



HAL
open science

Évolution des approches de la neurogénèse hippocampique

Sébastien Habé

► **To cite this version:**

Sébastien Habé. Évolution des approches de la neurogénèse hippocampique. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01326186

HAL Id: dumas-01326186

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01326186>

Submitted on 3 Jun 2016

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 de Bordeaux

U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse n° 73

Thèse pour l'obtention du

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 24 mai 2016 à Bordeaux

Par **Sébastien HABÉ**

Né le 16 mai 1990 à Tours

Évolution des approches de la neurogénèse hippocampique

Directrice de thèse

Docteur Anne Taupignon

Jury

Pr B. MULLER, Professeur des Universités – Université de Bordeaux	Président
Dr A. TAUPIGNON, Maître de conférence – Université de Bordeaux	Membre
Dr T. MARTIN, Docteur en Pharmacie – Pharmacien d'officine	Membre
Dr F. ALEXANDRE, Directeur de recherche – INRIA	Membre
Dr L. VERRET, Maître de conférence – Université Toulouse III Paul Sabatier	Membre

Résumé

Ces 50 dernières années ont été marquées par la découverte d'une genèse de neurones tout au long de la vie chez les mammifères, dans plusieurs structures cérébrales dont l'hippocampe.

Des dysfonctionnements de cette neurogénèse hippocampique sont associés à différents troubles neurologiques et psychiatriques (épilepsie, addiction, troubles affectifs etc.). Certaines thérapeutiques, dont les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine ou les antidépresseurs tricycliques, sont étudiées pour leur impact sur ce phénomène, de même que certains facteurs environnementaux (interaction sociale, activité physique, stress).

Ce travail comporte les principaux éléments historiques ayant abouti à l'établissement de l'existence d'une neurogénèse adulte chez les mammifères, dont l'humain, ainsi que les différentes approches de l'étude de celle-ci, en vue de montrer que ce phénomène est extrêmement intégré et qu'il nécessite donc une approche globale, tenant compte des interactions interneuronales et interstructurales.

Cette thèse d'exercice comporte notamment une partie expérimentale portant sur l'étude de la plasticité différentielle de deux populations de neurones issues de stades ontogénétiques différents chez le rat.

Le but de cette réalisation est de présenter la neurogénèse hippocampique comme un des leviers de la plasticité du système nerveux central, un des acteurs de la fine régulation entre un individu et son environnement, lui permettant de garder la santé.

Remerciements

À Monsieur le Doyen **Bernard Muller**, Président du jury

C'est un honneur pour moi que vous acceptiez d'évaluer ce travail, que j'ai effectué avec passion. Ça me réjouit que vous participiez à cette dernière étape de ma formation initiale, après tous les échanges que nous ayons eus lors des enseignements, des conseils, ainsi que des entrevues au sujet de mon orientation professionnelle. Je tiens également à saluer votre travail quotidien pour les étudiants, enseignants et personnels de cette UFR.

Au Docteur **Anne Taupignon**, Directrice de thèse

Je vous remercie beaucoup pour votre travail de supervision irréprochable, vos conseils avisés, tant sur le fond que sur la forme de cette thèse. J'en profite également pour saluer vos qualités d'enseignement.

Au Docteur **Frédéric Alexandre**,

Pour accepter d'apporter votre expertise en neurosciences computationnelles et intégratives.

Au Docteur **Laure Verret**,

Pour accepter d'apporter votre expertise de la cognition animale, notamment de la mémoire, et de l'activité des réseaux.

Au Docteur **Thibaut Martin**,

Je suis très heureux de ta participation à ce jury, pour le Pharmacien d'officine que tu incarnes, toi qui as porté un intérêt certain à la maladie d'Alzheimer et qui reçois quotidiennement des patients aux diverses atteintes du système nerveux central. Je te remercie aussi d'avoir fait partie de ces étudiants hautement impliqués dans l'Association Nationale des Etudiants en Pharmacie de France et de m'y avoir sensibilisé.

Aux **chercheurs** avec qui j'ai travaillé,

Je remercie Aline Marighetto pour m'avoir accueilli et fait confiance. Je remercie Guillaume Lucas pour m'avoir initié à l'électrophysiologie *in vivo*.

Je remercie l'équipe Neurogénèse et Physiopathologie d'avoir fourni le cadre matériel ayant permis la réalisation des travaux expérimentaux présentés ici. Je tiens particulièrement à remercier Pauline Delage pour son accompagnement dans l'apprentissage des différentes techniques anatomiques et

histologiques, ainsi que Vincent Proton pour ses conseils avisés et son avis pertinent sur le présent sujet.

Aux **personnes de l'Université** avec qui j'ai eu la chance de travailler durant mon mandat,
Mon cher Philippe Leicht ! Pour ta bonté, ta joie de vivre, ton dévouement, ton engagement pour les étudiants... Je n'aurais jamais pu tout concilier si je ne t'avais pas eu comme guide durant cette période !

À Eléonore et Clément, mes 2 fidèles compagnons, avec qui nous nous sommes serrés les coudes et habilement répartis le travail ! Je ne me serais jamais lancé dans l'aventure sans vous !

Au Président Manuel Tunon de Lara, à Nicole Rascle et Antoine de Daruvar, pour l'immense confiance qu'ils nous ont accordée et leur écoute sans faille.

À cette bonne vieille **Amicale Corporative des Étudiants en Pharmacie de Bordeaux** !

Aux « vieux » qui nous y ont accueillis à bras ouverts (enfin surtout coudes levés !) : Mikel, Popiette, Damien, Marie, Matthieu, Fabio, Zuko, Vinvin, Jouandeouu, Camille, Romain, Oihana, Camille, Céline...

Aux bureaux dont j'ai eu la chance de faire partie (2011 à 2013)

Aux nombreuses personnes de France et de Strasbourg, rencontrées de façon plus ou moins institutionnelle !

Aux joyeux **compagnons des « bancs d'la fac »** (et pas que) !

Agnès, Alice, Anne, Antonin, Arthur dit « La Boussole », Bertrand, CamilleS, Clémence, David, Elodie, Eva, Fannie, Nico, Pierre, Victor, Vincent, Xabi

On s'en est quand même plutôt très bien sorti pour les nombreuses pitreries faites de ci de là !

Aux **copaings** !

Alex, Batiste, Brice, Clara, Claire, Clément, Doudou, Gautier, Flo, John, Marie, Marion (un merci spécial pour ta relecture !), Pia, Rémi, Sam, Simon, Vianney et Zaza

Pour certains, ça remonte à plus d'une dizaine d'années ! Que c'est bon d'être serrés pour ne pas être chahutés par les intempéries !

À la coloc, la vraie !

Que de bon temps pendant ces 4 années avec vous Clément, Vianney et Zaza (et Batiste !). Pas le temps de s'ennuyer quand on est entre copains comme ça !

À Clément,

Fidèle acolyte ! À mon avis, on les a dépassés les 400 coups, 2 fois, chacun ! Que de sorties shopping à Parempuyre, de diners mondains chez Mme Laura, de séances révisions de géographie... Plus sérieusement, merci pour ta bonne humeur, ton dévouement, ton écoute... Et ta dent, que tu as sacrifiée pour moi !

À ma famille,

Pour avoir créé un environnement favorable à mon épanouissement, sans freins à ma curiosité ni à mon expression

À mon grand-père,

Merci d'avoir suscité ma curiosité, de m'avoir mis des livres devant les yeux, des appareils photos dans les mains et d'avoir empli mes oreilles de tes histoires !

À mon père,

Qui, malgré son absence depuis quelques temps, a participé à mon éveil scientifique et philosophique, et m'a très largement initié à la musique, dès le biberon (littéralement !).

À ma mère et mon frère,

Comme vous le savez, je suis plutôt « pudique » sur le sujet d'ordinaire, donc profitez-en !

Pour le trio que nous formons depuis un sacré paquet d'années maintenant !

Merci de t'être occupée de nous, de t'être inquiétée de la bonne conduite de notre scolarité, malgré ton désintérêt manifeste pour certaines matières très tôt !

Table des matières

Liste des figures	10
Liste des abréviations	11
Introduction	12
Rappels d’anatomie de l’hippocampe.....	15
Partie 1 : Historique de la mise en évidence de la neurogénèse dans l’hippocampe	19
Remise en cause d’un dogme	20
Deux types de cellules radioactives.....	20
Un phénomène décroissant avec l’âge	21
Les neurones ne subissent pas la mitose	22
Les zones de prolifération ou le travail de l’ombre.....	23
Les néo-neurones établissent des projections axonales.....	25
Genèse saisonnière de neurones	27
La neurogénèse perdue au cours de l’évolution ?.....	28
La neurogénèse hippocampique chez l’Humain ou la consécration !.....	29
Neurogénèse hippocampique : les grandes lignes	30
Partie 2 : Neurogénèse hippocampique - État actuel des connaissances	33
Relevé d’implications pathologiques	34
Épilepsie.....	34
Maladie de Huntington.....	38
Troubles émotionnels.....	40
Schizophrénie	42

Addiction.....	43
Approche anatomofonctionnelle	45
Impacts environnementaux.....	48
Fonction de la neurogénèse	63
Approche cellulaire de la neurogénèse : Cas particulier de l'étude réalisée durant mon stage de Master 2	71
Introduction.....	71
Matériel et méthodes.....	74
Résultats	82
Discussion	87
Partie 3 : Étude des réseaux	90
Les réseaux sont dynamiques	91
Cortex visuel	91
Aire tegmentale ventrale et renforcement de comportement.....	93
Influences du cortex prémoteur sur le cortex moteur.....	93
De la neurogénèse dans la dynamique des réseaux.....	94
Mémorisation	95
Traitement des informations spatiales.....	96
Conclusion	98
Travaux cités.....	99
Annexes	111

Liste des figures

Figure 1 : Repères anatomiques

Figure 2 : Représentation schématique d'une coupe coronale de l'hippocampe

Figure 3 : Représentation schématique d'une coupe coronale du gyrus denté

Figure 4 : Pourcentage de cellules marquées à ^3HT dans la couche granulaire côtés lésé et intact

Figure 5 : Proportions de cellules marquées dans la couche granulaire

Figure 6 : Proportions de neurones du HVC marqués à la thymidine tritiée

Figure 7 : La neurogénèse, de la cellule souche au neurone mature

Figure 8 : Localisation ectopique et arbre dendritique basal des cellules granulaires

Figure 9 : Représentation de l'effort fourni par l'individu en réponse à un stresser

Figure 10 : Valeur des effets pour les différents processus cognitifs testés dans l'hypothèse d'une spécificité de bénéfices engendrés par l'activité sportive.

Figure 11 : Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU ou exprimant Ki67 au 12ème jour de l'expérience en fonction de l'activité physique et des conditions d'hébergement

Figure 12 : Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU ou exprimant jusqu'au 48ème jour de l'expérience en fonction de l'activité physique chez les isolés seulement

Figure 13 : Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU en fonction des conditions d'hébergement

Figure 14 : Diminution de la production cellulaire par la cytarabine

Figure 15 : Perturbations de l'apprentissage spatial par injection de cytarabine

Figure 16 : Détail des différents protocoles expérimentaux

Figure 17 : Marquage au BrdU des vagues de cellules embryonnaire et postnatale

Figure 18 : Signal correspondant à une réponse au niveau de l'électrode d'enregistrement

Figure 19 : Représentation schématique du protocole de ligne de base

Figure 20 : Représentation schématique du protocole de stimulation haute fréquence

Figure 21 : Représentation schématique des différentes conditions expérimentales

Figure 22 : Valeurs de PcPSE exprimées en pourcentage de la moyenne des valeurs basales

Figure 23 : Marquage immunofluorescent de la protéine c-Fos dans les neurones granulaires d'origine embryonnaire

Figure 24 : Marquage immunofluorescent de la protéine c-Fos dans les neurones granulaires d'origine postnatale

Liste des abréviations

CA	Corne d'Ammon
³ HT	Thymidine tritiée
CIdU	Chlorodéoxyuridine
BrdU	Iododéoxyuridine
IdU	Bromodéoxyuridine
HVc	High Vocal center
RA	<i>Robustus Archistriatalis</i>
ELTm	Épilepsie du Lobe Temporal mésial
PBS	Phosphate Buffer Saline
LB	Ligne de Base
SHF	Stimulation Haute Fréquence
PcPSE	Potentiel de champ Post-Synaptique Excitateur
PPA	Population de Potentiels d'Action

Introduction

Mes études de Pharmacie m'ont permis une approche continue de la notion de complexité. Ces études étant découpées en cycles représentant différents niveaux d'appréhension du savoir. Il y avait tout d'abord des années principalement constituées d'unités d'enseignement de sciences fondamentales, avant d'aborder des années où les enseignements sont dits « coordonnés » et font appel à l'intégration des savoirs précédemment acquis, pour un dessein particulier : la santé.

Par le choix d'enseignements optionnels, je me suis très tôt intéressé aux neurosciences dans mon cursus. Ces dernières m'ayant attirées notamment du fait de l'analogie entre le schéma de nos études et le fonctionnement de notre système nerveux central : l'intégration de grands ensembles d'éléments pour un objectif précis. Ici, cet objectif est le juste équilibre continu dans la relation entre un individu et son environnement. Équilibre n'implique pas absence de mouvements, mais au contraire des mouvements incessants, de sens opposés, établissant une véritable dialectique entre les milieux intérieur et extérieur de l'individu.

Afin d'assurer son rôle d'interface, le système nerveux central se doit d'être plastique et non élastique, de garder durablement les marques des changements qu'il a subis, ayant permis, à un instant donné, le rééquilibre de cette relation entre externe et interne. En m'intéressant à la neurogénèse adulte, j'ai découvert que ce mécanisme cristallisait les enjeux de plasticité du système nerveux central, mais plus largement de notre organisme entier, qui lui aussi est en adaptation continue.

Et c'est précisément de cette manière, de juste équilibre entre toutes les composantes, que l'on peut interpréter la définition que l'Organisation Mondiale de la Santé a établie lors de sa constitution en 1946. Elle définit en effet la santé comme un « état de bien-être physique, social et mental total, et non [comme] la simple absence de maladie ou d'infirmité »¹.

¹ <http://who.int/about/fr/>

La neurogénèse adulte m'a séduit par le rappel qu'elle offre de ne pas négliger la complexité, de ne pas tenter de s'affranchir de données momentanément incompréhensibles en vue de simplifier, afin de ne pas tomber dans l'erreur. D'autre part, l'échelle de temps de plusieurs semaines, de ce phénomène, est d'ordinaire assez peu considérée dans l'étude de la plasticité de notre système nerveux central.

La neurogénèse est un terme général désignant la création de nouvelles cellules nerveuses à partir de cellules souches neurales, jusqu'à leur intégration dans des structures et circuits de communication. La majeure partie de cette neurogénèse a lieu dans les phases développementales de l'animal, avant la naissance (et parfois dans une très courte période immédiatement postnatale).

Il existe certaines zones du système nerveux central, dont l'hippocampe qui retiendra particulièrement notre attention ici, au sein desquelles la neurogénèse n'est pas stoppée à la fin de la période développementale et se poursuit tout au long de la vie. Les proportions de cellules nouvellement générées à l'âge adulte diffèrent d'une espèce animale à l'autre, et d'une structure anatomique à l'autre chez une espèce donnée. Pour une revue de littérature, je vous renvoie aux travaux d'Aurélien Ernst et Jonas Frisén (Ernst & Frisén, 2015) et notamment aux graphiques en annexes, issus de ceux-ci.

On parle de neurogénèse adulte pour désigner cet ajout de nouvelles cellules nerveuses tout au long de la vie. Benjamin Arenkiel nous dit que les neurones générés dans les stades de vie adultes doivent se frayer un chemin dans la mosaïque cérébrale dynamique préexistante, et que ceci marque la grande différence entre neurogénèse développementale – dont les principales caractéristiques seront énoncées dans les rappels anatomiques – et adulte (Arenkiel, 2011). C'est ce qui rend cet objet d'étude complexe, donc intéressant !

Par abus de langage et en dehors de toute précision contraire, j'emploierai, dans le présent écrit, le terme de neurogénèse pour désigner la survenue de ce phénomène durant les stades de vie adultes de l'individu.

Des dysfonctionnements de la neurogénèse hippocampique ont été associés à différents troubles neurologiques et psychiatriques (épilepsie, addiction, troubles affectifs etc.) et certaines thérapeutiques, dont les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la Sérotonine ou les antidépresseurs tricycliques, sont étudiées pour leur impact favorable sur ce phénomène.

De plus, la réserve cognitive, concept selon lequel 2 patients possédant les mêmes atteintes du système nerveux central, au même stade, peuvent avoir des comportements cognitifs drastiquement différents, voire aux antipodes (l'un à son maximum de capacités et l'autre en démence), se voit attribuer les mêmes facteurs favorables que la neurogénèse (activité physique, forte activité sociale, confrontation à la nouveauté...). De nombreux travaux tendent à montrer que la neurogénèse adulte est un des acteurs principaux de la plasticité de notre système nerveux central, permettant à l'individu de maintenir la relation la plus fine et la plus durable possible avec son environnement.

Après de courts rappels anatomiques, je présenterai les principaux éléments historiques ayant aboutis à l'admission d'une neurogénèse adulte chez les mammifères, dont l'humain, ainsi que ses caractéristiques physiologiques les plus importantes.

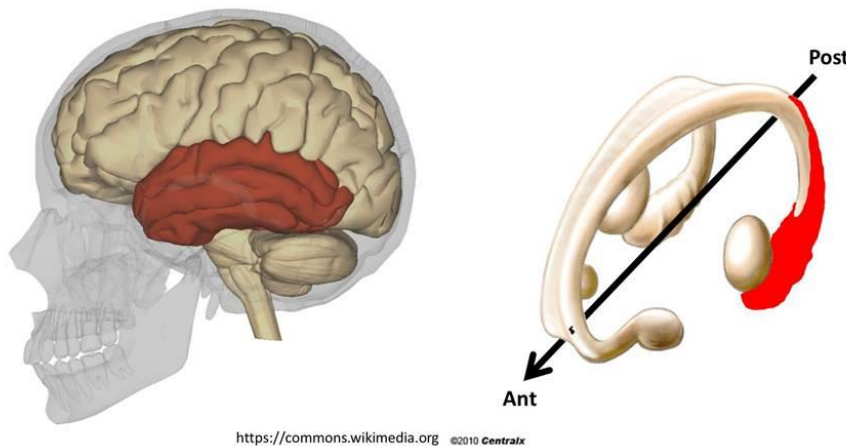
Je développerai ensuite les différentes approches de l'étude de la neurogénèse hippocampique adulte, en vue de montrer que ce phénomène étant extrêmement intégré, il nécessite une approche globale, tenant compte des interactions interneuronales et interstructurales.

Mon but ici, s'agissant d'une thèse d'exercice, est de partager, notamment avec mes futurs confrères, les notions qui me tiennent à cœur que sont la considération du contexte de toute chose, de chaque facteur l'influençant, de ne pas isoler les parties d'un tout. Car c'est, à mon avis, la seule manière d'appréhender l'extraordinaire complexité du vivant.

Rappels d'anatomie de l'hippocampe

Chaque hémisphère du cerveau est divisé en 4 lobes, dont le lobe temporal (coloré sur la partie gauche de l'image ci-dessous), renfermant notre objet d'étude : l'hippocampe (en rouge sur la partie droite de l'image ci-dessous).

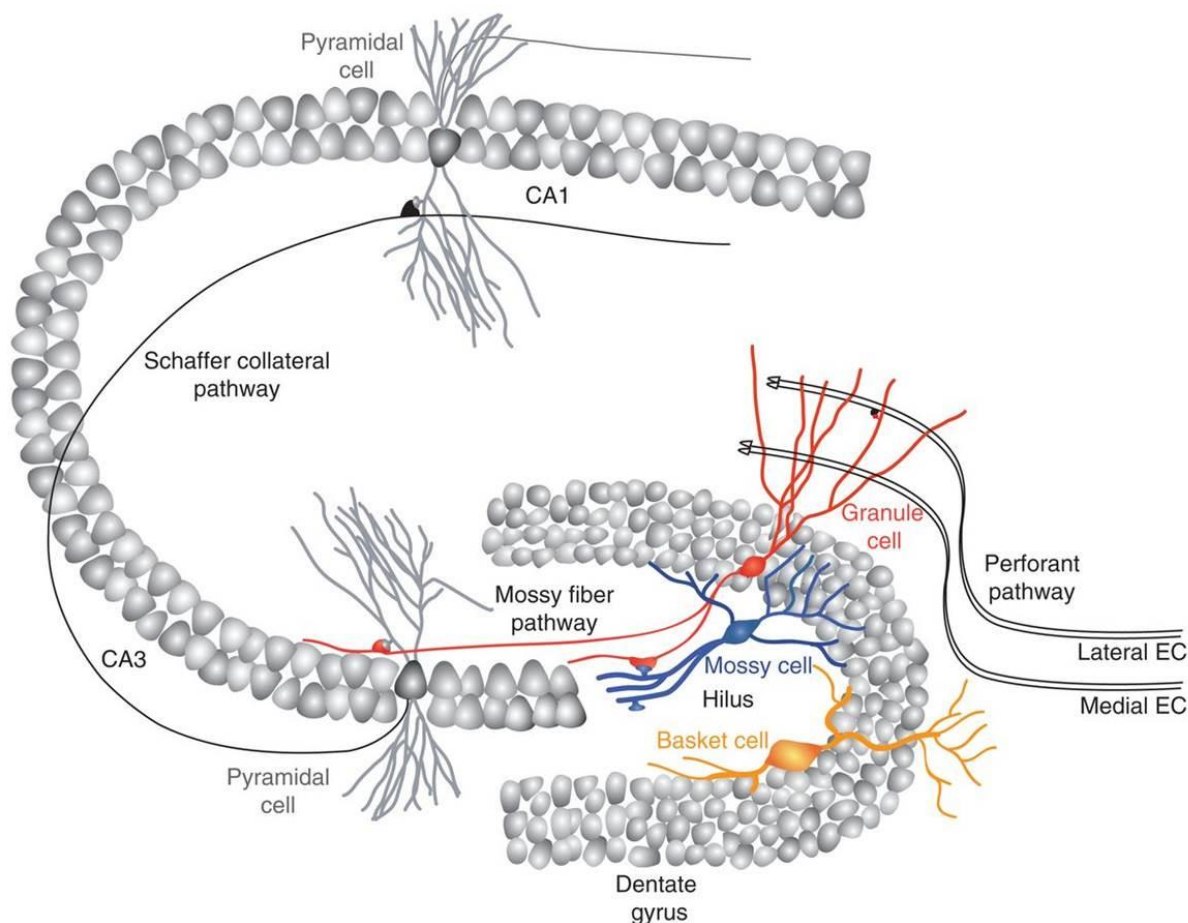
Figure 1 : Repères anatomiques
Localisation du lobe temporal et identification de l'hippocampe



L'hippocampe est constitué du gyrus denté et de la corne d'Ammon, elle-même subdivisée en 3 parties, dénommées ci-après CA1, CA2 et CA3. Sur la représentation d'une coupe coronale de l'hippocampe (figure 2), nous pouvons voir les éléments qui nous intéresseront.

