de la Recherche (ANR-06-NEURO-020-01) to S.L. and by a fellowship from Neuropôle de Recherche Francilien (NeRF IF-08-1699/R) to E.M.

## References

- Jones MW *et al.* 2001 A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and the consolidation of long-term memories. *Nat. Neurosci.* **4**, 289–296. (doi:10.1038/85138)
- Bozon B, Kelly A, Josselyn SA, Silva AJ, Davis S, Laroche S. 2003 MAPK, CREB and *zif268* are all required for the consolidation of recognition memory. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **358**, 805–814. (doi:10.1098/rstb.2002.1224)
- Davis S, Renaudineau S, Poirier R, Poucet B, Save E, Laroche S. 2010 The formation and stability of recognition memory: what happens upon recall? *Front. Behav. Neurosci.* **4**, 177. (doi:10.3389/fnbeh.2010.00177)
- Renaudineau S, Poucet B, Laroche S, Davis S, Save E. 2009 Impaired long term stability of CA1 place cell representation in mice lacking the transcription factor *zif268/egr1*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**, 11 771–11 775. (doi:10.1073/pnas.0900484106)
- Davis S, Bozon B, Laroche S. 2003 How necessary is the activation of the immediate early gene *zif268* in synaptic plasticity and learning? *Behav. Brain Res.* **142**, 17–30. (doi:10.1016/S0166-4328(02)00421-7)
- Knapaska E, Kaczmarek L. 2004 A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: *Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK?* *Progr. Neurobiol.* **74**, 183–211. (doi:10.1016/j.pneurobio.2004.05.007)
- Cheval H, Chagneau C, Levasseur G, Veyrac A, Faucon-Biguat N, Laroche S, Davis S. 2012 Distinctive features of *Egr* transcription factor regulation and DNA binding activity in CA1 of the hippocampus in synaptic plasticity and consolidation and reconsolidation of fear memory. *Hippocampus* **22**, 631–642. (doi:10.1002/hipo.20926)
- Baumgartel K, Genoux D, Welzl H, Tweedie-Cullen RY, Koshibu K, Livingstone-Zatchej M, Mamie C, Mansuy IM. 2008 Control of the establishment of aversive memory by calcineurin and *Zif268*. *Nat. Neurosci.* **11**, 572–578. (doi:10.1038/nn.2113)
- Brown MW, Aggleton JP. 2001 Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat. Rev. Neurosci.* **2**, 51–61. (doi:10.1038/35049064)
- Jenkins TA, Amin E, Pearce JM, Brown MW, Aggleton JP. 2004 Novel spatial arrangements of familiar visual stimuli promote activity in the rat hippocampal formation but not the parahippocampal cortices: a *c-fos* expression study. *Neuroscience* **124**, 43–52. (doi:10.1016/j.neuroscience.2003.11.024)
- Eichenbaum H, Yonelinas AR, Ranganath C. 2007 The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu. Rev. Neurosci.* **30**, 123–152. (doi:10.1146/annurev.neuro.30.051606.094328)
- Winters BD, Saksida LM, Bussey TJ. 2008 Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **32**, 1055–1070. (doi:10.1016/j.neubiorev.2008.04.004)
- Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM. 2010 Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107**, 2652–2657. (doi:10.1073/pnas.0915059107)
- Soulé J, Penke Z, Alme MN, Kanhema T, Laroche S, Bramham CR. 2008 Object–place recognition learning triggers rapid induction of plasticity-related immediate early genes and synaptic proteins in the rat dentate gyrus. *Neural Plasticity* **2008**, 1–12. (doi:10.1155/2008/269097)
- Bozon B, Davis S, Laroche S. 2002 Regulated transcription of the immediate early gene *Zif268*: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* **12**, 570–577. (doi:10.1002/hipo.10100)