La principale voie de transport d'informations au sein de cette structure est appelée voie trisynaptique ; elle est constituée d'une première zone de synapses entre les axones des neurones du cortex entorhinal, assemblés en fibres prenant le nom de voie perforante (latérale et médiane), et les dendrites des neurones granulaires du gyrus denté. Ceux-ci ont leurs corps cellulaires dans la couche granulaire. Ils projettent leurs axones, regroupés en fibres moussues, sur les cellules pyramidales de CA3 (deuxième synapse). Enfin, les neurones de CA3 envoient des collatérales d'axones, les collatérales de Schaffer, projetant sur les arbres dendritiques des neurones de CA1 constituant la troisième et dernière zone de synapses.

Figure 2 : Représentation schématique d'une coupe coronale de l'hippocampe – Voies de signalisation



Nicolas Toni, and Alejandro F. Schinder Cold Spring Harb Perspect Biol 2016;8:a018903

Lors de la mise en place du système nerveux du primate en phase embryonnaire, les cellules neuroectodermiques du tube neural donnent, par mitoses et différenciations progressives, toutes les lignées de cellules centrales, neuronale et gliales. Les glioblastes centraux – se différenciant par la suite en astrocytes, oligodendrocytes et microglie – émettent des prolongements, servant de guides à la migration des neuroblastes².

Chez le rat, les travaux d’Alice Schlessinger et ses collaborateurs nous indiquent que la période « développementale » de mise en place du gyrus denté, s’étend du 14^{ème} jour d’embryogénèse au

² Kamina, P. (2013). *Anatomie clinique. Tome 5 : Neuroanatomie, 2e éd.* France: MALOINE.

10^{ème} jour postparturition, avec deux principaux pics de genèse de neurones (Schlessinger, Cowan, & Gottlieb, 1975) :

- Entre le 15^{ème} et le 18^{ème} jour d'embryogénèse (de 21 jours au total chez le rat)
- Entre le 5^{ème} et le 10^{ème} jour postparturition

Il existe 3 gradients de genèse des neurones granulaires du gyrus denté de l'hippocampe, en phase embryonnaire (Schlessinger et al., 1975) :

- De la lame dorsale vers la lame ventrale
- De la partie caudale vers la partie rostrale
- De l'extérieur de la couche granulaire (proche de la couche moléculaire) vers l'intérieur de celle-ci (proche de la zone sous-granulaire). Il est à noter que ce gradient s'inverse dans la neurogénèse adulte

On divise le gyrus denté de l'animal adulte, de l'intérieur vers l'extérieur, de la manière suivante :

- Le **hile**, aussi appelé couche polymorphe, couche multiforme ou encore CA4 de l'hippocampe (dans la terminologie actuelle de l'anatomie humaine), contient les fibres moussues (les axones des cellules granulaires), des interneurons GABAergiques et des neurones glutamatergiques, dont la plupart sont des cellules moussues.
- La **zone sous-granulaire** est constituée des cellules souches et progéniteurs neuronaux, ainsi que des corps cellulaires de cellules « en panier » GABAergiques, qui doivent leur nom à la disposition de leurs axones autour des cellules granulaires.
- La **couche granulaire**, comme son nom l'indique, renferme les corps cellulaires des neurones qui la composent : les cellules granulaires.
- La **couche moléculaire** se compose des arbres dendritiques des cellules granulaires, qui sont contactés dans leur tiers inférieur par des cellules moussues glutamatergiques et dans leurs tiers supérieurs par les axones de la voie perforante, provenant du cortex entorhinal.

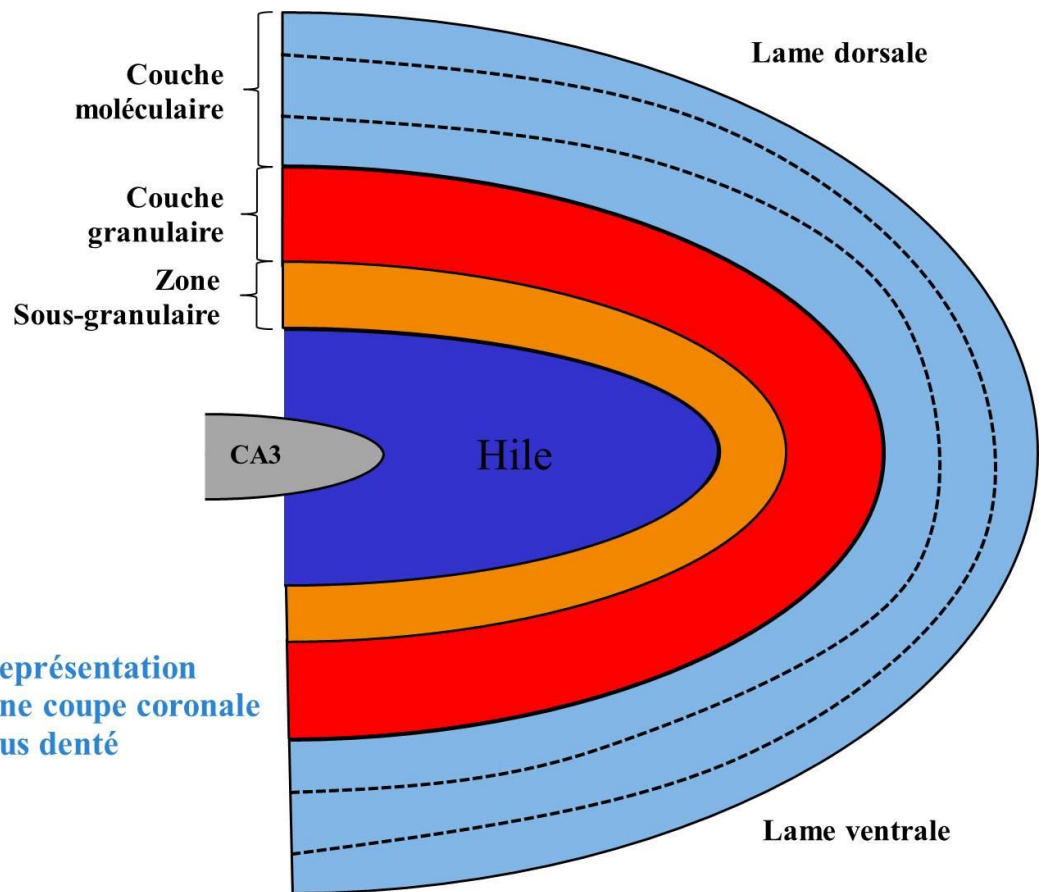


Figure 3 : Représentation schématique d'une coupe coronale du gyrus denté

Partie 1 : Historique de la mise en évidence de la neurogénèse dans l'hippocampe

Remise en cause d'un dogme

Depuis l'aube du XX^{ème} siècle et la découverte, par le célèbre médecin histologiste espagnol Don Santiago Ramon y Cajal, d'unités anatomiques et fonctionnelles indépendantes et comptabilisables dans le cerveau, l'idée selon laquelle ces « neurones », ainsi nommés par Heinrich von Waldeyer-Hartz, ne pouvaient être générés en dehors de la période de développement embryonnaire, fut très répandue. Ceci, était notamment dû au fait qu'aucun neurone en train de se diviser n'a jamais été observé.

Cette idée est encore très présente chez le grand public, j'en veux pour triste preuve l'article du quotidien Le Parisien en date du 19 septembre 2013³...

Deux types de cellules radioactives

Ce n'est qu'en 1965, que les docteurs Joseph Altman et Gopal Das, décidant de s'attaquer sérieusement à cette question, publièrent des travaux menés chez le rat (Altman & Das, 1965) ayant pour objectifs d'étude :

- l'évolution de la genèse potentielle des neurones en fonction de l'âge
- l'évolution des cellules nouvellement générées
- l'influence d'évènements pathologiques, tels des lésions corticales

Pour y parvenir, ils s'appuyèrent sur les propriétés de l'ADN. Ils injectèrent en intrapéritonéal de la thymidine tritiée (³HT), base pyrimidique de l'acide désoxyribonucléique dans laquelle les atomes d'hydrogène sont remplacés par leurs isotopes radioactifs de tritium (³H), à des rats et examinèrent par autoradiographie les coupes histologiques de cerveau après sacrifice.

La thymidine, base de l'ADN, ne s'incorpore qu'en phase de synthèse, aussi appelée phase S du cycle cellulaire. Ainsi, seules les cellules à ce stade particulier de leur division au moment de l'injection et dans l'intervalle de biodisponibilité de la substance, émettent une radioactivité bêta, avec émission d'un électron par molécule de thymidine tritiée se désintégrant.

Ils constituèrent donc un groupe d'animaux par objet d'étude :

- 1) Des animaux âgés de 1 à 8 mois reçoivent deux injections de ³HT espacées de 24 heures et sont sacrifiés 2 semaines plus tard.

³ <http://www.leparisien.fr/espace-premium/air-du-temps/mais-si-les-neurones-repoussent-19-09-2013-3148437.php#xtref=https%3A%2F%2Fwww.google.fr>

- 2) Des animaux tous âgés de 4 mois reçoivent deux injections de ^3HT espacées de 24 heures et sont sacrifiés 4 jours à 8 mois plus tard
- 3) Des animaux âgés de 10 à 40 jours subissent une lésion unilatérale du cortex, puis le lendemain reçoivent deux injections de ^3HT espacées de 24 heures. Ils sont tous sacrifiés 2 mois plus tard.

Ils observèrent, en autoradiographie, la présence de cellules granulaires différenciées, et de plus petites cellules à noyau sombre dans le gyrus denté de l'hippocampe de tous les animaux injectés à la ^3HT .

Un phénomène décroissant avec l'âge

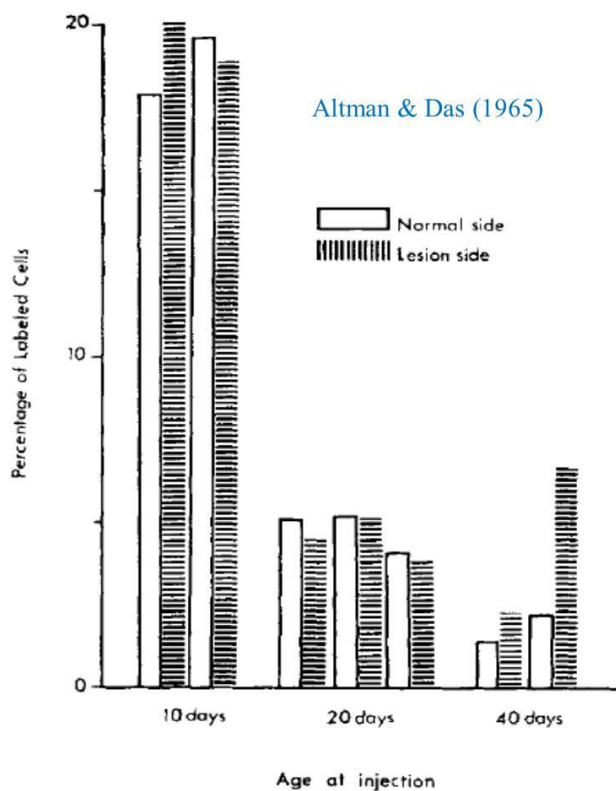


Figure 4 : Pourcentage de cellules marquées à ^3HT dans la couche granulaire du gyrus denté du côté normal (barre vide) et du côté lésé (barre hachurée) ; une paire de barres par animal (d'après [1]).

Le nombre de cellules générées depuis l'injection est inversement proportionnel à l'âge des animaux. L'âge avançant, l'animal semble générer de moins en moins de nouveaux neurones.

Par comparaison entre les côtés lésé et intact, ils virent une augmentation significative⁴ de neurogénèse induite par la lésion seulement chez un animal âgé de 40 jours. La neurogénèse induite par la lésion chez les 2 autres est probablement diluée par les forts taux de genèse (voir figure 4).

⁴ Utilisant pour la première fois ici le terme « significatif », je tiens à rappeler au lecteur non familier avec cette notion, qu'elle provient de résultats statistiques, qu'elle indique qu'une différence existe bel et bien, sans indiquer toutefois la valeur, l'étendue, de cette différence.

Les neurones ne subissent pas la mitose

Une observation surprit Altman et Das : Aucune cellule granulaire n'était en mitose au moment du sacrifice, en accord avec l'ensemble des observations faites depuis les travaux de Ramon y Cajal. Or, il est improbable, sur la quantité de neurones censés se diviser, qu'aucun ne soit en train de le faire à un instant donné !

Ils firent l'hypothèse que les cellules granulaires ne se divisent pas directement, mais que ce sont des précurseurs indifférenciés de ces cellules qui prolifèrent, avant de se changer en neurones. Ils pensèrent que les petites cellules à noyau sombre qu'ils voyaient pouvaient être ces précurseurs.

Afin d'étudier cette possibilité, ils mesurèrent les proportions de populations de cellules marquées à la ^3HT que représentent respectivement ces petites cellules à noyau sombre et les cellules granulaires différenciées, chez les animaux du groupe 2.

Ils virent la diminution des petites cellules à noyau sombre au profit des cellules granulaires différenciées au fil du temps post-marquage (figure 5), laissant supposer un remplacement des premières par les dernières.

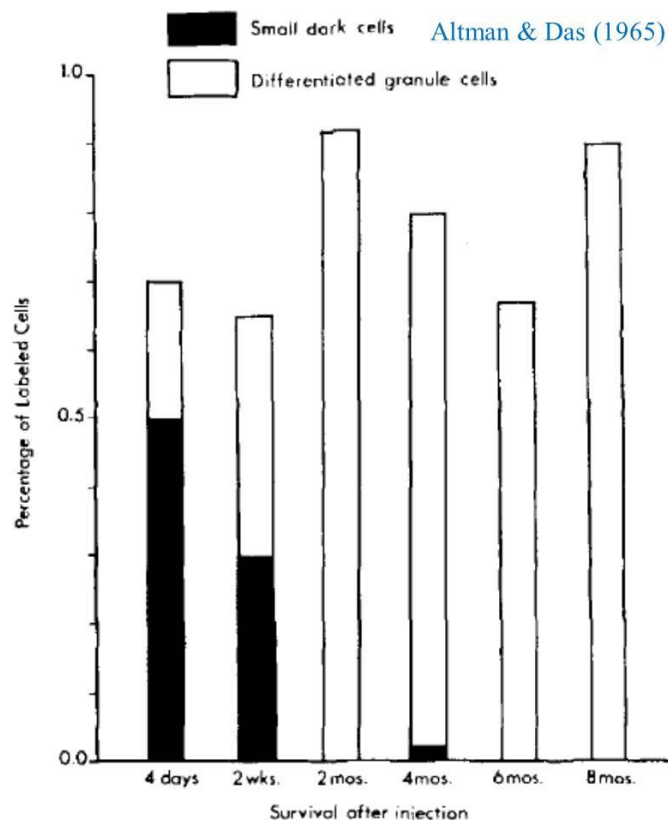


Figure 5 : Proportions de cellules marquées, petites cellules sombres (partie noire) ou cellules granulaires (partie vide), dans la couche granulaire de rats adultes (4 mois au moment de l'injection), en fonction du temps de survie (4 jours à 8 mois)

Ces travaux ont été confirmés par ceux de deux chercheurs de l'Université de Boston (Kaplan & Hinds, 1977), qui ont injecté de la ^3HT à des rats âgés de 3 mois, qu'ils ont sacrifié 30 jours plus tard. Ils réalisèrent une étude plus poussée des cellules observées et attestèrent de leur phénotype neuronal par microscopie électronique. Pour ce faire, ils considérèrent les critères suivants :

- De longs prolongements cellulaires remplis de microtubules, ressemblant à des dendrites
- Un contour net de corps cellulaire
- Un caryoplasme à forte densité de marquage
- Des synapses symétriques typiques des synapses axosomatiques

« Ces éléments, notamment les dendrites et les synapses permirent d'identifier clairement ces cellules comme étant des neurones. De plus, les cellules marquées ne ressemblaient pas à des cellules gliales, [n'en possédant pas les caractéristiques]. »

Ils mirent ainsi en évidence la neurogénèse non seulement dans le gyrus denté, mais également dans le bulbe olfactif.

Les zones de prolifération ou le travail de l'ombre

Bien que le rat ou la souris soient des sujets d'étude choyés en neurosciences pour leur grande similitude avec l'humain, ce sont des études chez des animaux phylogénétiquement plus éloignés qui donnèrent du crédit aux défenseurs de l'idée d'une neurogénèse à l'âge adulte. En effet, ce sont différentes espèces de passereaux (petits oiseaux de nos milieux) qui ont apporté de l'eau au moulin de la communauté scientifique.

Il faut tout d'abord avoir en tête que le canari mâle fait évoluer son chant et est capable d'apprendre de nouvelles syllabes, durant toute sa vie, qu'il ajoute à un socle de chant stéréotypé constitué jusqu'à sa maturité sexuelle. Cet apprentissage du chant est étroitement lié au développement du noyau de son système nerveux qui en assure la régulation : le High Vocal center (HVC), du 30^{ème} jour de vie de l'animal au 240^{ème} environ. D'autre part, le canari étant ovipare, on considère la ponte (E0), le développement embryonnaire jusqu'à l'éclosion durant environ 14 jours (E1 à E14) et la vie à partir de l'éclosion (P0).

Lors d'une première étude (Goldman & Nottebohm, 1983), l'équipe de Fernando Nottebohm prit des femelles canari auxquelles ils administrèrent de la testostérone. Ils avaient en effet remarqué que cette hormone entraînait une croissance du HVC et engendrait chez ces femelles, la production de chants comparables à ceux des mâles. Ces femelles reçurent donc toutes, un implant hormonal (testostérone ou simple cholestérol pour le groupe contrôle) dans un premier temps, puis un protocole d'injection de ^3HT plus ou moins longtemps après l'implant. Deux animaux furent sacrifiés respectivement 24 et 48h après la dernière injection de ^3HT , tandis que les autres furent tous sacrifiés exactement 37 jours après le début du traitement hormonal.

Le phénotype neuronal fut là-aussi attesté par la microscopie électronique. Furent considérées comme neurones les cellules possédant :

- Un corps cellulaire de 10 à 18 μm
- Un noyau évident, constitué d'un nucléole central basophile et d'un nucléoplasme homogène
- Un cytoplasme imposant contenant des corps de Nissl (amas de réticulum endoplasmique libre caractéristique des neurones)
- Des prolongements cellulaires remplis de microtubules et polyribosomes, caractéristiques de dendrites

Chez les 2 animaux sacrifiés prématurément après la dernière injection de ^3HT , ils n'observèrent pas de neurones marqués, mais la zone juste au-dessus du HVC comportait de très nombreuses cellules aux morphologies diverses.

Chez tous les autres, ils observèrent une population de cellules marquées correspondant à 1 à 2% de l'ensemble des cellules du HVC.

Ces chercheurs mirent ainsi en évidence pour la première fois, **l'existence d'une zone de prolifération distincte de la zone d'adressage finale des neurones**. Cette notion est très importante, non seulement pour comprendre la physiologie de la neurogénèse mais aussi et surtout pourquoi il a été si compliqué de la révéler.

Les néo-neurones établissent des projections axonales

Par la suite, cette même équipe a cherché à identifier la connectivité de ces neurones nouvellement formés (Alvarez-Buylla, Theelen, & Nottebohm, 1988). Ils prirent 37 canaris, mâles et femelles, auxquels ils injectèrent de la ^3HT durant les phases de développement et de vie : du 5^{ème} jour après la ponte au 242^{ème} jour après éclosion. Tous ces animaux furent sacrifiés entre 12 et 14 mois de vie. Quatre jours avant le sacrifice, ils reçurent du Fluorogold, fluorochrome qui a la particularité de subir un transport axonal rétrograde. Ainsi, injecté dans une zone du cerveau, il pourra être assimilé par les neurones du voisinage et remonter les synapses pour atteindre les neurones afférents.

Tout d'abord, lorsque l'on considère l'ensemble de la population de neurones du HVC chez l'animal âgé de 13 mois, il apparaît qu'au moins 30% des neurones sont générés immédiatement après la ponte (figure 6). Dès l'éclosion, nous retombons à un niveau constant et durable de genèse de neurones, dans des ordres de grandeur précédemment observés, à savoir entre 1 et 2% de nouveaux neurones nouvellement générés au moment de l'injection.

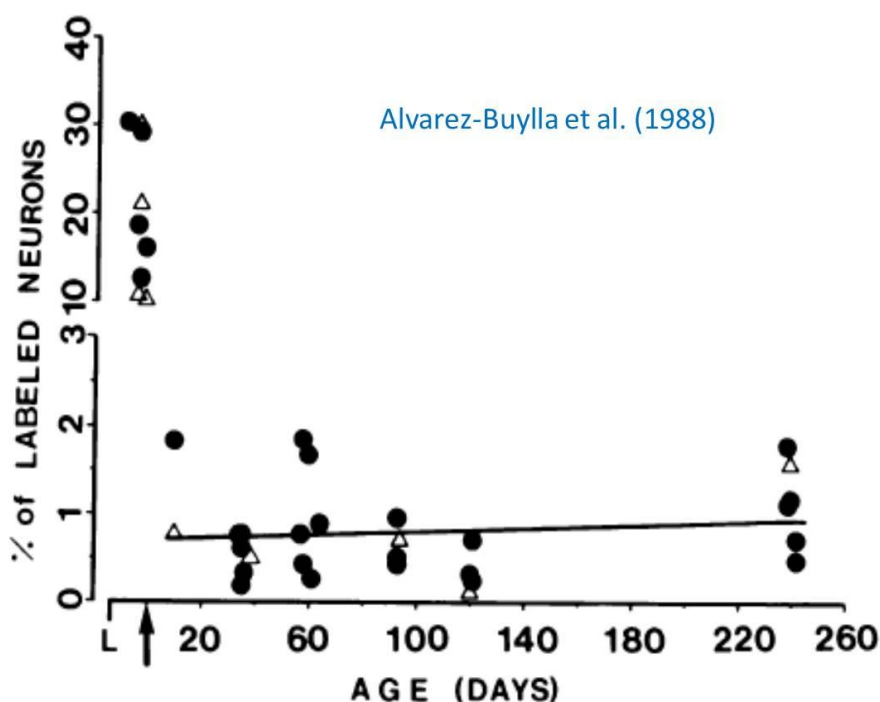


Figure 6 : Proportions de neurones du HVC marqués à la thymidine tritiée à 13 mois de vie en fonction des différents âges d'injection (de la ponte à 260 jours de vie). L correspond à la ponte et la flèche à l'éclosion. Chaque valeur correspond à un individu : •, mâles ; Δ, femelles

Le HVC projette essentiellement sur 2 structures du cerveau du canari : Le RA (*robustus archistriatalis*), directement impliqué dans la voie motrice du chant, et la zone X du *locus parolfactorius*. Cette dernière ne régule pas directement le chant mais est un relai dans une voie de signalisation beaucoup moins directe projetant *in fine* sur le RA. C'est un peu comme si la voie HVC→RA était un trajet Bordeaux→Toulouse direct et que la voie passant par la zone X était un trajet Bordeaux→Mont-de-Marsan→Tarbes→Toulouse.

Les injections de Fluorogold furent donc réalisées dans le RA et la zone X recevant toutes 2 les afférences du HVC.

Comme nous l'avons vu précédemment, la neurogénèse varie quantitativement au cours du temps. Les auteurs remarquèrent qu'elle varie également qualitativement !

En effet, il existe 2 grands temps dans la mise en place des afférences du HVC :

- Avant l'éclosion, les neurones formés projettent majoritairement sur la zone X
- Après l'éclosion, ils ne projettent quasiment plus vers la zone X, mais dirigent leurs axones vers le RA

Pour revenir à notre analogie, la voie la plus longue de Bordeaux à Toulouse, passant par Mont-de-Marsan et Tarbes, est mise en place avant la voie directe. Pour les besoins du raisonnement, il faut imaginer qu'il n'existe donc, avant l'éclosion, qu'un seul moyen pour aller de Bordeaux à Toulouse.

Les auteurs font l'hypothèse que la mise en place de la voie indirecte, passant par la zone X, se faisant la première, elle influencerait le comportement futur du RA, par régulation de la place laissée aux afférences de la voie directe, qui se créeront par la suite.

Pour continuer dans notre analogie, c'est comme si, avant la construction de l'autoroute menant de Bordeaux à Toulouse, on faisait un remaniement routier de la ville rose, afin de s'assurer de sa bonne assimilation du nouveau trafic ainsi créé.

L'équipe remarqua qu'après l'arrêt de la croissance du HVC (P240), celui-ci continue de générer des neurones de projections vers le RA. On pourrait comparer ceci à l'entretien de l'autoroute, l'ajout de files etc.

Genèse saisonnière de neurones

Autre oiseau, autre émerveillement : La mésange à tête noire subit des contraintes environnementales fortes. Elle est obligée de passer d'un régime alimentaire constitué majoritairement d'insectes l'été à une nourriture où les graines sont prédominantes l'hiver. Ces graines sont cachées et conservées par l'animal l'été pour plus tard.

Afin d'étudier les substrats neurologiques accompagnant ce changement de comportement, l'équipe de Nottebohm réalisa en 1994, une étude dans laquelle un total de 74 mésanges, mâles et femelles, certaines remises en liberté et d'autres maintenues captives, reçurent une injection de ³HT (Barnea & Nottebohm, 1994).

27 animaux remis en liberté après l'injection furent recapturés pour être étudiés. Ils s'intéressèrent à l'hippocampe (comme les études chez le rat précédemment citées), pour son implication dans la mémoire spatiale.

Ils ne remarquèrent aucune différence entre mâles et femelles.

Ils observèrent qu'ici aussi les cellules prolifèrent dans une zone différente de la zone où seront intégrés les neurones différenciés. Cette zone se trouve juste sous la zone d'intérêt.

Ainsi, leurs données corroborent les conclusions précédemment tirées par cette équipe.

Ce qu'il est très intéressant de remarquer dans cette étude est l'aspect saisonnier :

Les animaux changent de comportement en octobre et c'est précisément à cette période que la plus forte proportion des cellules de leur hippocampe est générée.

Le nombre total de cellules de cette structure est jugé invariant sur l'année. Ainsi, si un fort pic de genèse de neurones a lieu en octobre, sans que la quantité totale de cellules ne varie, c'est donc qu'il existe en parallèle, une augmentation de l'apoptose dans cette zone.

Ce changement saisonnier d'habitudes nutritives s'accompagne d'un changement de comportement social. En effet, à la fin de l'été, les couples de mésanges se regroupent en petites hordes hiérarchisées, en vue de passer l'hiver⁵.

⁵ <http://www.oiseaux-birds.com/fiche-mesange-tete-noire.html>

Sans en tirer une quelconque conclusion de causalité, il est tout de même très intéressant de noter l'étroitesse du lien entre neurogénèse hippocampique et comportement !

La neurogénèse perdue au cours de l'évolution ?

Tout au long de ces découvertes, les travaux de provenances diverses étaient systématiquement contestés par le Professeur Pasko Rakic, médecin et chercheur de l'université de Yale, à l'aura éminente, qui publia par 2 fois des études concluant à l'absence de neurogénèse chez les primates, laissant penser à un abandon de cette fonction au fil de l'évolution.

Lors de travaux réalisés en 1983 et soumis un an plus tard (Rakic, 1985), il indique n'avoir trouvé aucun neurone généré après la période développementale.

Cette étude portait sur un très large éventail de cas : 12 singes, âgés de 6 mois à 11 ans, reçurent de 1 à 7 injections de ^3HT et furent tués 3 jours à 6 ans après la dernière injection. 9 de ces singes étaient gestants et la bonne assimilation de ^3HT fut vérifiée dans leur progéniture.

Une pléiade de tissus fut étudiée : tissus cérébraux, cutanés, intestinaux et autres connus pour leurs capacités de régénération.

Selon l'article, de très nombreux types de cellules étaient marqués à la ^3HT , excepté les neurones.

Pasko Rakic termine l'article en écrivant que si la neurogénèse intervient chez des espèces capables de régénération axonale (rat, oiseaux passereaux et poissons), il n'en est pas de même pour les primates. Il propose que le primate, du fait de sa relation prolongée avec son environnement, a besoin d'une grande stabilité de son matériel neuronal pour conserver longtemps l'empreinte des expériences passées.

Pour Pasko Rakic, la stabilité de la matière cérébrale est donc nécessaire à la capacité d'adaptation.

La neurogénèse hippocampique chez l'Humain ou la consécration !

C'est en 1998, soit plus de 33 ans après la publication des travaux d'Altman et Das, que la preuve que l'humain génère jusqu'à la fin de sa vie de nouveaux neurones, est apportée par l'équipe du Docteur Fred Gage (Eriksson et al., 1998).

Une fin de vie, aussi particulière soit-elle, à l'instar de celle des patients de cette étude qui étaient atteints de cancer en phase terminale, et à qui l'on a injecté dans les derniers moments de leur existence du BromodéoxyUridine (BrdU), à des fins de diagnostic.

Il est important de noter ici le changement de marqueur. L'équipe remplaça la thymidine tritiée (possédant une demi-vie radioactive d'environ 12 ans) par le BrdU. Celui-ci est aussi un analogue de la thymidine, qui prend sa place dans la double hélice. Cependant, pour être révélé, il doit faire l'objet d'une réaction d'immunohistochimie.

Ainsi, 5 patients atteints de cancer reçurent du BrdU. Un 6^{ème} patient diagnostiqué avec une tumeur similaire ne reçut pas de BrdU et servi donc de contrôle.

Tous les patients ayant reçu du BrdU présentèrent une localisation de celui-ci dans la couche granulaire du gyrus denté de l'hippocampe. Les cellules marquées possèdent des morphologie et localisation identiques à celles trouvées chez le rat et les autres mammifères d'études précédentes.

Il est à noter qu'aucun marquage n'était visible chez le 6^{ème} patient non injecté, attestant donc de la spécificité des anticorps utilisés contre le BrdU pour en révéler la présence.

Afin de déterminer le phénotype des cellules nouvellement générées, les auteurs traquèrent les cellules porteuses à la fois de BrdU, indiquant leur date de genèse, et de NeuN, indiquant leur phénotype neuronal.

Ainsi, ils révélèrent la présence de 22% en moyenne de cellules granulaires nouvellement générées dans la couche éponyme du gyrus denté.

Ces travaux ont donc donné un grand coup de fouet à la recherche sur ce phénomène.

Neurogénèse hippocampique : les grandes lignes

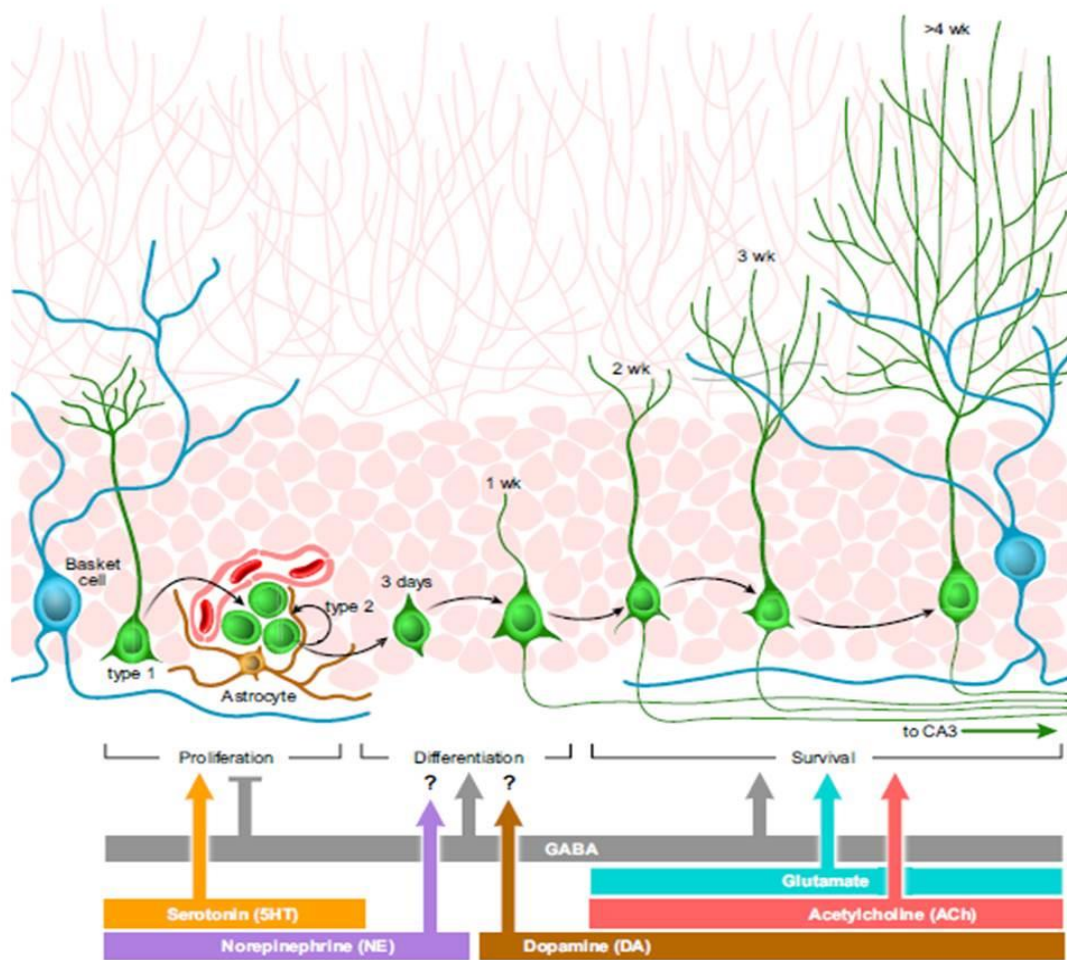
Les découvertes faites depuis 1965 nous ont appris que :

- Les neurones différenciés ne se divisent pas, mais des cellules souches et autres précurseurs permettent une genèse de ceux-ci.
- Les zones de prolifération et différenciation sont différentes de la zone d'adressage.
- Il existe des corrélations entre neurogénèse et comportement

Les grandes étapes de la neurogénèse hippocampique chez les mammifères sont les suivantes :

- **Prolifération cellulaire** : Entrée en mitose des cellules souches, situées dans la zone sous-granulaire. L'une des 2 cellules-filles garde le phénotype d'une cellule souche, permettant une certaine constance de la population, tandis que l'autre se différencie en progéniteur. Il est à noter que les **cellules souches sont communes aux lignées gliales et neuronale**. Les progéniteurs cellulaires intermédiaires sont eux-aussi capables de division cellulaire, mais sont spécifiques d'une lignée.
- **Migration cellulaire** : Les progéniteurs se déplacent de la zone sous-granulaire vers la couche granulaire, tout en se divisant. Tout au long de leur migration, les cellules continuent leur différenciation en neurones.
- **Sélection** : Tous les neurones ne sont pas maintenus en vie jusqu'à leur intégration finale, bon nombre d'entre eux entrent en apoptose.
- **Maturation/Intégration** : Une fois sélectionnés pour la survie, les neurones granulaires continuent leur croissance par émissions de leurs dendrites et axones, les faisant entrer en contact avec les autres neurones déjà en place. On considère, chez le rat, qu'un neurone est mature au bout de 8 semaines.

Figure 7 : La neurogénèse, de la cellule souche au neurone mature



(Aimone et al., 2014)

Tout au long de ce processus, les neurones nouvellement générés s'insèrent sous l'influence d'une pléiade de facteurs régulateurs et modulateurs de différentes natures (Abrous, Koehl, & Moal, 2005; Aimone et al., 2014; Arenkiel, 2011) :

- Les différentes hormones, notamment la corticostérone provenant de l'axe hypothalamo-hypophysaire qui inhibe la prolifération cellulaire
- Les neurones déjà en place sécrètent des neurotransmetteurs à rôles différents selon le stade de la neurogénèse
- Durant leur insertion dans les réseaux préexistants, les neurones en maturation émettent de fortes efférences inhibitrices sur leurs voisins (Drew et al., 2016), puis reçoivent petit à petit des afférences inhibitrices (Pardi, Ogando, Schinder, & Marin-Burgin, 2015)

- Les cellules gliales, notamment les astrocytes qui sécrètent un activateur de facteur de transcription, Wnt, activant NeuroD1 (présent dans toutes les régions neurogéniques) et Prox1 (uniquement présent dans le gyrus denté), induisent la prolifération des cellules souches neurales ainsi que leur différenciation

Ces éléments d'ajustement sont autant de cibles de mécanismes pathologiques aboutissant à l'altération de la neurogénèse hippocampique. Comme nous le verrons plus en détails par la suite, dans plusieurs situations pathologiques altération de la neurogénèse et troubles neurologiques et/ou psychiatriques sont concomitants. L'interaction avec l'environnement a, de toute évidence, de forts impacts sur la neurogénèse hippocampique. Parmi les plus importants :

- Le stress inhibe la prolifération cellulaire
- L'activité physique augmente la prolifération
- L'enrichissement de l'environnement et les apprentissages dépendant de l'hippocampe favorisent la survie cellulaire

Je me dois de préciser que je me focaliserai principalement sur des cellules matures (âgées de 8 semaines et plus chez le rat). En effet, un consensus existe dans la communauté scientifique au sujet des cellules plus jeunes et de nombreux travaux indiquent que durant leur maturation, les neurones granulaires, générés dans les phases de vie développementale comme adulte, ont une plasticité plus importante que lorsqu'ils sont matures (à partir de 8 semaines chez le rat). Le marqueur par excellence de la plasticité neuronale est la potentialisation à long terme, la possibilité qu'une réponse à une stimulation soit augmentée, qu'une stimulation après potentialisation engendre une réponse plus importante qu'auparavant. Celle-ci peut perdurer plusieurs semaines voire mois (Wickliffe C. Abraham, Mason-Parker, Williams, & Dragunow, 1995). Des neurones âgés de 4 semaines (déjà intégrés dans la circuiterie hippocampique) requièrent un seuil de stimulation potentialisante plus faible et présentent une réponse potentialisée plus forte que des neurones matures (Ge et al., 2007). Plus récemment, l'équipe d'Alejandro Schinder a indiqué que la plasticité différentielle, entre neurones générés à l'âge adulte était en partie due à la mise en place progressive des afférences inhibitrices (Pardi et al., 2015). Ainsi, tous sont d'accord quant à l'existence d'une période critique dans la vie d'un neurone, entre 4 et 8 semaines chez le rat, durant laquelle la plasticité est plus facilement induite.

Partie 2 : Neurogénèse hippocampique - État actuel des connaissances

Relevé d'implications pathologiques

Épilepsie

Selon l'association Epilepsie France⁶, « L'épilepsie est le trouble neurologique le plus fréquent après la migraine. En France, il y aurait 400.000 à 500.000 personnes épileptiques. Chaque année, 4.000 enfants de moins de 10 ans deviennent épileptiques. [...] Dans la plupart des cas, l'épilepsie peut être contrôlée par des médicaments. »

L'épilepsie ou plutôt les épilepsies sont un ensemble de troubles neurologiques caractérisés par des crises répétées. Ces crises sont dues à l'hyperexcitabilité de cellules et structures nerveuses anatomiquement proches ou non, qui synchronisent leur activité électrique.

On distingue aujourd'hui les syndromes épileptiques (ensemble de maladies reconnues, par exemple le syndrome de West), les épilepsies de cause connue - malformations du développement cortical, tumeurs, traumatismes, AVC, angiomes ... – et les épilepsies de causes inconnues (Berg et al., 2010).

Un grand nombre d'épilepsies sont dites primaires ou idiopathiques, lorsqu'elles résultent d'une mutation génétique engendrant un dysfonctionnement de la communication interneuronale et une propension à la survenue de crises spontanées. Des mutations de canaux ioniques ou de récepteurs aux neurotransmetteurs notamment, sont souvent retrouvées. L'origine de nombreuses épilepsies d'étiologie inconnue est aussi considérée comme une mutation, même si la mutation n'est pas encore identifiée (Bernasconi, Bernasconi, Bernhardt, & Schrader, 2011; Bialer & White, 2010).

D'autres sont dites secondaires ou symptomatiques, lorsqu'elles sont la conséquence d'un dysfonctionnement acquis de zones cérébrales (chocs, sclérose, tumeurs, hypoxies...).

On distingue⁷ :

- La crise d'épilepsie : Période où l'hypersynchronisation électrique de différentes cellules et structures du SNC s'amplifie et se propage ; il y a différents types de crises (partielle, généralisée) qui ne seront pas décrites ici.

⁶ <http://www.epilepsie-france.com/lepilepsie/maladie/en-quelques-mots.html>

⁷ L'épileptogénèse est représentée dans une figure en annexe

- L'épilepsie : Évolution cytologique et histologique menant de la physiologie à la pathologie des réseaux, conduisant de l'ictogénèse (naissance de la première crise) à l'épilepsie (la répétition de crises).