- Michalon A, Koshibu K, Baumgartel K, Spirig DH, Mansuy IM. 2005 Inducible and neuron-specific gene expression in the adult mouse brain with the rTA25-M2 system. *Genesis* **43**, 205–212. (doi:10.1002/gene.20175)
- Veyrac A, Reibel S, Sacquet A, Mutin M, Camdessan JP, Kolattukudy P, Honnorat J, Jourdan F. 2011 CRMP5 regulates generation and survival of newborn neurons in olfactory and hippocampal neurogenic areas. *PLoS ONE* **6**, e23721. (doi:10.1371/journal.pone.0023721)
- Poirier R, Cheval H, Mailhes C, Charnay P, Davis S, Laroche S. 2007 Paradoxical role of an *Egr* transcription factor family member, *Egr2/Krox20*, in learning and memory. *Front. Behav. Neurosci.* **1**, 6. (doi:10.3389/neuro.08.006.2007)
- Errington ML, Bliss TVP, Morris RJ, Laroche S, Davis S. 1997 Long-term potentiation in awake mutant mice. *Nature* **387**, 666–667. (doi:10.1038/42625)
- Ryan MM, Ryan B, Kyrke-Smith M, Logan B, Tate WP, Abraham WC, Williams JM. 2012 Temporal profiling of gene networks associated with the late phase of long-term potentiation *in vivo*. *PLoS ONE* **7**, e40538. (doi:10.1371/journal.pone.0040538)
- Thomas KL, Laroche S, Errington ML, Bliss TVP, Hunt SP. 1994 Spatial and temporal changes in signal transduction pathways during LTP. *Neuron* **13**, 737–745. (doi:10.1016/0896-6273(94)90040-X)
- Kloetzel PM. 2001 Antigen processing by the proteasome. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2**, 179–187. (doi:10.1038/35056572)
- James AB, Conway AM, Morris BJ. 2005 Genomic profiling of the neuronal target genes of the plasticity-related transcription factor *Zif268*. *J. Neurochem.* **95**, 796–810. (doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03400.x)
- James AB, Conway AM, Morris BJ. 2006 Regulation of the neuronal proteasome by *Zif268* (*Egr1*). *J. Neurosci.* **26**, 1624–1634. (doi:10.1523/JNEUROSCI.4199-05.2006)
- Petersohn D, Schoch S, Brinkmann DR, Thiel G. 1995 The human synapsin II gene promoter. Possible role for the transcription factor *zif268/egr-1*, polyoma enhancer activator 3, and AP2. *J. Biol. Chem.* **270**, 24 361–24 369.
- Kelly A, Laroche S, Davis S. 2003 Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory. *J. Neurosci.* **12**, 5354–5360.
- Bozon B, Davis S, Laroche S. 2003 A requirement for the immediate early gene *zif268* in reconsolidation of recognition memory after retrieval. *Neuron* **40**, 695–701. (doi:10.1016/S0896-6273(03)00674-3)
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL. 2004 Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* **304**, 839–843. (doi:10.1126/science.1095760)
- Besnard A, Caboche J, Laroche S. 2012 Reconsolidation of memory: a decade of debate. *Progr. Neurobiol.* **99**, 61–80. (doi:10.1016/j.pneurobio.2012.07.002)
- Lee SH *et al.* 2008 Synaptic protein degradation underlies destabilization of retrieved fear memory. *Science* **319**, 1253–1256. (doi:10.1126/science.1150541)
- Lee JL. 2010 Memory reconsolidation mediates the updating of hippocampal memory content. *Front. Behav. Neurosci.* **4**, 168. (doi:10.3389/fnbeh.2010.00168)
- Abraham WC, Mason SE, Demmer J, Williams JM, Richardson CL, Tate WP, Lawlor PA, Dragunow M. 1993 Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* **56**, 717–727. (doi:10.1016/0306-4522(93)90369-0)
- Richardson CL, Tate WP, Mason SE, Lawlor PA, Dragunow M, Abraham WC. 1992 Correlation between the induction of an immediate early gene, *zif/268*, and long-term potentiation in the dentate gyrus. *Brain Res.* **580**, 147–154. (doi:10.1016/0006-8993(92)90938-6)
- Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. 2002 The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci.*