Parmi les épilepsies symptomatiques, les ELTm, ou Épilepsies du Lobe Temporal mésial (partie interne du lobe temporal), sont très répandues chez l'Homme et associées à des déficits cognitifs. Ces épilepsies impliquent habituellement des symptômes et une « aura »⁸, en lien avec cette structure, tels qu'une sensation de brûlure gastrique, des changements émotionnels brutaux (de la peur la plupart du temps), et quelquefois des hallucinations gustatives ou olfactives. C'est de ce type d'épilepsies qu'était atteint le célèbre écrivain Fiodor Dostoïevski, qui écrira à propos de l'aura épileptique : « J'avais l'impression que le paradis descendait sur Terre et m'engloutissait. J'atteignais Dieu et il m'emplissait. Aucun de vous, qui n'êtes pas malades, ne pouvez vous figurer ce qu'est le Bonheur, ce Bonheur, dont nous les épileptiques, faisons l'expérience le temps d'une seconde avant une attaque. »⁹

De 1825 à 1995, la communauté scientifique s'est interrogée sur le sens à donner à la corrélation observée entre cette épilepsie et la sclérose hippocampique. En effet, dès 1825, les docteurs Bouchet et Cazauvieilh (Bouchet & Cazauvieilh, 1825) ont mis en évidence cette sclérose dans le cerveau de patients épileptiques. Des données confirmant cette corrélation ont été apportées jusqu'en 2012 (Blümcke, Coras, Miyata, & Ozkara, 2012). Les docteurs Blümcke *et al.* rapportent que dans les hippocampes de patients souffrant d'épilepsies pharmacorésistantes, on observait différentes modifications de l'hippocampe :

- Une perte de neurones pyramidaux dans la corne d'Ammon
- Une « astroglie » (multiplication anormale des astrocytes)
- Une réorganisation des axones des cellules du gyrus denté (une diffusion, une dissémination des fibres moussues)
- Un effritement de la couche granulaire.

Pendant les 10 dernières années, la thèse prédominante était qu'une dérégulation de la neurogénèse hippocampique, engendrant un emballement de ce phénomène était responsable de

⁸ Aura épileptique : courte période avant la crise pendant laquelle l'excitation exagérée naît dans la zone épileptogène et se synchronise

⁹ <http://www.charge.org.uk/htmlsite/dost.shtml>

l'épileptogénèse dans le lobe temporal. Pour discuter de l'imbrication de l'ELTm et la neurogénèse hippocampique, je me suis appuyé sur deux revues, l'une élaborée par les docteurs Jessberger et Parent, parue en novembre 2015 (Jessberger & Parent, 2015), l'autre rédigée par les docteurs Zhong, Ren et Tang, publiée en janvier 2016 (Zhong, Ren, & Tang, 2016).

L'ensemble des auteurs part des observations de la corrélation entre altération de la neurogénèse hippocampique et crises d'épilepsie, chez des patients humains. Dans les études portant sur différents modèles animaux, cette corrélation est biaisée, car l'induction des crises précède l'étude de la neurogénèse.

L'augmentation de l'activité électrique survenant lors de crises impacte non seulement les structures déjà en place du système nerveux central, mais aussi les cellules souches neurales. Plusieurs travaux cités par ces revues indiquent que cet accroissement de l'influx électrique engendre une forte prolifération des neuroblastes. Ceci par la perturbation d'un grand nombre de facteurs régulant et modulant l'entrée en division cellulaire de ces cellules souches.

Cette prolifération induite par les crises présente des proportions neurones/glie équivalentes aux conditions physiologiques.

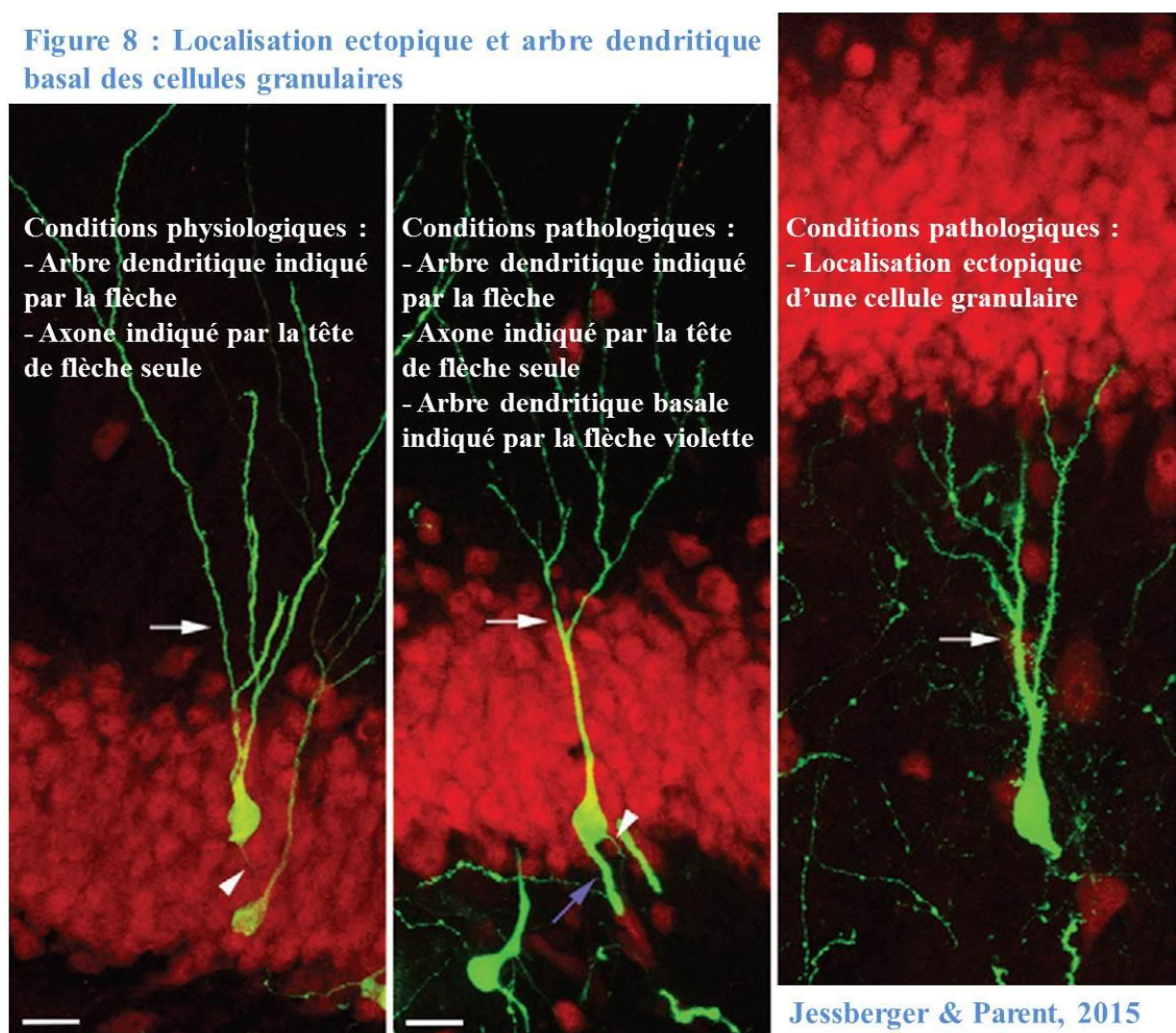
Cependant, le taux de survie cellulaire observé dans le cas d'une neurogénèse induite par une ou plusieurs crises est bien inférieur à la normale.

Une fois la phase de sélection cellulaire passée, les neurones différenciés générés suite à une ou plusieurs crises présentent d'autres altérations. En effet, ils établissent plus rapidement des connexions et s'incorporent donc plus vite dans les réseaux préexistants. L'impact de cette incorporation accélérée n'a, selon ces auteurs, pas encore été étudié.

De plus, les neurones issus de ces conditions pathologiques présentent 2 aberrations morphologiques (délocalisation du corps cellulaire et développement anormal de l'arbre dendritique) ayant des retentissements sur le fonctionnement des structures auxquelles ils appartiennent, ainsi que sur les réseaux auxquels ces structures participent. Les corps cellulaires de ces neurones se retrouvent fréquemment dans le hile, soit en dehors de la zone anatomique où elles doivent être confinées (la couche granulaire). On parle de localisation ectopique. Ils possèdent également une partie de leur arbre dendritique en position basale (alors que les dendrites ne sont

qu'en position apicale physiologiquement), connectée à ce même hile contenant interneurons GABAergiques (inhibiteurs) et interneurons glutamatergiques (excitateurs).

Figure 8 : Localisation ectopique et arbre dendritique basal des cellules granulaires



Par ces modifications, les cellules granulaires voient leurs afférences drastiquement perturbées, recevant ainsi plus de messages en provenance du hile.

En résumé, les auteurs s'accordent à dire que les crises d'épilepsie du lobe temporal altèrent la neurogénèse hippocampique à plusieurs niveaux :

- **Diminuent le nombre de neurones générés *in fine***
- **Modifient la connectivité des cellules granulaires générées**

En revanche, ils divergent sur le lien de causalité entre altération de la neurogénèse et épileptogénèse :

- Pour Jessberger et Parent, qui citent notamment les travaux de chercheurs de l'université de Cincinnati dans l'Ohio, publiés en 2012 (Pun et al., 2012), il est autant possible qu'une altération de la neurogénèse hippocampique soit responsable de l'épileptogénèse, que l'inverse.

Ils présentent également des travaux faisant état de corrélation entre la diminution de la population de cellules aberrantes générées suite à une crise et la survenue future des crises (Jung et al., 2004, 2006). Ils utilisent le conditionnel lorsqu'ils évoquent la possible formation d'une boucle par connexion entre fibres moussues (partant du DG vers le CA3) et cellules granulaires générées après une crise.

- Pour Zhong *et al.*, en revanche, l'idée selon laquelle, une augmentation pathologique de la neurogénèse serait la clé de voûte de l'épileptogénèse des épilepsies du lobe temporal mésial est à bannir. En effet, ils mettent en avant le fait que dans les modèles animaux, la situation épileptique, générant des crises spontanées, s'installe avant l'intégration des neurones nouvellement générés à la suite des crises induites par l'expérimentateur.

Je commenterai ces 2 revues en insistant tout d'abord sur la prudence relative de ces deux groupes d'auteurs qui malgré les formulations de leurs propositions, rappellent qu'il n'existe pas de données précises sur les stades chroniques des épilepsies du lobe temporal et leurs impacts sur la neurogénèse hippocampique.

Cependant, quel que soit le sens de la causalité, si elle existe, on voit bien qu'il y a des liens entre ces deux phénomènes. Les effets de l'un ou l'autre de ces événements sont tout à fait néfastes pour le système nerveux central et sa plasticité et nécessitent donc l'attention de la communauté scientifique.

Maladie de Huntington

La maladie de Huntington touche 1 personne sur 10 000 dans la population française selon Orphanet¹⁰. C'est une pathologie neurodégénérative d'origine génétique dans laquelle on observe une mort neuronale dans le striatum, structure cruciale dans la régulation des mouvements mais aussi dans le cortex (Shannon & Frait, 2015; Wang et al., 2014). La perte de neurones striataux

¹⁰ http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=118&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=huntington&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Maladie%28s%29/groupes%20de%20maladies=Maladie-de-Huntington&title=Maladie-de-Huntington&search=Disease_Search_Simple

serait en grande partie responsable de la symptomatologie motrice observée chez ces patients : mouvements involontaires, rassemblés sous le terme de chorée de Huntington. Cette maladie s'accompagne également, et c'est surtout ce qui occupera notre propos ici, d'un important déclin cognitif.

Depuis plusieurs années, des mutations d'un gène, celui d'une protéine appelée huntingtine ont été identifiées. Ces mutations génèrent des phénotypes alternatifs de la protéine. La huntingtine est une protéine multifonctionnelle, impliquée dans :

- Le métabolisme du Ca^{2+} par liaison avec un complexe au récepteur de l'IP3
- La régulation du métabolisme du Fer dans les organites cellulaires périnucléaires
- Le transport vésiculaire par formation d'un complexe protéique permettant notamment le transport des vésicules contenant du BDNF, un facteur de croissance neuronal, le long des microtubules.
- Le cycle de vie cellulaire : elle est antiapoptotique en se fixant à la caspase 3 activée, entraînant son inhibition.

La mutation la plus répandue est la multiplication de codons CAG, responsable d'une polyglutamination de la protéine en partie N-terminal. Dans le cas d'un tel surnombre (plus de 36 glutamines), la protéine devient non fonctionnelle et s'agrège, menant les neurones possédant ces agrégats à la mort.

Parallèlement aux mutations génétiques, un autre moyen de régulation du fonctionnement de la huntingtine est sa phosphorylation sur les sérines, qu'elle comporte en positions 1181 et 1201. Des travaux menés à l'Institut Curie (Ben M'Barek et al., 2013), mettent en évidence le rôle de cette phosphorylation, non seulement dans la régulation de l'apoptose des neurones striataux, mais aussi et surtout dans la médiation de comportements dépressifs et anxieux, ainsi que dans la neurogénèse hippocampique.

En effet, par remplacement de ces sérines 1181 et 1201 par des alanines, chez des souris, ils obtinrent :

- Une réduction de leur comportement anxieux, estimé par exploration d'une plateforme à « ciel ouvert » (hautement aversif pour les muridés), ainsi qu'un nouvel environnement de distribution de nourriture.

- Une réduction de leur comportement dépressif, par estimation du temps de toilette après vaporisation d'une solution de saccharose.
- Une augmentation du taux de survie des cellules nouvellement générées dans le gyrus denté.
- Une augmentation de la maturation de ces mêmes cellules, par mesures de la complexité et de la longueur de leurs arbres dendritiques.

Ici aussi, sans préjuger de la causalité, il est intéressant de noter que la huntingtine et ses dérégulations sont corrélés à des variations de la neurogénèse hippocampique.

Troubles émotionnels

Ces troubles sont constitués de la dépression et de l'anxiété, deux pathologies, qui, bien que distinctes, possèdent de nombreux points de communication.

Je présenterai dans un premier temps la dépression, puis passerai à l'anxiété, avant de les évoquer, sauf mention contraire, de manière simultanée sous le terme « Troubles émotionnels ».

Concernant la dépression, il s'agit d'un trouble psychiatrique, dont le diagnostic se fait donc en accord avec le DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – 5^{ème} édition). Il y est répertorié 9 symptômes :

- Une **tristesse** quasi-permanente, avec parfois des pleurs (humeur dépressive)
- Une **perte d'intérêt et du plaisir** à l'égard des activités quotidiennes, même celles habituellement plaisantes (anhédonie)
- Un sentiment de **dévalorisation** et de culpabilité excessif ou inapproprié
- Des **idées de mort** ou de suicide récurrentes, le sentiment que la vie ne vaut pas la peine d'être vécue
- Un **ralentissement psychomoteur**
- Une **fatigue** (asthénie), souvent dès le matin
- Une **perte d'appétit**, souvent associée à une perte de poids
- Des troubles du sommeil avec en particulier des **insomnies matinales**
- Des **difficultés attentionnelles**, de concentration et de mémorisation

Le diagnostic sera établi dès lors que le patient présentera 5 de ces 9 symptômes et la sévérité de la maladie sera jugée proportionnellement au nombre de symptômes présentés.

Selon un rapport de l'Institut National de Prévention et d'Éducation pour la Santé, en 2010, 7,5% des 15-85 ans avaient vécu un épisode dépressif caractérisé au cours des 12 derniers mois.

Concernant l'anxiété, Karen Ritchie¹¹, épidémiologiste et neuropsychologue, la définit de manière suivante :

« L'anxiété généralisée se caractérise par une inquiétude incontrôlable à propos des événements de la vie quotidienne concernant le patient lui-même ou ses proches et pouvant durer plusieurs mois. [Cette] anxiété est polymorphe (ne concerne pas une préoccupation en particulier), chronique et envahissante [...]. Elle est souvent assumée par le patient qui croit pouvoir grâce à elle éviter les ennuis. »¹²

Les informations suivantes ont été collectées dans la revue rédigée par Eunchai Kang et ses collaborateurs de l'École universitaire de médecine de Baltimore aux USA, publiée le 22 janvier 2016 (Kang, Wen, Song, Christian, & Ming, 2016).

En 2000, soit 2 ans après la preuve qu'un renouvellement cellulaire a bien lieu dans le cerveau humain, Jacobs et ses collaborateurs, partant de l'observation que le stress cause une diminution de la taille de l'hippocampe, formulèrent l'hypothèse selon laquelle le stress agirait en diminuant la neurogénèse hippocampique menant à la dépression (Jacobs, van Praag, & Gage, 2000).

Pour discuter de cette hypothèse, Kang et ses collaborateurs présentent dans un premier temps des données inhérentes à l'humain, puis discutent de travaux réalisés pour tenter d'évaluer l'implication de la neurogénèse dans les effets des thérapeutiques antidépresseurs et enfin, exposent des résultats d'études sur les effets des antidépresseurs sur la neurogénèse.

Des études postmortem chez des patients atteints de dépression ont mis en évidence une diminution de la taille de l'hippocampe. Cependant, aucune donnée concernant la diminution de la neurogénèse ou son intervention dans la réduction de la taille de l'hippocampe n'est vraiment concluante chez l'humain.

¹¹ <http://cvscience.aviesan.fr/cv/1039/karen-ritchie>

¹² <http://www.mg-psy.org/php/troubles-courants/reconnaitre-troubles-f41-1.php>

Au sujet du rôle de la neurogénèse dans les effets des thérapeutiques antidépresseurs, les résultats indiquent que l'administration d'une telle thérapeutique doit s'accompagner d'une neurogénèse hippocampique saine pour être un succès. Cependant, la suppression de la neurogénèse chez différents modèles animaux n'est pas suffisante pour engendrer des comportements dépressifs ou anxieux.

Concernant les effets des thérapeutiques sur la neurogénèse, un grand nombre d'études ont établi que les traitements antidépresseurs augmentaient la neurogénèse hippocampique chez des individus allant des rongeurs aux primates non-humains sur notre branche de l'arbre de l'évolution. Ceci, pour 3 types de médicaments : les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (Fluoxétine, Escitalopram), les antidépresseurs tricycliques (Imipramine et Désipramine) et la Tianeptine, un antidépresseur classé « autres », activateur de la recapture de la sérotonine.

Enfin, les auteurs soulignent que dans les modèles animaux de comportements dépressifs et anxieux, le stress est toujours l'inducteur. Ce stress qui, comme nous l'avons évoqué plus haut, diminue la neurogénèse hippocampique.

Ainsi, selon eux, bien qu'il reste à déterminer si l'altération de la neurogénèse est bien la cause de la dépression, de nombreuses preuves s'amoncellent en faveur de cette théorie formulée en 2000.

Schizophrénie

La schizophrénie est une maladie psychiatrique comportant des symptômes positifs tels que des délires, des hallucinations, un comportement et/ou un discours incohérent-s, ainsi que des symptômes négatifs dont une incapacité à exprimer les émotions, des déficits cognitifs, ainsi qu'un manque de motivation et d'empathie.

D'après le dossier réalisé par Marie-Odile Krebs sur le site internet de l'Inserm¹³, 600 000 personnes en France seraient atteintes de schizophrénie. Cette maladie se déclare le plus souvent entre 15 et 25 ans.

¹³ <http://www.inserm.fr/thematiques/neurosciences-sciences-cognitives-neurologie-psychiatrie/dossiers-d-information/schizophrénie>

Selon l'hypothèse actuelle, nous expliquent Euehain Kang *et al.*, la schizophrénie n'est que le résultat final de changements neurodéveloppementaux lents parmi lesquels :

- L'élargissement des ventricules
- La perte de matière blanche et grise majoritairement dans l'hippocampe, le thalamus et le lobe frontal

L'idée qu'une neurogénèse hippocampique altérée soit un symptôme ou une cause de cette maladie s'appuie, toujours selon ces mêmes auteurs, sur une étude postmortem chez l'Humain (Reif et al., 2006), dans laquelle, un seul marqueur de prolifération des progéniteurs a été mesuré et qui indique que cette prolifération cellulaire est moins importante chez ces patients que chez ceux souffrant d'autres troubles psychiatriques comme la dépression. Ce qui renforce cette idée est que de nombreuses études établissent une corrélation entre l'amélioration des symptômes de la schizophrénie et la normalisation du volume hippocampique, permettant ainsi de proposer un lien entre l'anatomie et la manifestation des troubles.

Addiction

L'addiction à une substance a longtemps été vue comme une propriété intrinsèque du produit, sans tenir compte du terrain que constitue l'usager. On sait aujourd'hui que tous les individus (humains ou non) ne sont pas égaux face à ce trouble, qu'il existe des prédispositions génétiques et environnementales. Le diagnostic se fait selon le DSM-5. Pour établir le diagnostic, il faut que le patient possède 2 ou plus des symptômes suivants. Au-delà de 5, on parlera d'addiction sévère.