- Biobehav. Rev.* **31**, 673–704. (doi:10.1016/j.neubiorev.2007.01.005)
35. Davis S, Vanhoutte P, Pages C, Caboche J, Laroche S. 2000 The MAPK/ERK cascade targets both elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus *in vivo*. *J. Neurosci.* **20**, 4563–4572.
  36. Baumgartel K, Tweedie-Cullen RY, Grossmann J, Gehrig P, Livingstone-Zatchej M, Mansuy IM. 2009 Changes in the proteome after neuronal *Zif/268* overexpression. *J. Prot. Res.* **8**, 3298–3316. (doi:10.1021/pr801000r)
  37. Zovkic IB, Guzman-Karlsson MC, Sweatt JD. 2013 Epigenetic regulation of memory formation and maintenance. *Learn. Mem.* **20**, 61–74. (doi:10.1101/lm.026575.112)
  38. Gupta S, Kim SY, Artis S, Molfese DL, Schumacher A, Sweatt JD, Paylor RE, Lubin FD. 2010 Histone methylation regulates memory formation. *J. Neurosci.* **30**, 3589–3599. (doi:10.1523/JNEUROSCI.3732-09.2010)
  39. Xie L, Korkmaz KS, Braun K, Bock J. 2013 Early life stress-induced histone acetylations correlate with activation of the synaptic plasticity genes *Arc* and *Egr1* in the mouse hippocampus. *J. Neurochem.* **125**, 457–464. (doi:10.1111/jnc.12210)
  40. Zhao Z, Fan L, Fortress AM, Boulware MI, Frick KM. 2012 Hippocampal histone acetylation regulates object recognition and the estradiol-induced enhancement of object recognition. *J. Neurosci.* **32**, 2344–2351. (doi:10.1523/JNEUROSCI.5819-11.2012)
  41. Gräff J, Woldemichael BT, Berchtold D, Dewarrat G, Mansuy IM. 2012 Dynamic histone marks in the hippocampus and cortex facilitate memory consolidation. *Nat. Commun.* **3**, 991. (doi:10.1038/ncomms1997)
  42. Weaver IC, D'Alessio AC, Brown SE, Hellstrom IC, Dymov S, Sharma S, Szyf M, Meaney MJ. 2007 The transcription factor nerve growth factor-inducible protein A mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes. *J. Neurosci.* **27**, 1756–1768. (doi:10.1523/JNEUROSCI.4164-06.2007)
  43. Xiong F, Xiao D, Zhang L. 2012 Norepinephrine causes epigenetic repression of *PKC $\epsilon$*  gene in rodent hearts by activating Nox1-dependent reactive oxygen species production. *FASEB J.* **26**, 2753–2763. (doi:10.1096/fj.11-199422)
  44. Blalock EM, Chen KC, Sharrow K, Herman JP, Porter NM, Foster TC, Landfield PW. 2003 Gene microarrays in hippocampal aging: statistical profiling identifies novel processes correlated with cognitive impairment. *J. Neurosci.* **23**, 3807–3819.
  45. Dickey CA, Loring JF, Montgomery J, Gordon MN, Eastman PS, Morgan D. 2003 Selectively reduced expression of synaptic plasticity-related genes in amyloid precursor protein+presenilin-1 transgenic mice. *J. Neurosci.* **23**, 5219–5226.
  46. Gersten M, Alirezai M, Marcondes MC, Flynn C, Ravasi T, Ideker T, Fox HS. 2009 An integrated systems analysis implicates *EGR1* downregulation in simian immunodeficiency virus encephalitis-induced neural dysfunction. *J. Neurosci.* **29**, 12 467–12 476. (doi:10.1523/JNEUROSCI.3180-09.2009)



## Résumé

La neurogenèse adulte du gyrus denté de l'hippocampe joue un rôle essentiel dans les processus mnésiques dépendants de l'hippocampe, mais son rôle dans des formes complexes de mémoire comme la mémoire épisodique n'a jamais été exploré. Le travail de cette thèse porte sur l'étude de l'implication des nouveaux neurones de l'hippocampe dans la mise en mémoire d'un souvenir épisodique à long terme. Nous avons développé une nouvelle tâche de mémoire épisodique reposant sur la présentation occasionnelle d'épisodes permettant d'encoder des informations de type « Quoi – Où – Dans quel contexte ». Nous montrons pour la première fois que les rats sont capables de se souvenir à très long terme de brefs épisodes de vie et d'utiliser cette mémoire d'une manière flexible. La caractérisation des profils de rétention permet d'accéder aux capacités individuelles de recollection des différents éléments du souvenir et montre que le rappel fiable de la mémoire épisodique nécessite l'intégrité de l'hippocampe et met en jeu un vaste réseau hippocampo-cortical dont l'activation est corrélée au rappel. Les performances de rats soumis à une irradiation focale de l'hippocampe montrent que la neurogenèse adulte hippocampique contribue de façon significative à la consolidation et au rappel fiable du souvenir épisodique. Ces résultats sont discutés dans le cadre d'une implication de la neurogenèse adulte dans la résolution de la mise en mémoire d'événements occasionnels dans le but de discriminer deux épisodes de vie proches, en lien avec les fonctions de séparation et de complétion de patterns de l'hippocampe. Par ailleurs, les mécanismes moléculaires qui sous-tendent le recrutement des nouveaux neurones lors d'un apprentissage restent inconnus. Nous avons analysé le rôle du gène immédiat précoce *Zif268*, acteur moléculaire essentiel dans les processus mnésiques, et montrons que ce gène joue un rôle crucial dans la sélection et le recrutement des nouveaux neurones lors de la mémorisation au cours de leur période critique d'intégration dans les réseaux neuronaux de l'hippocampe. Ce travail apporte des éléments nouveaux sur la participation des nouveaux neurones hippocampiques dans les processus mnésiques dans une situation à forte demande cognitive basée sur l'encodage d'une représentation intégrée et résolue d'événements occasionnels complexes, ainsi que sur les mécanismes qui sous-tendent leur recrutement.

**Mots clés** : Neurogenèse adulte, Hippocampe, Mémoire épisodique, Résolution mnésique, *Zif268*

---

## Abstract

Adult hippocampal neurogenesis plays a critical role in hippocampal-dependent memory, however its role in complex forms of memory such as episodic memory has not as yet been explored. The work presented in this thesis focuses on the issue of the involvement of newborn hippocampal neurons in long term episodic memory. We developed a new episodic memory task based on the presentation of occasional episodes allowing rats to encode "What – Where – In which context" information. We show for the first time that rats are able to remember on the long term brief past episodes of life and to use their episodic memory in a flexible manner. The characterization of retention profiles allows us to identify individual abilities in the recollection of the various elements of the memory and shows that episodic memory recall requires the integrity of the hippocampus and involves a hippocampo-cortical network, the activation of which correlates with recall performance. Performance of rats subjected to focal irradiation of the hippocampus shows that adult hippocampal neurogenesis contributes significantly to the consolidation and faithful recall of episodic memory. These results are discussed in the context of the implication of hippocampal newborn neurons in the resolution of memories of occasional events in order to discriminate different, but closely related episodes of life in relation to pattern separation and pattern completion functions of the hippocampus. Furthermore, the molecular mechanisms underlying the recruitment of newborn hippocampal neurons by learning remain to date unknown. We investigated the role of *Zif268*, an immediate early gene known to play an essential role in memory processes, and show that this gene plays a crucial role in the selection and recruitment of newborn hippocampal neurons by learning during their critical period of integration in hippocampal neural networks. Overall, this work brings new knowledge on the contribution of newborn hippocampal neurons to memory processes in a highly demanding cognitive situation based on the encoding of an integrated and high-resolution representation of complex occasional events, and on the mechanisms underlying their recruitment.

**Keywords** : Adult neurogenesis, Hippocampus, Episodic memory, Memory resolution, *Zif268*