- consommation importante ou sur une période plus longue que prévue
- efforts infructueux d'arrêt
- temps passé à rechercher la substance (chronophagie)
- craving (=vive sensation de manque)
- altération des obligations
- persistance d'usage malgré les problèmes qu'il cause
- abandon des autres activités
- situations dangereuses
- tolérance

- syndrome de sevrage

Au fur et à mesure de la prise, il se crée une relation entre le produit, ses effets, l'utilisateur et son environnement. Une habitude de prise – un conditionnement – s'établit. Ceci, notamment par le biais du circuit de la récompense : des neurones dopaminergiques, de l'aire tegmentale ventrale (à la jointure entre le mésencéphale et le pont), projettent leurs axones sur le cortex frontal, zone de contrôle des prises de décision ainsi que sur le noyau *accumbens* (structure striatale des ganglions de la base), directement ou indirectement avec un relai dans l'hippocampe. Le contrôle du cortex frontal sur le comportement s'estompe au profit des systèmes de récompense, d'action et de mémoire (Volkow, Wang, Fowler, Tomasi, & Telang, 2011). Il est intéressant de pointer du doigt le fait que, dans le cas de la neurogénèse olfactive, la survie des cellules nouvellement générées est d'autant plus importante que l'apprentissage les recrutant fait appel à ce circuit de la récompense (Lepousez, Nissant, & Lledo, 2015).

Le groupe d'auteurs de l'école universitaire de médecine de Baltimore nous indique que, plus il y a de neurogénèse hippocampique, plus les comportements de prise de la substance et de sa recherche s'atténuent (Kang et al., 2016).

Chez des modèles animaux, les facteurs favorisant la neurogénèse, comme l'exposition à de nouveaux environnements, l'exercice physique ou encore l'administration chronique d'antidépresseurs sont associés à la même atténuation des comportements de prise et de recherche de la substance (Kang et al., 2016).

Il s'agit une nouvelle fois de corrélations, mais il est tout de même intéressant de voir l'imbrication complexe de ce phénomène avec les situations physiologiques et pathologiques.

Nous avons donc vu qu'à chaque situation pathologique était associée une ou plusieurs altération-s de la neurogénèse hippocampique :

- L'augmentation de l'activité électrique dans les épilepsies induit une diminution du nombre total de neurones générés *in fine*, ainsi que des altérations de la connectivité
- L'altération protéique de la huntigine joue sur la survie et la maturation cellulaires. Ici, ce sont principalement des phénotypes alternatifs émotionnels qui sont recensés

- Les effets des thérapeutiques antidépressives sur la prolifération sont assez probants (sans toutefois qu'une altération de la neurogénèse soit suffisante pour engendrer un trouble émotionnel)
- L'augmentation du comportement addictif est corrélée à la diminution de neurogénèse hippocampique

En revanche, concernant la schizophrénie, il n'y a pas de données vraiment concluantes sur les atteintes de la neurogénèse.

Dans la plupart de ces sujets, la chronologie des événements et leur potentielle causalité semblent poser problèmes. Beaucoup d'écueils à une bonne interprétation des résultats proviennent de la difficulté à concevoir des modèles au plus proche de la réalité pathologique.

A mon avis, si l'altération de la neurogénèse engendre un trouble, ou vice versa, il est tout à fait probable qu'un engrenage se mette en place et qu'une altération mutuelle s'installe.

Approche anatomofonctionnelle

Les travaux d'Henriette van Praag et ses collaborateurs de l'équipe de Fred Gage (van Praag et al., 2002), montrant que les cellules granulaires nouvellement générées dans l'hippocampe des muridés sont des neurones tout ce qu'il y a de plus fonctionnel, par l'établissement de connexions afférentes et de génération de potentiels d'action, ont donné lieu à une longue controverse de plusieurs années : il fallait établir d'établir si ces neurones nouvellement générés étaient fonctionnellement pertinents, s'ils permettaient la plasticité de la structure, s'ils étaient responsables de fonctions particulières au sein de l'hippocampe, que nous aborderons dans la partie *Fonction de la neurogénèse*, ou s'ils étaient uniquement là comme des reliques du passé, des témoins d'un phénomène qui n'a quasiment plus cours à l'âge adulte. En effet, du fait de la restriction anatomique de la neurogénèse, dans la couche sous-granulaire du gyrus denté de l'hippocampe, les chercheurs se demandaient si le développement physiologique d'un individu et sa croissance font fermer les vannes de cette genèse de neurones après la période développementale critique, en laissant ce petit robinet hippocampique couler, par négligence, ou s'il existe des raisons fonctionnelles au maintien de cette production de nouveaux neurones.

On attribue volontiers à l'hippocampe, un rôle dans le traitement des informations de deux principaux types :

- 1) **La mémoire** : Dans cette fonction, l'hippocampe constituerait la porte d'entrée des informations en vue de leur rétention. Étant donné que les mécanismes sous-tendant la rétention précise des informations dans le système nerveux central ne sont pas clairement élucidés, je ne m'étendrai pas. Cependant, il est à noter que pour un type particulier de mémoire émotionnelle, la mémoire de peur, il existe de solides éléments. En effet, l'équipe de Susumu Tonegawa (Liu et al., 2012) a montré que lorsque des neurones du gyrus denté ont été activés durant l'encodage d'un événement traumatisant (modèle de conditionnement de peur), la réactivation par optogénétique (technique à la sélectivité spatio-temporelle très forte) de ces neurones est nécessaire et suffisante pour déclencher le rappel (matérialisé par le comportement anxieux de l'animal).
- 2) **La représentation de l'espace** : En 1971, O'Keefe et Dostrovsky observèrent une activité électrique hippocampique corrélée à la position de l'animal dans un lieu (O'Keefe & Dostrovsky, 1971). Ils découvrirent ainsi les cellules de placement (« place cells ») de l'hippocampe, qui sont une population de neurones dont chacun est affecté à un point de l'environnement et y décharge lorsque l'animal s'y trouve. En 2005, les époux Moser et leur équipe (Hafting, Fyhn, Molden, Moser, & Moser, 2005) mirent en évidence les cellules de quadrillage (« grid cells »), situées dans le cortex entorhinal (structure afférente à l'hippocampe), qui, elles, possèdent un niveau de complexité supérieur et dont la décharge répond à un ensemble de 3 paramètres (échelle de distance dans l'environnement, orientation et déplacement relatif à un repère externe). L'ensemble des populations de cellules de placement et quadrillage, permettent une cartographie de l'environnement dans lequel l'animal évolue. Ces découvertes valurent le prix Nobel de Physiologie/Médecine 2014 à John O'Keefe et aux époux May-Britt et Edvard Moser¹⁴.

La mémoire étant intimement liée à l'apprentissage et au vu des éléments précédemment cités, les modèles prédominants dans l'étude fonctionnelle de l'hippocampe sont portés sur l'apprentissage et la mémorisation dits spatiaux, qui requièrent une analyse globale de l'environnement et de ses constituants. On oppose les apprentissages spatiaux aux apprentissages

¹⁴ http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2014/press.html

indiqués : tâche dans laquelle, un seul élément saillant de l'environnement est à prendre en compte. Ceux-ci sont en lien privilégié avec le striatum (autre structure cérébrale, mais sous corticale).

Comme je l'exposais au chapitre précédent, certaines conditions pathologiques affectent l'hippocampe en quantité et en qualité. Ceci se traduit dans les performances des animaux ou des patients humains, lors de tâches supposées hippocampodépendantes. Ainsi, nous assistons à une validation croisée :

- Les études post-mortem nous donnent le postulat de base issu d'observations : réduction hippocampique, lésions en tout genre etc., dans telle ou telle situation pathologique
- Le patient ou l'animal dans cette situation pathologique, voit ses performances diminuer dans certaines tâches, que nous supposons hippocampodépendantes
- La sélectivité dans la perte des performances, due à cette situation pathologique, nous permet de conclure sur l'aspect hippocampodépendant de la tâche considérée

Ainsi, par la suite, nous concluons à une atteinte de l'hippocampe si les performances diminuent dans une ou plusieurs tâche-s prédéfinie-s. De même, nous supposons une tâche hippocampodépendante si et seulement si elle permet de séparer les individus (patients ou modèles animaux) sains et ceux atteints de certaine-s condition-s pathologique-s précise-s, par leurs niveaux de performances.

Si l'on attribue volontiers, un rôle crucial de l'hippocampe dans l'édification de la mémoire et de la représentation spatiale qu'a un individu de son environnement, on attribue un rôle moins clairement défini de régulation des émotions à cette même structure. En effet, l'hippocampe a été décrit dès le XIX^{ème} siècle, par le célèbre neurobiologiste Paul Broca, comme faisant partie du système limbique (étymologiquement en bordure du cerveau, du fait de sa situation anatomique). Et plus particulièrement, du circuit de Papez (du nom de son descripteur en 1937). Un rôle de régulateur émotionnel fut attribué à ce système et surtout à ce circuit. Le fonctionnement des émotions demandant, à mon avis, un niveau supérieur d'intégration des informations, il est plus difficile d'en identifier une structure-clé. Ainsi, bien qu'il existe moins de consensus dans les hypothèses du fonctionnement des émotions, que dans celles du fonctionnement de la mémoire et de la représentation spatiale, les chercheurs se sont tout de même intéressés de très près aux relations entre états émotionnels et fonctionnement hippocampique, comme nous en avons déjà discuté dans les sections portant sur la maladie de Huntington et les troubles émotionnels.

Dans le cadre de notre propos et pour ce qui suit, je ne ferai pas de distinction entre les différents niveaux d'implication de l'hippocampe et considérerai toutes les fonctions précédemment énoncées comme hippocampodépendantes.

La neurogénèse hippocampique et les fonctions définies comme hippocampodépendantes, sont en interaction forte et exercent un jeu d'influences réciproques. Ainsi, en vue de comprendre le tissage complexe de leur relation, deux principaux axes d'études ont été envisagés :

- Quels impacts ont les interactions environnement-individu sur la neurogénèse et le fonctionnement hippocampique ?
- Quels rôles joue la neurogénèse dans la physiologie de l'hippocampe ?

J'exposerai donc dans un premier temps ce que nous ont appris les études d'impact des variations de l'environnement, puis dans un second, celles de modulation de la neurogénèse sur la physiologie de l'hippocampe.

Impacts environnementaux

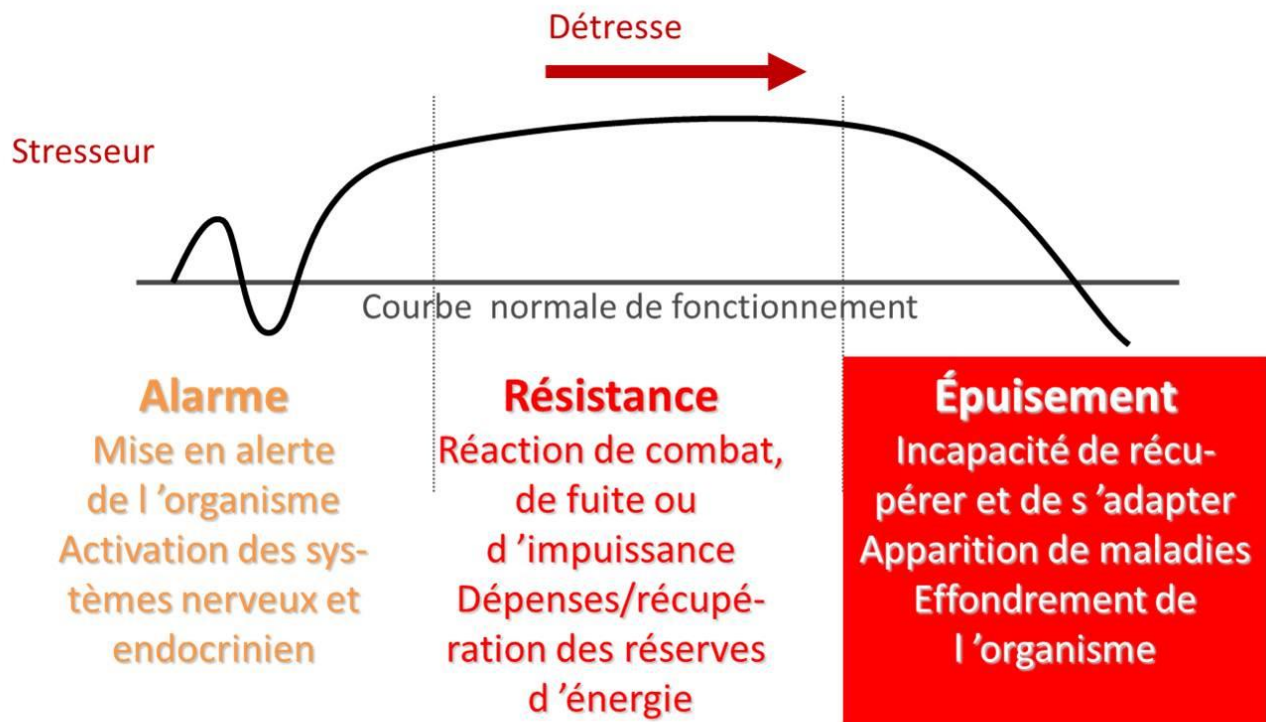
Le stress : inhibiteur de neurogénèse

Étymologiquement¹⁵, ce terme provient d'un raccourcissement de l'anglais « distress », dérivé de l'ancien français « destrece » du mot « détresse », qui indiquait un resserrement au XII^e siècle, mot de la même famille que « serrer ». « Serrer » se dit *strīngēre* en grec, et a donné *strictiare* en latin. Il a la même racine que les mots des familles « étreindre », « contraindre », « astreindre » et « rétrécir ». Il fut introduit par le Professeur en médecine Hans Seyle, en 1936¹⁶. Selon son modèle de Syndrome général d'adaptation, un stresser se dit de tout élément ou situation exerçant une pression sur un sujet, l'obligeant à répondre, suivant une chronologie bien précise. Dans un premier temps le sujet est étreint, pressurisé par le stresser, puis il développe une résistance et finit, la pression devenant insurmontable, par s'épuiser.

¹⁵ Picoche, J., & Rolland, J.-C. (2015). Dictionnaire d'étymologie du français. Paris: Le Robert

¹⁶ Extrait du cours donné par le Professeur Bruno Quintard, Professeur en psychologie de l'Université de Bordeaux, dans le cadre de la première année commune aux études de santé.

Figure 9 : Représentation de l'effort fourni par l'individu en réponse à un stressueur



<http://lorio.eu/2015/05/07/sga-le-syndrome-general-dadaptation/>

Pour ce qui suit, j'emploierai le terme « stress » pour faire référence à cette 3^{ème} phase uniquement. Ce moment à partir duquel, l'individu ne fait plus que subir la pression exercée, et n'est plus en mesure d'y répondre. Dans la littérature, il existe une différence entre stress doux et fort. Au vu des données que la différence de force du stress produit dans les paradigmes, je pense que les stress doux font en fait référence à des situations dans lesquelles l'animal est encore en phase de résistance, ou la contrainte reste supportable.

Il existe différents modèles de stress chez les animaux. En variant le nombre et les durées d'expositions aux éléments traumatisants, on génère des stress aigus (1 seule exposition) ou chroniques (répétition d'expositions).

Différentes situations traumatisantes sont utilisées :

- Placement de deux individus mâles ensemble, afin qu'une relation dominant-dominé s'installe, à l'origine d'un important stress pour le dominé
- Exposition d'un individu à des stimuli auditifs ou olfactifs de ses prédateurs
- Variation intempestive de la luminosité dans les salles d'hébergement

- Contention dans des tubes, privant l'animal de mouvement durant un court instant
- Vibration/tapotement de la cage

Certaines de ces situations sont dites « douces », comme les atteintes à la qualité de captivité (fluctuations lumineuses, vibrations de la cage), alors que d'autres sont dites « fortes », notamment le stress psychosocial généré par la domination d'un congénère.

Une revue de littérature a été réalisée en 2014, par des membres de l'équipe de Fred Gage et de chercheurs du Groupe de Modélisation Cognitive d'Albuquerque (Aimone et al., 2014). Une majeure partie des travaux sur le stress qu'ils y exposent, réalisés chez la musaraigne, le rat, la souris ou encore le ouistiti, s'accorde sur des altérations de la prolifération des cellules souches neurales ou de la survie des neurones nouvellement générés. Notons qu'il existe une tendance des modèles de stress psychosocial aigu à diminuer préférentiellement la prolifération cellulaire (bien qu'une étude ait eu des résultats contradictoires), et à affecter la survie pour les modèles de stress doux chronique.

Outre ces effets sur la neurogénèse, le stress aurait des effets plus étendus sur l'hippocampe, comme la réduction de la densité des fibres moussues, des modifications au niveau des dendrites de ses cellules, ou encore la diminution des populations neuronale et gliales (Korosi et al., 2012).

Bien que je ne l'aie pas évoqué ici, le stress, dans de nombreuses études, est évalué par la concentration plasmatique en corticostéroïdes, notamment le cortisol.

En résumé, il est intéressant de retenir que c'est dans les phases les plus précoces de la neurogénèse hippocampique, chez l'adulte, que le stress (tous types confondus) exerce ses effets délétères.

Jean-Claude Ameisen¹⁷, Professeur de médecine, spécialisé en immunologie, à l'Université Paris Diderot, entre autres Président du Comité Consultatif National d'Éthique, a souvent évoqué, dans son émission hebdomadaire « Sur les épaules de Darwin » sur France Inter, la manière dont la vie de la mère durant la gestation conditionne certains aspects de la vie de sa progéniture (le

¹⁷ http://lasculptureduvivant.fr/La_sculpture_du_vivant/CV.html

traitement des informations auditives¹⁸ par exemple), et participe au grand bouquet de prédispositions pour sa vie future.

De nombreux travaux, à travers les âges, se sont intéressés, chez l'humain ou l'animal, aux impacts potentiels de facteurs environnementaux, subis ou provoqués, par des femmes enceintes et femelles gestantes, sur la vie de leurs descendances. Sylvia Ortega-Martinez, chercheuse à l'Université de Bourgogne, a collecté des informations sur les impacts des différents types de stress prénatal, stress subi par un individu durant sa vie *in utero*, sur la neurogénèse hippocampique (Ortega-Martínez, 2015). Elle nous expose des travaux dans lesquels sont indiqués les effets du stress, en fonction de l'intensité des évènements traumatisants (force et durée). Ainsi, un stress prénatal fort et long chez le rat augmente le comportement de recherche de stupéfiant, supprime la prolifération cellulaire dans les premières phases de développement de l'hippocampe, affecte la morphologie des cellules de l'hippocampe (y compris les cellules souches neurales) et diminue les apprentissages et performances hippocampodépendants, alors qu'un stress prénatal doux stimule la différenciation cellulaire des précurseurs et la neurogénèse dans les premiers jours post-parturition (phase importante quantitativement et qualitativement du développement de l'hippocampe chez les rongeurs, comme nous l'avons évoqué dans la présentation des grandes étapes de la neurogénèse hippocampique).

Il est nécessaire de rappeler, une fois de plus, l'importance d'une modération dans les propos et dans la valeur donnée à la causalité. Ne commettons pas les dérives qui ont occasionnellement lieu, lors de la récupération d'articles scientifiques ou lorsque les auteurs eux-mêmes survendent leurs travaux, qui viseraient à indiquer que les conditions de vie *in utero*, sont nécessaires et suffisantes au développement des affections et comportements sus-cités.

Dans leur article intitulé « Society : Don't blame mothers », paru dans la revue *Nature*, Sarah Richardson et ses collaborateurs, insistent sur la dangerosité sociale et l'inexactitude scientifique de certaines recherches visant à trouver des origines développementales à la santé et aux maladies (Richardson et al., 2014). Ils écrivent à ce sujet, et j'abonde dans leur sens, que l' « influence

¹⁸ <http://www.franceinter.fr/emission-sur-les-epaules-de-darwin-des-chants-appris-avant-de-naitre-0>

individuelle d'une mère sur un fœtus vulnérable est mis en avant [mais que] l'impact des facteurs sociaux¹⁹ ne l'est pas. »

L'augmentation de l'activité physique

Même s'il me paraît évident que notre organisme constitue une entité globale, que l'on ne peut pas séparer corps et esprit contrairement à l'idée du dualisme selon Descartes, que notre matériel biologique étant un support à nos fonctions cognitives (sans prétendre qu'il en est l'unique source), qu'il va de soi que son bon état est une condition nécessaire au bon déroulement des fonctions cognitives, nous sommes ici dans un exercice scientifique. Je me dois donc d'apporter des éléments issus de l'expérimentation pour présenter la théorie²⁰ suivante : **L'activité physique augmente les performances cognitives d'un individu.**

Scientifiquement, la causalité n'a pas été établie, du fait de la très grande diversité de facteurs agissant sur la cognition et des multiples effets de l'activité physique. J'utiliserai donc le conditionnel pour l'ensemble des conclusions tirées par les chercheurs jusqu'alors.

J'ai choisi de présenter un travail de revue de littérature et méta-analyse de chercheurs de l'Université de l'Illinois, parue dans *Nature reviews* (Hillman, Erickson, & Kramer, 2008). Dans cette revue, les auteurs présentent différents axes de bénéfices chez l'humain :

- Il existe tout d'abord une réduction du temps de réaction et une exécution de tâche significativement plus rapide chez les individus pratiquant une telle activité, par opposition aux individus sédentaires.
- Une méta-analyse réalisée chez des humains de 4 à 18 ans expose des bénéfices de l'activité physique dans tous les critères testés (perception, quotient intellectuel, tests verbaux, calculs, mémoire, lecture...)
- Dans la partie la plus âgée de la population, les résultats proposent que l'activité physique pratiquée tout au long de la vie, parmi d'autres facteurs, diminuerait le risque de démence vasculaire et de maladie neurodégénérative. Ces résultats sont en accord avec la théorie de

¹⁹ Au sens d'interactions sous toutes leurs formes avec les sujets et objets alentours, car faisant étymologiquement référence à la notion de partage et d'union.

²⁰ « Une théorie qui n'est réfutable par aucun événement qui se puisse concevoir est dépourvue de caractère scientifique. Pour les théories, l'irréfutabilité n'est pas (comme on l'imagine souvent) vertu mais défaut. » Popper, K. R. (2006). *Conjectures et réfutations, la croissance du savoir scientifique*. (T. d. Launay, Trad.) Paris: Bibliothèque Scientifique Payot.

la réserve cognitive proposée par Yaakov Stern, Professeur de neuropsychologie clinique à l'université Columbia, selon laquelle, chaque individu serait en mesure de se constituer tout au long de sa vie, un capital cognitif lui permettant de retarder les manifestations cliniques des atteintes anatomiques qu'il subit lors du vieillissement physiologique ou lors de conditions pathologiques (notamment la maladie d'Alzheimer qu'il a étudié). Ceci fait suite aux différences de performances cognitives observées parmi plusieurs groupes d'individus, à un même stade de démence anatomique (Scarmeas & Stern, 2003; Stern, 2002).

- Pour tester la causalité, une étude a été réalisée sur 2 groupes de personnes âgées de 60 à 85 ans, auxquelles on a fait suivre un entraînement physique en piscine, différé dans le temps. Le 1^{er} groupe à passer, a vu une augmentation significative des performances cognitives des individus le constituant, alors que dans le groupe n'ayant pas encore suivi l'entraînement, aucune amélioration significative n'a été rapportée. Les individus de ce 2^{ème} groupe ont dû attendre la fin de leur phase d'entraînement pour voir leurs performances cognitives s'améliorer
- Des études d'électroencéphalographie et d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle ont rapporté des différences d'activité basale du cortex et de valeurs observées reflétant l'activité cognitive entre sédentaires et pratiquants d'une activité physique régulière.

La figure suivante est issue de la méta-analyse réalisée par 2 chercheurs en psychologie de l'Université de l'Illinois (Colcombe & Kramer, 2003). Elle illustre les moyennes des différences, observées dans plusieurs études, entre individus sédentaires et ceux pratiquant une activité sportive, en fonction du type de tâche cognitive testée.

(Colcombe & Kramer, 2003)

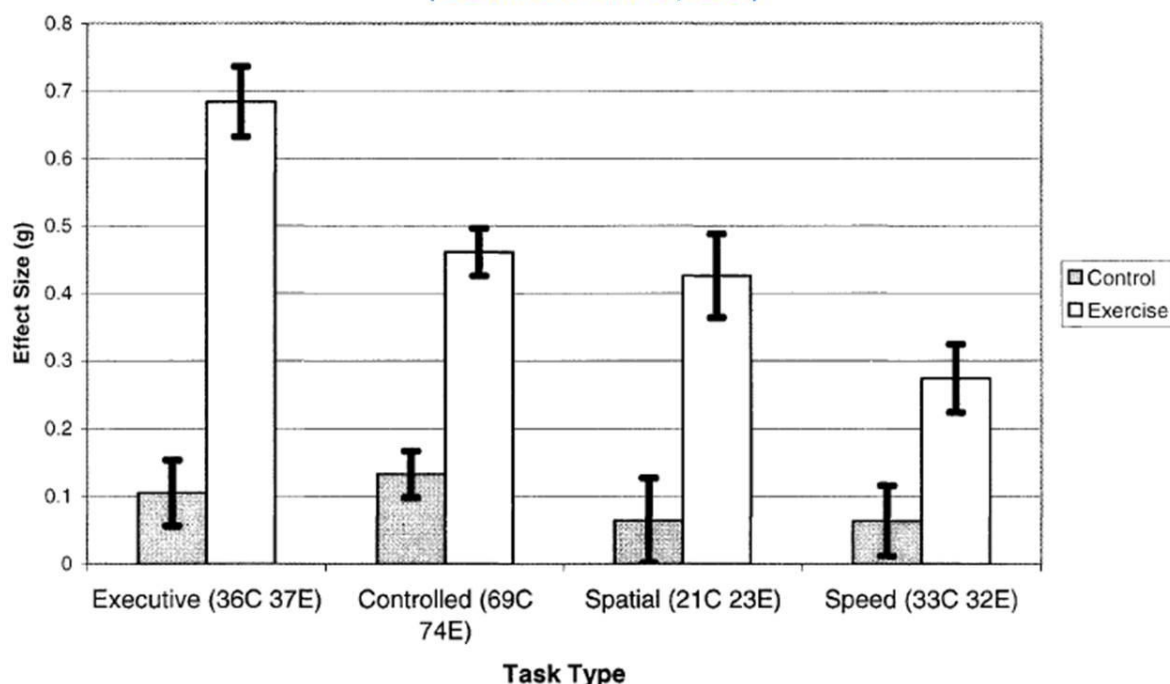


Figure 10 : Valeur des effets pour les différents processus cognitifs testés dans l'hypothèse d'une spécificité de bénéfices engendrés par l'activité sportive. Les inscriptions entre parenthèses sur l'axe des abscisses indiquent le nombre de valeurs recensées pour l'estimation de la valeur moyenne dans chaque type de tâche. E signifiant Exercice et C contrôle

En 2015, des chercheurs ont souhaité apporter des éléments supplémentaires et focalisés sur la mémoire (Hayes et al., 2015). Leurs travaux indiquent que l'activité physique augmenterait la mémoire épisodique visuelle²¹ chez les personnes âgées.

Qu'en est-il chez l'animal ?

Une récente étude, fruit d'une collaboration entre chercheurs chiliens et australiens, réalisée sur un modèle de souris de la maladie d'Alzheimer (Tapia-Rojas, Aranguiz, Varela-Nallar, & Inestrosa, 2016), recense plusieurs effets bénéfiques.

Les chercheurs ont travaillé avec des souris contrôles (saines) et des souris transgéniques, porteuses de mutations génétiques induisant les principales caractéristiques neuropathologiques de la maladie d'Alzheimer :

²¹ Sous partie de la mémoire déclarative, mémoire consciente et verbalisable d'un individu : http://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a_07/a_07_p/a_07_p_tra/a_07_p_tra.html#3

- Les agrégats de plaques β -amyloïde, constituées de fragments résultant d'une mauvaise scission de l'Amyloid Protein Precursor
- La dégénérescence neurofibrillaire : une hyperphosphorylation de la protéine *Tau*, protéine du cytosquelette très important dans la structure des axones, engendre la destruction de ces derniers

À ceci s'ajoute une importante réaction inflammatoire dans le système nerveux central.

Tout ceci aboutit à une perte cellulaire importante et à l'atrophie cérébrale observée postmortem.

Ils ont ensuite réparti les souris selon 3 groupes :

- Contrôle : Hébergement classique, sans roue
- Tg : Pour les souris transgéniques en hébergement classique, sans roue
- Tg runner : Pour les souris transgéniques, ayant accès à une roue chacune, à volonté

Ils observèrent les résultats suivants :

- Une légère mais significative amélioration des performances dans une tâche d'apprentissage spatial chez les Tg runner par rapport aux Tg.
- Les Tg runner possèdent une quantité de neurones, dans la corne d'Amon et le gyrus denté, supérieure aux Tg et inférieure aux souris contrôles.
- Le dépôt de plaques amyloïdes est diminué chez les souris Tg runner par rapport aux Tg, dans l'hippocampe uniquement
- La diminution de l'inflammation chez les Tg runner, dans l'hippocampe et le cortex

D'autres travaux toujours chez les muridés (Hillman et al., 2008), indiquent que l'activité physique induit à tout âge de la neurogénèse hippocampique, plus précisément de la prolifération cellulaire, même *in utero* (Kim, Lee, Kim, Yoo, & Kim, 2007; Lee et al., 2006) ! A l'échelle moléculaire, ceci passe notamment par l'induction des facteurs de croissance neuronale et vasculaire.

Une collaboration franco-italienne datant de 2013, apporte des éléments en vue d'affirmer que les effets de la course dans une roue sur la prolifération cellulaire seraient dus à un raccourcissement du cycle cellulaire, donc une augmentation de la vitesse de division, dans les cellules souches neurales ainsi que dans les progéniteurs neuronaux (Farioli-Vecchioli et al., 2014). Ils indiquent que cette augmentation de la prolifération se maintiennent jusqu'à 30 jours après l'arrêt de l'activité.

Récapitulons. L'activité physique, parmi d'autres facteurs, permet de diminuer ou d'abolir les pertes cognitives chez l'humain et l'animal. L'activité physique augmente quantitativement la neurogénèse chez l'animal, notamment la phase très précoce de prolifération.

Il est primordial d'indiquer que toutes les études réalisées chez l'animal, citées ici (y compris celles des revues), ont été faites sur des animaux hébergés en cages collectives.

Une question reste en suspens : Qu'advient-il de ces neurones ? Survivent-ils plus longtemps, du simple fait de l'activité physique ?

Pour répondre à cette question, des chercheurs de l'Université de Sao Paulo (Motta-Teixeira, Takada, Machado-Nils, Nogueira, & Xavier, 2016) ont mis des rats dans des cages possédant toutes une roue, mais avec une différence d'accès. Pour les rats du groupe exercice, la roue était accessible et ils pouvaient s'en servir à leur guise, tandis que dans le groupe contrôle, la roue était verrouillée. Dans les 3 derniers jours d'hébergement dans ces cages, ils injectèrent du BrdU aux rats, afin de marquer les cellules nouvellement générées.

Ils ont ensuite testé les animaux, dans une piscine de Morris²², bassin rempli d'eau opacifiée dans lequel l'animal doit retrouver une plateforme, dissimulée juste sous la surface, grâce à sa mémorisation de l'espace environnant dans le cas d'une tâche hippocampodépendante. Dans le cas d'une tâche non hippocampodépendante, la plateforme est laissée visible. Ils ont réparti les animaux en différents groupes en fonction de la tâche cognitive pour laquelle ils étaient testés, ainsi que du temps post exercice où les animaux allaient être testés et sacrifiés (1, 3 ou 6 semaines). Ceci afin d'en savoir plus sur les impacts de l'activité physique sur les performances cognitives et la neurogénèse.

²² http://sbfni.stanford.edu/cs/bm/lm/bml_mwm.html

Quelques éléments clés de leurs résultats sont à retenir :

- La confirmation qu'une activité physique de 7 jours augmente la prolifération cellulaire
- Plus la latence entre la fin de l'activité physique et le début de la tâche cognitive est importante, moins la survie des neurones nouvellement générés l'est
- **Seuls les animaux ayant participé à la tâche hippocampodépendante présentaient une augmentation de la survie de leurs neurones générés des suites de l'activité physique**

Ainsi, l'activité stimule bien la neurogénèse, mais l'utilisation de l'hippocampe est nécessaire à la survie de ces neurones ! Il n'y a, à l'heure actuelle, pas de preuves que les néoneurones doivent être spécifiquement recrutés par une tâche cognitive pour survivre.

L'enrichissement environnemental et apprentissage

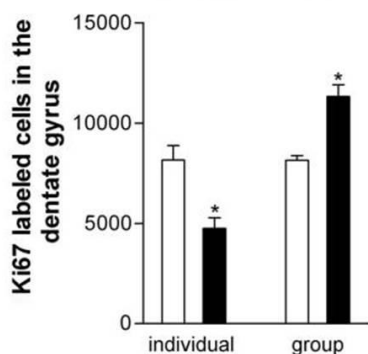
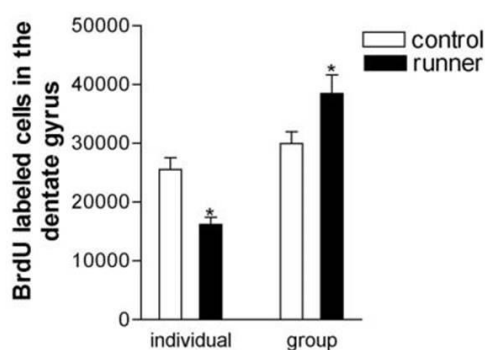
J'ai choisi de vous présenter les impacts du stress et de l'activité physique avant cette notion, afin d'emprunter des voies d'action de l'environnement sur la neurogénèse, précoces et simples. « Simple » doit être considéré dans son sens premier, comme opposé à « composé » et « complexe », et non comme synonyme de facile. À l'inverse, la notion d'environnement enrichi, elle, est complexe, et inclut d'ailleurs souvent dans la littérature l'activité physique.

Les travaux qui me semblent très intéressants pour introduire mon propos, sont ceux du psychologue canadien Bruce Alexander, sur la prise « spontanée » d'opiacés (Alexander, Beyerstein, Hadaway, & Coombs, 1981). Lors de cette étude, il a initié la remise en cause de l'idée encore très répandue aujourd'hui, de la propriété intrinsèque et invariable d'une substance à engendrer l'addiction. Il a comparé les consommations de morphine de rats vivant soit dans des environnements socialement pauvre (seuls en cage) ou riche (8 par cage), pour en faire ressortir que la consommation de morphine, relevée dans les précédentes études comme spontanée, était en fait due à l'isolation de l'animal. Depuis cette idée a fait du chemin et on considère l'environnement d'évolution ainsi que des prédispositions génétiques comme des facteurs de vulnérabilités différentes en fonction des individus. Cette idée est soutenue par les travaux de

l'équipe de Pier-Vincenzo Piazza²³, directeur du Neurocentre Magendie à Bordeaux et Grand prix Inserm 2015, qu'il a présentés dans l'émission « La tête au carré » sur France Inter²⁴.

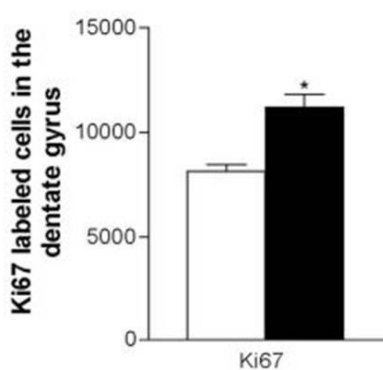
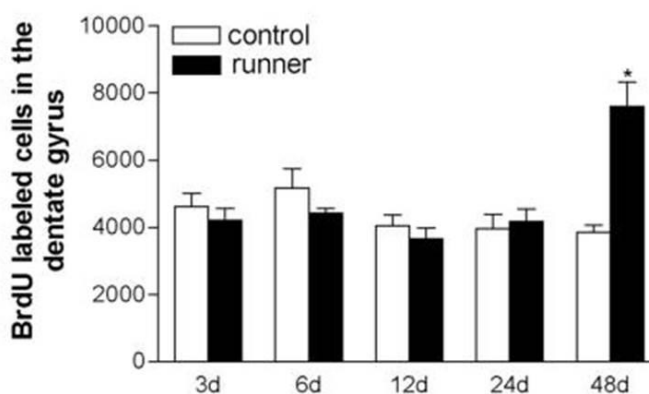
Nous rapprochant chronologiquement et anatomiquement de notre propos, un groupe de chercheurs mené par Elizabeth Gould (Stranahan, Khalil, & Gould, 2006), a montré que l'isolement social des animaux associé à la course sur roue entraînait d'abord une diminution de la prolifération cellulaire par rapport aux sédentaires (12^{ème} jour) (Figure 11), avant que l'augmentation observée chez les animaux hébergés collectivement apparaisse (au 48^{ème} jour) ! Je rappelle que les études chez l'animal citées dans la partie activité physique avaient toutes été réalisées sur des animaux hébergés en groupe.

Figure 11 : Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU ou exprimant Ki67 (un facteur membranaire des progéniteurs) au 12^{ème} jour de l'expérience en fonction de l'activité physique et des conditions d'hébergement



(Stranahan, Khalil, & Gould, 2006)

Figure 12 : Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU ou exprimant Ki67 (un facteur membranaire des progéniteurs) jusqu'au 48^{ème} jour de l'expérience en fonction de l'activité physique chez les isolés seulement



(Stranahan, Khalil, & Gould, 2006)

Il n'y a pas de définition claire ni de limites exactes au concept d'enrichissement environnemental. Dans certains articles, sont inclus dans cette notion, l'activité physique, les apprentissages et tests comportementaux, l'interaction sociale etc. En vue de clarifier les

²³ <http://presse.inserm.fr/pier-vincenzo-piazza-receives-the-inserm-grand-prix-2015/21479/>

²⁴ <http://www.franceinter.fr/emission-la-tete-au-carre-pier-vincenzo-piazza-grand-prix-inserm-2015>

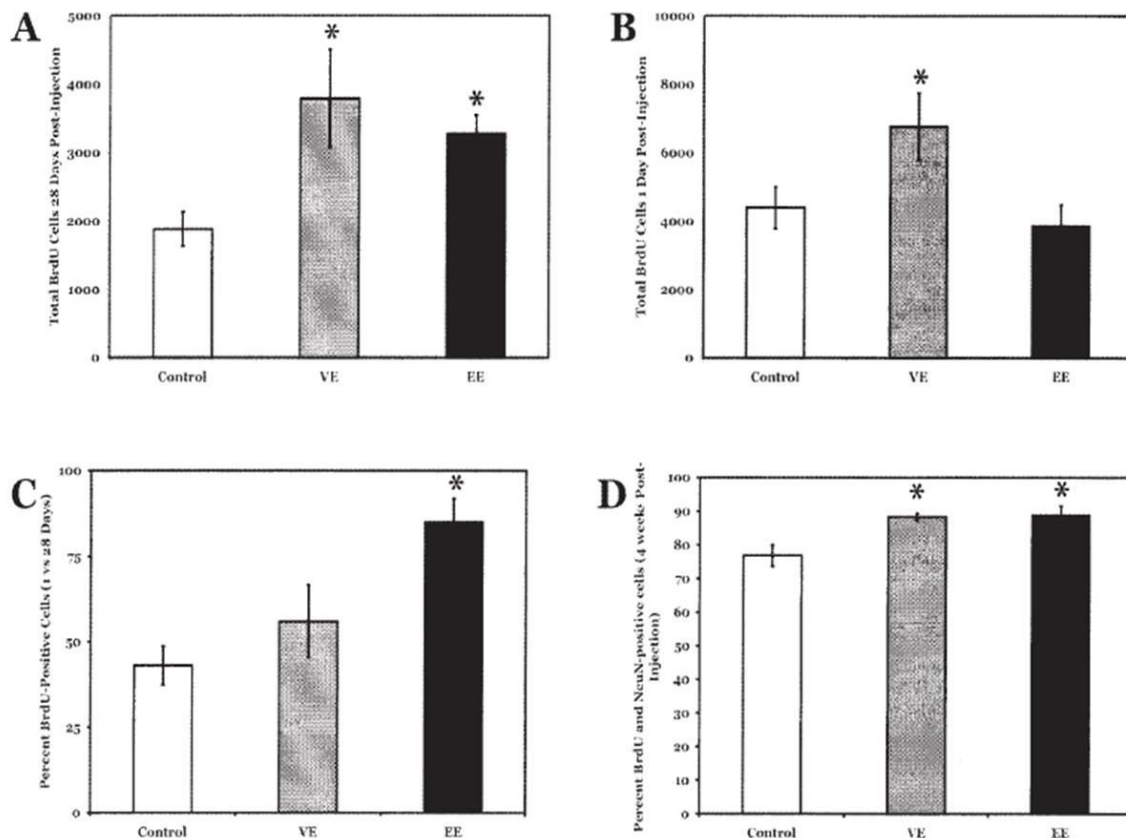
utilisations futures que je ferai de cette terminologie, je n'entendrai par enrichissement environnemental, que l'un ou plusieurs des éléments suivants :

- Interactions sociales accrues (hébergement solitaire *versus* collectif)
- Complexité sensorielle plus importante dans des cages agrandies et disposant d'objets complémentaires :
 - o Matériel pour la confection des nids
 - o Variation des formes et couleurs des objets
 - o Introduction de stimuli olfactifs
 - o Mise en place d'une nourriture variée
 - o Ambiance sonore

En 2006 toujours, une revue de littérature portant sur les effets différentiels de l'activité physique et l'enrichissement environnemental a été réalisée. Ils y présentent notamment un ensemble de graphiques, résultant du suivi de neurogénèse sur 28 jours chez des animaux ayant séparément été exposés à de l'activité physique, de l'enrichissement environnemental ou aucun des deux (Olson, Eadie, Ernst, & Christie, 2006). Ces graphiques montrent :

- A : Au jour 28, il y a eu augmentation du nombre de cellules ayant incorporé le BrdU dans le cas d'enrichissement environnemental et d'activité physique. Je rappelle que les cellules souches neurales sont communes aux lignées gliales et neuronale
- B : Au jour 1, seule l'activité physique a un effet sur la prolifération cellulaire
- **C : Les proportions de cellules générées et ayant survécu au bout de 28 jours ne sont significativement augmentées que dans le cas d'enrichissement environnemental**
- D : Sur l'ensemble des cellules générées, la différenciation en neurones par rapport à celle en cellules gliales est significativement plus forte dans les cas d'activité physique et enrichissement environnemental

Figure 13 : Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU en fonction des conditions d'hébergement. (A) Nombre de cellules 28 jours après l'injection (B) Nombre de cellules 1 jour après l'injection (C) Pourcentage de cellules ayant survécu depuis le 1^{er} jour post injection (D) Pourcentage de neurones dans la population de cellules vivantes au 28^{ème} jour



(Olson, Eadie, Ernst, & Christie, 2006)

Ces résultats sont corroborés par l'équipe de Gerd Kempermann à Dresde (Fabel et al., 2009). Ils testèrent la succession de course sur roue et d'enrichissement environnemental. Ils indiquèrent qu'exposer un animal à un environnement enrichi après qu'il ait couru, et non l'inverse, augmente d'environ 30% la neurogénèse, par rapport à l'un de ces paramètres pris séparément !

Pour aller plus loin dans la notion d'enrichissement environnemental, je m'appuierai sur des travaux portant sur la neurogénèse du bulbe olfactif, que j'ai volontairement occultée jusqu'alors. En 2009, l'équipe d'Anne Didier, de l'Université Claude Bernard Lyon 1, a testé l'enrichissement de l'environnement olfactif de souris (Veyrac et al., 2009). Les souris ont été exposées à 20 odeurs différentes soit en une seule fois, quotidiennement pendant 20 jours, soit de façon étalée dans le

temps, 1 par jour. Ainsi, au bout de 20 jours, l'enrichissement était rigoureusement le même, le seul facteur variant étant la nouveauté quotidienne dans un groupe.

Les résultats de cette étude indiquent que seule l'exposition à la nouveauté permet de retrouver les augmentations de mémoire et neurogénèse olfactives observées dans les études préalables de l'enrichissement olfactif.

Pour revenir à notre sujet de la neurogénèse hippocampique associée à l'exposition à la nouveauté, une analyse récente de plusieurs études, indique qu'une augmentation de la neurogénèse serait liée à une diminution de l'exploration d'environnements nouveaux (ou au moins d'un élément nouveau dans un environnement). (van Dijk, Lazic, Slomianka, Wolfer, & Amrein, 2015)

Afin d'appréhender un peu mieux la complexité de l'enrichissement environnemental, je souhaitais présenter un modèle de cage conçu par des chercheurs de l'Université Claude Bernard Lyon 1 : les cages Marlau™²⁵. Ces chercheurs ont voulu développer un modèle standardisé d'hébergement permettant des études précliniques, notamment sur l'épilepsie, prenant en compte le plus grand nombre de paramètres physiologiques possibles (Fares et al., 2013). Dans ces hébergements, les animaux présentent de nombreux signes de meilleure santé :

- Une bonne appétence pour l'exploration de leur milieu
- Une masse globale plus élevée, mais avec un taux de lipides semblable (montrant même une tendance à la baisse)
- Un retour à la valeur basale de corticostérone suite à un évènement stressant, plus rapide qu'en hébergement classique

Quant à la neurogénèse hippocampique, elle est augmentée chez les animaux évoluant dans ces cages, et la proportion de neurones générés sur l'ensemble des cellules produites est elle aussi plus importante.

Comme j'en ai fait mention plus haut, la notion d'enrichissement environnemental comprend souvent, dans les études qui la traitent, les apprentissages et tests comportementaux. Nous

²⁵ J'indique, au passage, n'être en aucun lien commercial ou financier avec R. P. Fares, M. Le Cavorsin et L. Bezin, les inventeurs de ces cages, ainsi qu'avec la société Viewpoint® qui les commercialise.

pourrions discuter les éléments qui poussent certains auteurs à les inclure et d'autres non, de l'exploration de nouveauté qu'un apprentissage engendre, sur la définition d'environnement « normal » de l'animal, tant et si bien qu'il puisse l'être dans un laboratoire, mais ne le ferons pas. J'ai choisi de les exclure, afin que la distinction soit claire entre un test d'apprentissage qui a vocation à évaluer sans effraction ce qu'il se passe dans le système nerveux central et une modification de l'environnement dont on évalue l'impact. Que le test ne soit pas outil de mesure et unité à mesurer.

Les données indiquent, en accord avec l'utilitarisme qui caractériserait la nature, que ces neurones nouvellement générés ne seraient conservés que s'ils participent à une fonction. En effet, du fait de la dépense énergétique réalisée et de la place qu'ils prennent dans le système nerveux central, seule l'assurance de leur efficacité serait garante de leur conservation. Ceci montre la complexité de la relation entre neurogénèse hippocampique et exécution de fonctions, qui n'est pas unidirectionnelle, causale dans un sens ou l'autre, mais se constitue d'un dialogue perpétuel.

En résumé, plusieurs inducteurs de neurogénèse sont présents dans l'environnement :

- **L'activité physique**
- **La complexité de l'environnement (social ou sensitif)**

Dans la grande majorité des études précédemment présentées, il existe une interaction forte entre cette augmentation de la neurogénèse et l'exécution de tâches hippocampodépendantes. Les neurones ne sont gardés que si l'animal s'en sert.

Nous avons donc vu que l'augmentation de la complexité d'un environnement, les challenges, qui forcent l'individu à s'adapter à son environnement, augmentent la neurogénèse.

Il semblerait donc, que la dynamique du système nerveux central soit garante de la bonne adaptation continue d'un individu à son environnement, contrairement à la constance que proposait Pasko Rakic (Rakic, 1985).

Nous avons étudié la situation d'énonciation, entre environnement et neurogénèse hippocampique dans un sens, mais il existe évidemment l'autre façon de poser des questions aux modèles pour comprendre la physiologie de la neurogénèse.

Fonction de la neurogénèse

Dans cette partie, nous nous intéresserons aux travaux qui posent la question de la participation fonctionnelle de la neurogénèse, dans la physiologie de l'hippocampe, et plus largement dans la physiologie du système nerveux central et des fonctions cognitives qu'il supporte. Ceci est majoritairement basé sur des travaux d'ablation de la neurogénèse.

Il existe différents moyens de supprimer la neurogénèse, avec des sélectivités spatiotemporelles différentes :

- L'irradiation par des rayons gamma : cette méthode a une très bonne sélectivité spatiotemporelle. Rappelons que les cellules en division, du fait de la décondensation de leur chromatine sont autrement plus sensibles aux rayons gamma que les cellules quiescentes. D'où l'intérêt de ces rayonnements dans l'étude de la neurogénèse.
- Les traitements anticancéreux, dont la Cytarabine (Fr) ou Aracytin (US) qui est une molécule analogue à la cytosine empêchant la synthèse de l'ADN. Bien que souvent administrée localement (dans le ventricule cérébral situé à proximité de l'hippocampe), les injections sont parfois réalisées en systémique. Ainsi, leur sélectivité spatiale est variable tandis qu'ils présentent une bonne sélectivité temporelle.
- Des modèles transgéniques dans lesquels on exerce une activation ou une levée d'inhibition de signalisations proapoptotiques. Ici, la sélectivité spatiale est variable selon les modèles et la sélectivité temporelle bien que dépendante des propriétés pharmacocinétiques des produits utilisés, comme précédemment, est plutôt bonne.

Les émotions

Dès 2003, une collaboration entre des chercheurs des Universités américaines Yale et Columbia, ainsi que l'Université François Rabelais Tours, a posé la question du rôle de la neurogénèse dans la médiation de l'effet thérapeutique de 2 classes d'antidépresseurs (inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine et antidépresseurs tricycliques), en supprimant la neurogénèse par irradiation gamma (Santarelli et al., 2003). Ils ont d'abord testé ces médicaments sur les performances cognitives des rongeurs dans un modèle de dépression : un test mesurant le temps que met l'animal pour rejoindre une nourriture habituelle dans un environnement nouveau²⁶. Test

²⁶ <http://www.psychogenics.com/noveltysuppressed.html>

connu pour répondre fortement au traitement chronique aux antidépresseurs et non au traitement aigu. Ils obtinrent bien une réduction de ce temps chez les animaux traités à l'imipramine, la désipramine, ainsi que la fluoxétine par rapport aux animaux ayant reçu un placebo. Cet effet fut observé au bout de 28 jours, et non au bout de 5.

Parallèlement ils observèrent que la prolifération cellulaire était augmentée par la fluoxétine à partir du 11^{ème} jour, et persistant au moins jusqu'au 28^{ème}, sans que cela affecte le taux de différenciation en neurones et cellules gliales.

Ils mirent en évidence par la suite, que l'irradiation sélective de l'hippocampe, donc **l'ablation de neurogénèse hippocampique, était suffisante pour supprimer les effets thérapeutiques des antidépresseurs sur les tests envisagés.**

De récents travaux sur un modèle de souris transgénique suggèrent que les néoneurones générés à l'âge adulte des mammifères seraient impliqués dans la constitution et la médiation de la réponse physiologique au stress (Tsai, Tsai, Arnold, & Huang, 2015).

La mémorisation

Pour revenir sur des fonctions pour lesquelles l'implication de l'hippocampe fait davantage consensus, je présenterai les travaux réalisés par des membres de l'équipe *Neurogénèse et Physiopathologie* (dirigée par le Docteur Nora Abrous) du Neurocentre Magendie de Bordeaux.

Une première étude publiée en 2012 (Lemaire et al., 2012), confirme tout d'abord les résultats exposés précédemment, indiquant l'importance de l'utilisation des néoneurones dans leur maturation. En effet, les neurones nouvellement générés chez des animaux ayant effectué des tâches d'apprentissage spatial, possèdent une plus grande complexité de leur arbre dendritique, donc une connectivité plus importante. Ensuite, les auteurs ont injecté de la cytarabine en intracérébroventriculaire en vue d'une ablation de la neurogénèse. On peut observer sur leurs résultats (figure 14) que la cytarabine inhibe sélectivement les cellules en division, les néoneurones en cours de maturation (sans dendrites verticales), et ne diminue pas significativement la quantité de neurones matures (à dendrites verticales) par rapport aux animaux ayant reçu le placebo. Ici, la présence ou non des dendrites verticales sert d'indicateur de maturation cellulaire (cf figure 7).

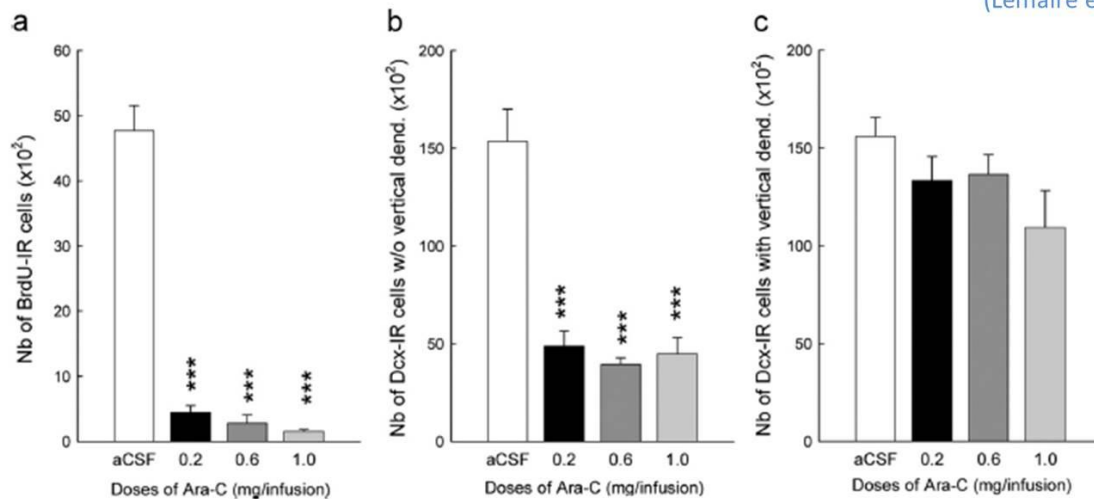
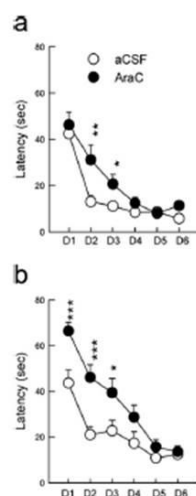


Figure 14 : Diminution de la production cellulaire par la cytarabine. Toutes les données sont exprimées en fonction des doses de cytarabine injectées (Placebo=aCSF ; 0,2 , 0,6 , 1,0 mG dans 6 μ L) (a) Nombre de cellules ayant incorporé le BrdU. (b) Nombre de cellules immatures (=sans dendrites verticales) exprimant Dcx (marqueur membranaire des progéniteurs). (c) Nombre de cellules matures (=avec dendrites verticales) exprimant Dcx.

Il est important d'avoir en tête que les effets de la cytarabine sont totalement réversibles après 2 semaines sans traitement. Les animaux reçurent la dose la plus faible (0,2 mg dans 6 μ L) et leurs performances furent testées dans une tâche hippocampodépendante en piscine de Morris 2 ou 4 mois après le traitement à la cytarabine. Dans cette tâche, on mesure le temps que l'animal met à rejoindre la plateforme non visible, indiquant qu'il en a appris la localisation. Les résultats indiquent que les animaux ayant reçu placebo ou cytarabine nagent à la même vitesse et sont tous capables d'apprendre la localisation de la plateforme au bout de 6 jours. Ils mettent le même temps pour la rejoindre.

Figure 15 : Perturbations de l'apprentissage spatial par injection de cytarabine 2 (a) ou 4 (b) mois avant le début de l'apprentissage. Temps (s) mis par l'animal pour rejoindre la plateforme en fonction de la date.

(Lemaire et al., 2012)



Cependant, les animaux privés de leurs neurones granulaires âgés de 2 mois mettent significativement plus de temps à rejoindre la plateforme les jours 2 et 3, par rapport aux animaux ayant reçu le placebo.

Les animaux privés de la génération de neurones âgés de 4 mois, quant à eux, mettent significativement plus de temps les jours 1, 2 et 3.

Ainsi, les chercheuses apportent des résultats montrant que l'arborisation dendritique des neurones nouvellement générés est sensible aux effets d'un apprentissage, même lorsqu'ils sont matures (2 mois), et que ces derniers participent aux fonctions de l'hippocampe.

Plus récemment, la même équipe a poussé plus loin l'investigation (Tronel, Lemaire, Charrier, Montaron, & Abrous, 2014). Comme elles l'indiquent dans l'introduction, les neurones semblent ne pas se comporter exactement de la même manière en fonction du stade ontogénétique dont ils sont issus. Elles se sont donc intéressées à l'implication fonctionnelle de la neurogénèse hippocampique en faisant varier l'âge des animaux mais également celui des neurones considérés. Ainsi, des animaux d'âges différents ont reçu du BrdU. L'étude des neurones ainsi marqués a été faite à différentes dates post injection. Ainsi furent obtenus plusieurs groupes d'animaux, d'âges et de cellules marquées issues de stades ontogénétiques, différents.

(Tronel, Lemaire, Charrier, Montaron, & Abrous, 2014)

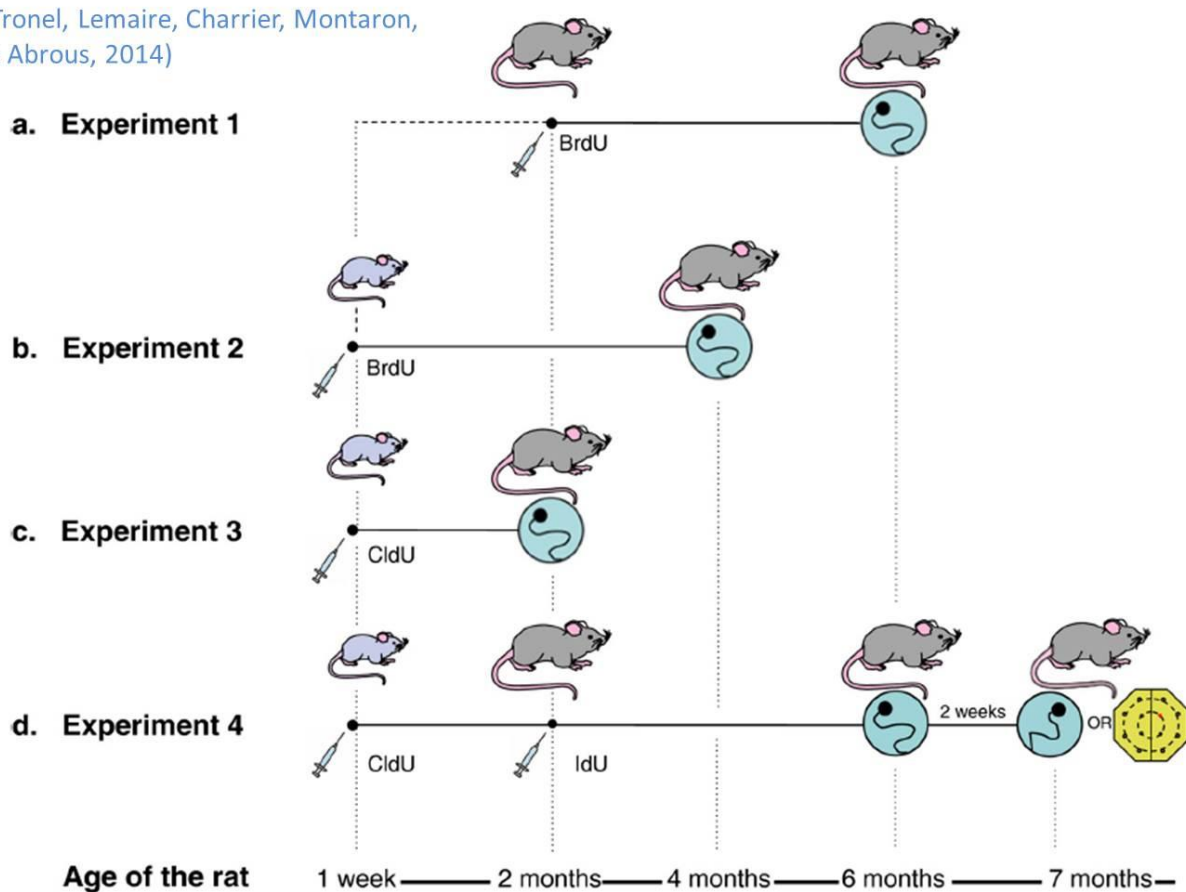


Figure 16 : Détail des différents protocoles expérimentaux. Injections des analogues de la thymidine et tests en fonction de l'âge de l'animal ; BrdU= Bromodéoxyuridine ; CldU= Chlorodéoxyuridine ; IdU= Iododéoxyuridine

Le CldU (Chlorodéoxyuridine) et l'IdU (Iododéoxyuridine) sont des analogues halogénés de la thymidine. Ils peuvent être utilisés chez un même animal, car il existe des anticorps suffisamment sélectifs pour les distinguer lors de l'immunohistochimie. En revanche, il n'existe à l'heure actuelle pas d'anticorps suffisamment sélectifs pour permettre des utilisations simultanées de BrdU et CldU ou BrdU et IdU.

Âges des rats et neurones au moment du test dans chaque expérience :


- Expérience 1 : Neurones âgés de 4 mois chez un rat de 6 mois
- Expérience 2 : Neurones et rats âgés de 4 mois
- Expérience 3 : Neurones et rats de 2 mois
- Expérience 4 : Dans cette expérience, 2 marqueurs par rat et 2 phases de tests ont été réalisées, aboutissant à des neurones âgés de 4 et 6 mois chez un rat de 6 mois lors de la première session, et des neurones de 5 et 7 mois chez ce même rat alors âgé de 7 mois durant la seconde.


Les animaux de l'expérience 4 ont été à nouveau séparés en 5 groupes, pour tester les effets de l'absence d'apprentissage, d'un seul apprentissage, de deux apprentissages identiques (Piscine de Morris²⁷ ou Planche à trous²⁸), de deux apprentissages différents (Piscine de Morris puis Planche à trous ou l'inverse) ou encore de deux apprentissages identiques dans des contextes différents (même principe, mais repères spatiaux modifiés).

Les résultats obtenus peuvent être résumés ainsi :

Expérience 1 : Seuls les neurones générés en dehors de la période développementale du rat furent activés lors de la formation de la mémoire spatiale, et non par le simple exercice physique ou l'exécution d'une tâche non hippocampodépendante. Ceci est en accord avec la perte de performance observée précédemment lors de l'ablation de neurogénèse (Lemaire et al., 2012).

Expérience 2 : Absence d'activation des neurones âgés de 4 mois générés dans la période développementale.

²⁷ De symbole 

²⁸ De symbole 

Expérience 3 : Absence d'activation des neurones âgés de 2 mois générés dans la période développementale

Ainsi, la date de genèse des neurones importe, pas leur « âge ».

Expérience 4 : Seuls les neurones marqués à l'IdU, générés en dehors de la période développementale, **étaient activés par l'apprentissage spatial**. Un deuxième apprentissage différent du premier entraînait une augmentation d'activation des neurones générés à 2 mois, encore plus forte que si l'animal avait réalisé 2 apprentissages spatiaux identiques. Donc **l'exposition à la nouveauté continue d'activer ces neurones**.

Les neurones générés dans la période développementale étaient activés lorsque les 2 apprentissages étaient identiques, mais qu'il y avait eu une variation de l'environnement, du contexte.

Cet ensemble d'expériences nous indique que des rôles différents seraient joués par les neurones en fonction du stade ontogénétique duquel ils proviennent !

Les neurones issus du développement embryonnaire seraient impliqués dans l'identification de contextes spatiaux, ils sont sensibles au changement du contexte dans lequel nous réalisons un tâche connue. Il est à noter que le rôle attribué aux neurones issus du stade développemental par les auteurs est différent du « pattern separation ». En effet, les contextes environnementaux évoqués ici sont très largement dissimilaires. Ainsi, il s'agirait, pour les neurones développementaux, de tenir à jour le répertoire des cartographies des environnements visités au cours de la vie de l'individu. **Les neurones générés en dehors de la période développementale, eux, seraient impliqués dans la résolution de tâche selon un processus spatial (hippocampodépendant)**, quel que soit l'environnement, déjà visité ou non.

L'oubli

Nous avons vu jusqu'ici que la neurogénèse participait à la mémorisation. Or, mémoire et oubli sont deux notions interdépendantes, à l'instar du mobile et du statique, de la nuit et du jour, de la vie et de la mort. L'un est dépourvu de sens en l'absence de l'autre. C'est un juste équilibre ici aussi qui régit cette relation. Il nous est nécessaire d'oublier pour inscrire de nouveaux souvenirs. Comment pourrions-nous savoir que c'est bien *notre* image que nous voyons dans le miroir, si nous avons encore pour référence l'image de notre « nous » antérieur, plus jeune ? Si nous n'oublions

pas cette image quasi quotidiennement pour en inscrire une nouvelle ? Comment pourrions-nous améliorer nos performances dans certaines tâches, dont le calcul, si nous n'oublions pas les raisonnements auparavant empruntés, aboutissant à moins de succès et plus de temps pour accomplir cette tâche ?

Le chercheur Paul Frankland et ses collaborateurs de l'Université de Toronto prennent le contrepied de l'hypothèse suivie par la majeure partie de la communauté scientifique, quant à la physiologie de la neurogénèse (Frankland, Köhler, & Josselyn, 2013).

Tout d'abord, je me dois, sans être exhaustif, d'énoncer quelques précisions au sujet de la physiologie de la mémoire :

A l'heure actuelle, la communauté scientifique s'accorde à dire que l'inscription d'un souvenir dans notre mémoire s'accompagne de changements physiques spécifiques de ce souvenir, on parle d'engramme (Josselyn, Köhler, & Frankland, 2015). L'inscription d'un souvenir se fait selon un processus temporellement défini. Il est d'abord :

- Encodé : un ensemble défini de cellules, spécifique du souvenir, se met en place par renforcement des connexions entre celles-ci
- Consolidé : Le renforcement potentiel des connexions est maintenu dans le temps, sans que l'individu en soit conscient
- Rappelé : Le même ensemble de cellules est réactivé par un indice et le souvenir « remonte à la surface » pour être perçu par l'individu.

Une fois le souvenir encodé, il peut être rappelé plusieurs fois. Lorsqu'il n'est pas en phase de rappel, il est en consolidation. Ainsi, on obtient l'enchaînement suivant :

Encodage, 1^{ère} consolidation, 1^{er} rappel, 2^{ème} consolidation, 2^{ème} rappel, 3^{ème} consolidation, 3^{ème} rappel...

Dans leur revue de 2013, ces chercheurs nous indiquent que le rappel peut être bloqué de différentes manières (Frankland et al., 2013) :

- La surcharge de l'indice : Il s'agit ici d'une perte de sélectivité entre l'indice et l'ensemble de cellules auquel il est associé. Certains indices peuvent être associés à plusieurs souvenirs proches les uns des autres, de telle sorte que cet indice perdra sa capacité à induire l'activité dans un ensemble de cellules par rapport à un autre et donc sa capacité à déclencher le rappel. Plus le temps entre encodage et rappel est important, plus l'indice a le temps d'être associé à d'autres souvenirs et plus la probabilité d'un défaut de rappel par surcharge de l'indice est importante.
- L'oubli induit par l'apprentissage : Lorsque qu'une ou plusieurs cellules faisant partie d'un 1^{er} ensemble de neurones constituant un engramme, sont recrutées pour faire partie d'un nouveau, la modification de leur connectivité peut réduire voire abolir leur participation au 1^{er} ensemble au profit du deuxième. Le 1^{er} engramme ne pourra pas être réactivé et le souvenir associé ne pourra être rappelé. Nous pourrions assimiler ceci à de l'enfouissement du souvenir.
- L'oubli induit par la neurogénèse : Cet ajout de cellules granulaires impacterait de manière autrement plus aléatoire les souvenirs en place que les deux précédents mécanismes. En effet, si dans l'oubli par surcharge de l'indice ou l'oubli induit par l'apprentissage, il était nécessaire que les contenus des souvenirs effacé et effaçant soient très proches, ce n'est plus le cas ici. Selon Paul Frankland, un nouveau neurone pourrait tout à fait s'insérer au beau milieu d'un ensemble de neurones constituant un engramme, aboutissant à sa rupture, à la déconstruction du souvenir. Ils s'appuient notamment sur des travaux de chercheurs japonais (Kitamura et al., 2009), indiquant que la réduction de la neurogénèse après l'encodage d'un souvenir de peur dans deux modèles de souris permet un renforcement de cette mémoire. Leurs travaux portant sur une mémoire à fort impact émotionnel, il me semble impossible de déterminer si l'augmentation de la neurogénèse fait oublier ce souvenir, comme les auteurs l'indiquent, ou si elle réduit l'impact émotionnel du souvenir. Je vous renvoie en effet aux fortes interactions entre augmentation de la neurogénèse hippocampique et réduction de l'anxiété et la dépression.

Selon Paul Frankland et ses collaborateurs, la neurogénèse hippocampique a un rôle bivalent :

- Elle permet la création de nouvelles combinaisons de cellules donc de nouveaux emplacements pour souvenirs
- Elle sert à effacer les engrammes. Les auteurs précisent qu'il existe un équilibre entre consolidation et oubli et pratiquent même une analogie avec la partie utilitariste de la théorie de Darwin, indiquant que selon eux, les souvenirs n'étant pas assez souvent rappelés sont effacés.

L'approche anatomofonctionnelle a donc bien permis de mettre en évidence que la neurogénèse hippocampique n'est pas un simple reliquat de la forte prolifération cellulaire ayant lieu dans les premiers instants de vie d'un mammifère. Il y a une réelle plus-value fonctionnelle de cette addition de neurones tout au long de la vie. En résumé, la neurogénèse hippocampique :

- Permettrait la régulation des états émotionnels
- Ajusterait l'équilibre mémorisation/oubli

Approche cellulaire de la neurogénèse : Cas particulier de l'étude réalisée durant mon stage de Master 2

Introduction

La neurogénèse hippocampique a fait l'objet d'une investigation poussée depuis les travaux de Joseph Altman et Gopal Das en 1965. Cependant plusieurs controverses demeurent. Celle sur laquelle je m'appesantirai dans les prochaines lignes porte sur les **caractéristiques intrinsèques des cellules comme substrat des fonctions apparemment distinctes entre neurones de stades ontogénétiques différents**. Nous avons observé, grâce aux travaux menés par Sophie Tronel (Tronel et al., 2014), que les fonctions attribuées aux neurones du gyrus denté semblaient être dépendantes du stade ontogénétique duquel ils sont issus.

J'ai réalisé mon stage de Master 2 Recherche Biologie Intégrative Physiologie et Neurosciences (Université Claude Bernard Lyon 1) au Neurocentre Magendie de Bordeaux, plus précisément dans l'équipe Neurogénèse et Physiopathologie, à l'origine de travaux présentés précédemment

(Lemaire et al., 2012; Tronel et al., 2014), sous la direction du Docteur Guillaume Lucas. Cette équipe « [réalise] des études longitudinales, des stades embryonnaires à sénescents [...] pour comprendre le rôle de ces nouveaux neurones dans les fonctions hippocampiques. »²⁹

L'idée servant de toile de fond aux travaux de cette équipe est la suivante : **Les fonctions que les neurones supportent sont dépendantes du stade ontogénétique duquel ils sont issus.**

C'est dans ce contexte que s'est inscrit le travail que j'ai mené de janvier à mai 2015, au cours duquel **nous avons cherché à savoir si les propriétés de plasticité intrinsèques des neurones granulaires du gyrus denté du rat, dépendaient de leur stade ontogénétique.** Dans la littérature, il existe des données indiquant qu'une fois matures, tous les neurones de tous stades ontogénétiques, ont des connectivités qualitativement et quantitativement identiques (Laplagne et al., 2006). Il existe aussi les données présentées plus haut, indiquant que, parmi tous les neurones matures, seuls ceux issus de certains stades ontogénétiques tardifs présentent une plasticité structurale en réponse à un apprentissage (Lemaire et al., 2012; Tronel et al., 2014). Ainsi, l'objectif initial était de comparer les neurones issus respectivement des phases dites « développementale » et « adulte », afin de voir si, malgré des connectivités supposées identiques entre ces neurones, la propension à la plasticité était la même pour tous.

Dans un souci d'exactitude, il nous a d'abord fallu considérer le terme « ontogénèse » dans son acception pleine et entière. Or, comme je l'ai évoqué plus haut, **le qualificatif de « développemental » ne reflète pas la réalité.** En effet, **la formation du gyrus denté du rat se faisant en deux vagues (15^{ème} jour d'embryogénèse et 5 à 7^{ème} jour postparturition) (Mathews et al., 2010; Schlessinger et al., 1975), il a d'abord fallu s'intéresser à ces deux stades, avant de s'intéresser à la neurogénèse adulte.**

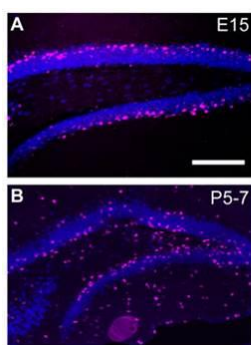


Figure 17 : Marquage au BrdU des vagues de cellules embryonnaire et postnatale

(Mathews et al., 2010)

²⁹ <http://neurocentre-magendie.fr/recherche/Abrous/descriptionTeam.php?lang=fr>

Ainsi, c'est la discrimination des caractéristiques entre les neurones embryonnaires et immédiatement postnataux, chez un animal donné, qui a finalement occupé le temps imparti de ce stage.

Plus précisément, nous avons cherché à déterminer s'ils possèdent des propriétés d'excitabilité distinctes, en combinant des approches d'électrophysiologie *in vivo* et d'immunohistochimie. Nous avons mis à profit la capacité des cellules granulaires du gyrus denté à exprimer une potentialisation à long terme suite à une stimulation de la voie perforante latérale, en provenance du cortex entorhinal (W. C. Abraham et al., 1993; Wickliffe C. Abraham et al., 1995; McNaughton, Douglas, & Goddard, 1978). Nous nous sommes basés sur ces travaux effectués précédemment, montrant que des stimulations haute fréquence de cette voie perforante latérale, sont capables d'induire une potentialisation à long terme significative et durable pendant près d'une semaine.

La potentialisation à long terme est un mécanisme cellulaire bien connu survenant dans un apprentissage. De plus, l'application d'un protocole de potentialisation à long terme a des effets similaires à certaines tâches comportementales d'apprentissage, car elle induit l'augmentation des prolifération et survie de neurones granulaires (Bruehl-Jungerman, Davis, Rampon, & Laroche, 2006)!

Ces stimulations sont délivrées suivant un protocole léger (inférieur à 5 minutes) de trains de bouffées thêta («theta burst»). Thêta étant le rythme de décharge physiologique de l'hippocampe des mammifères. Il correspond à une fréquence de décharge des neurones comprise entre 4 et 8 Hz^{30,31}.

Afin d'étudier les propriétés d'excitabilité et de propension à la plasticité synaptique des populations embryonnaire et postnatale, nous avons analysé leurs réponses en terme de gènes d'expression précoce (Fos), suite à des stimulations haute fréquence d'intensités variables. Les gènes d'expression précoces étant connus pour être corrélés à l'activité intracellulaire (W. C. Abraham et al., 1993). Pour cela, nous avons utilisé des analogues halogénés de la thymidine, administrés respectivement durant les stades embryonnaire (rates gestantes) et postnatal, afin de marquer sélectivement les deux populations chez un même animal. Puis, nous avons délivré

³⁰ <http://www.blog-lecerveau.org/blog/2011/01/24/lhippocampe-entier-revele-ses-secrets/>

³¹ http://www.med.univ-montp1.fr/Enseignement/cycle_2/UE_systeme_neurosensoriel/Ressources_locales/ED_en_EE_G.pdf

différents protocoles de stimulations haute fréquence de la voie perforante latérale, une fois les animaux parvenus à l'âge adulte (> 2 mois), et quantifié le recrutement de chacune des populations par microscopie confocale.

Procédure expérimentale simplifiée :

- Injection de CldU durant la phase embryonnaire
- Injection d'IdU au 7^{ème} jour de vie, durant la phase postnatale
- Induction d'une potentialisation à long terme entre 2 et 4 mois de vie

Matériels et méthodes

Animaux

Les expériences ont été réalisées sur des rats de la souche Sprague-Dawley (Charles River, L'Arbresle). 7 femelles à 14 jours de gestation ont été placées en cages individuelles dès le début des expériences. Seule la descendance mâle a été utilisée pour la suite des expériences.

Marquage des cellules en division

Les cellules néoformées ont été marquées grâce à la Iodo-déoxyuridine (IdU, Sigma®) et à la chloro-déoxyuridine (CldU, Sigma®), deux analogues de la thymidine qui s'incorporent dans l'ADN des cellules en division durant la phase S du cycle cellulaire (Dupret et al., 2007).

Les femelles gestantes ont reçu **1 injection de CldU dix-neuf jours après fécondation (E19)**, condition optimale pour marquer l'ensemble des neurones de la population embryonnaire. Puis à **l'âge de 7 jours (P7), les ratons mâles ont reçu une injection intrapéritonéale d'IdU** s'incorporant dans l'ensemble des neurones de la population postnatale. Au total, 42 ratons mâles ont été sélectionnés pour recevoir les injections d'IdU.

Etude électrophysiologique

Préparation de l'animal

Les rats, âgés de 8 à 14 semaines au moment des expériences ont été anesthésiés avec du pentobarbital sodique. L'anesthésie est obtenue en 10 à 15min, et dure environ deux heures. Elle est maintenue durant la chirurgie par l'injection de doses supplémentaires d'anesthésique. Afin d'optimiser la reproductibilité des conditions d'anesthésie pendant la durée du protocole

électrophysiologique proprement dit, tous les animaux ont également reçu une dose de 0,2 ml d'anesthésique 15 min avant le début de l'enregistrement.

Repérage stéréotaxique

Une fois anesthésiés, les animaux ont été placés dans un appareil stéréotaxique, et ont eu le crâne dégagé par incision naso-occipitale des plans cutanés crâniens au moyen d'un scalpel. La température des rats a été maintenue constante. Le crâne a ensuite été percé au niveau de l'hippocampe et de la voie perforante latérale à l'aide d'une fraise dentaire selon les coordonnées stéréotaxiques suivantes, choisies à partir de l'atlas de Paxinos et Watson (Paxinos & Watson, 2006):

- 3,6 mm postérieur au bregma et 2.2 mm latéral pour l'électrode d'enregistrement dans le gyrus denté
- 7,9 mm postérieur au bregma et 4.4 mm latéral pour l'électrode de stimulation dans la voie perforante latérale

L'électrode d'enregistrement est une micropipette de verre remplie d'une solution d'acétate de sodium, d'impédance comprise entre 20 et 25 M Ω . Elle est reliée à un système d'amplification-détection-acquisition «tout-en-un» (Aris 22, Neurostar®, Allemagne) permettant l'enregistrement des données électrophysiologiques sur ordinateur.

L'électrode de stimulation, élaborée par mes soins, est bipolaire, et est constituée de 2 fils d'acier inoxydable (diamètre: 127 μ m chacun) assemblés par tressage en tire-bouchon («twisted design»).

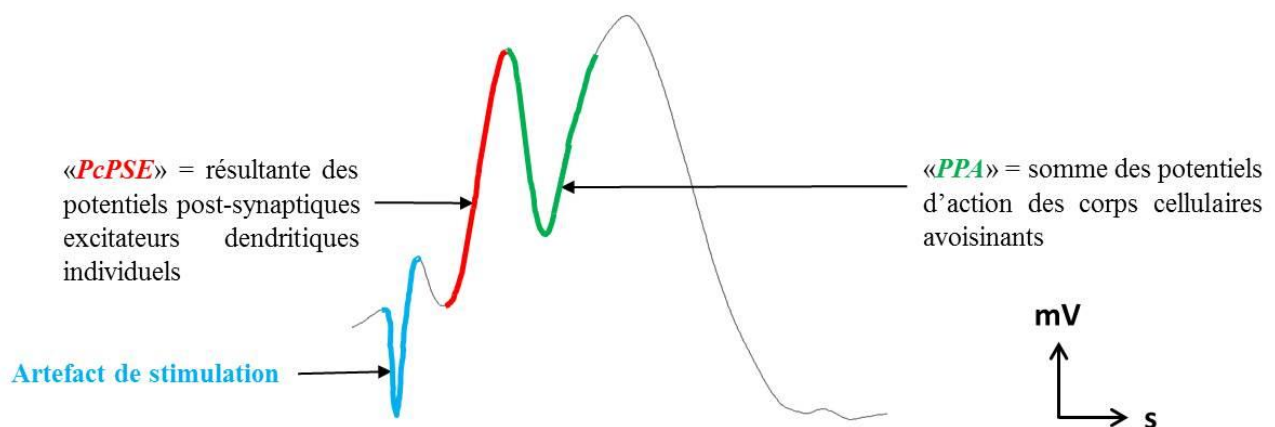
Dans un premier temps, les deux électrodes sont descendues de 2,8 mm par rapport à la surface du cortex, afin de cibler respectivement la couche moléculaire du gyrus denté (enregistrement), et la voie perforante latérale (stimulation).

Optimisation du signal

Des impulsions isolées (250 μ s), d'intensité comprise entre 500 et 1000 μ A, sont délivrées via l'électrode de stimulation afin de rechercher le signal électrophysiologique le plus significatif. Il s'agit d'obtenir un Potentiel de champ Post-Synaptique Excitateur (PcPSE, traduction de l'acronyme anglais «fEPSP» pour field excitatory postsynaptic potential) exprimé en mV.s⁻¹. Ce potentiel de

champ (Pc) constitue la résultante de l'ensemble des potentiels post-synaptiques excitateurs du voisinage de l'électrode. La vitesse de propagation du potentiel de champ est considérée comme la mesure directe de la force de la transmission synaptique entre la voie perforante latérale et les dendrites distales des cellules granulaires du gyrus denté (W. C. Abraham et al., 1993). Par rapport à sa position initiale (2,8 mm), il est parfois nécessaire d'ajuster les coordonnées de l'électrode d'enregistrement afin d'optimiser l'allure du PcPSE (généralement entre 2,5 et 3 mm). Plus rarement, il arrive qu'une profondeur de 2,9 ou 3 mm (au lieu de 2,8) soit également nécessaire pour l'électrode de stimulation. Lorsque les conditions le permettent, il est possible d'observer la Population de Potentiels d'Action (PPA, Population Spike), dont on mesure l'amplitude en mV et qui représente la somme des potentiels d'action déchargés par les cellules granulaires au voisinage de l'électrode de stimulation (W. C. Abraham et al., 1993). La Figure 18 illustre un exemple d'enregistrement sur lequel on peut distinguer les deux composantes d'intérêt (PcPSE et PPA). Toutefois, dans nos conditions expérimentales, seuls les PcPSE ont pu être observés systématiquement, et c'est donc ce paramètre qui nous a servi de référence pour les calculs de ligne de base et de potentialisation à long terme (voir ci-dessous).

Figure 18 : Signal correspondant à une réponse au niveau de l'électrode d'enregistrement



Obtention d'une ligne de base

Une fois le signal optimisé, une courbe I/O (Input/Output) a été réalisée. Cette courbe est obtenue par stimulations (250 μ s) isolées à intensité croissante (100 μ A, 200 μ A, 250 μ A, 300 μ A, 350 μ A...), et en enregistrement des signaux correspondants. La pente des PcPSE est mesurée pour

chaque intensité, jusqu'à l'obtention d'un plateau de réponse (généralement entre 600 et 1000 μA).


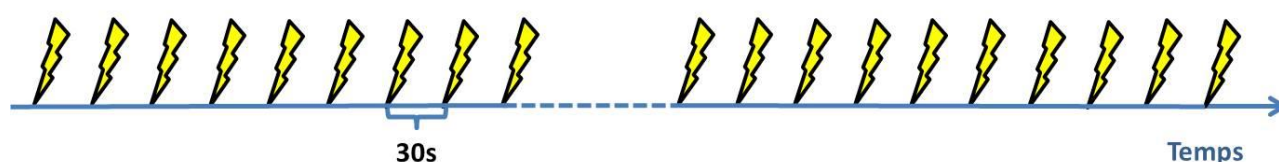
À partir de cette courbe I/O on détermine l'intensité du courant de travail, qui servira aussi bien pour l'obtention de la ligne de base que pour induire la potentialisation à long terme. Cette intensité correspond à 55% de la valeur minimale du courant ayant entraîné le plateau de réponse. Immédiatement après la détermination de ce courant, la ligne de base est effectuée durant 20 minutes, à la fréquence de 0,033 Hz (une période de 30s entre 2 stimulations ; durée de stimulation : 250 μs , intensité : courant de travail). Sur les figures suivantes, les stimulations de 250 μs sont symbolisés par 

Figure 19 : Représentation schématique du protocole de ligne de base

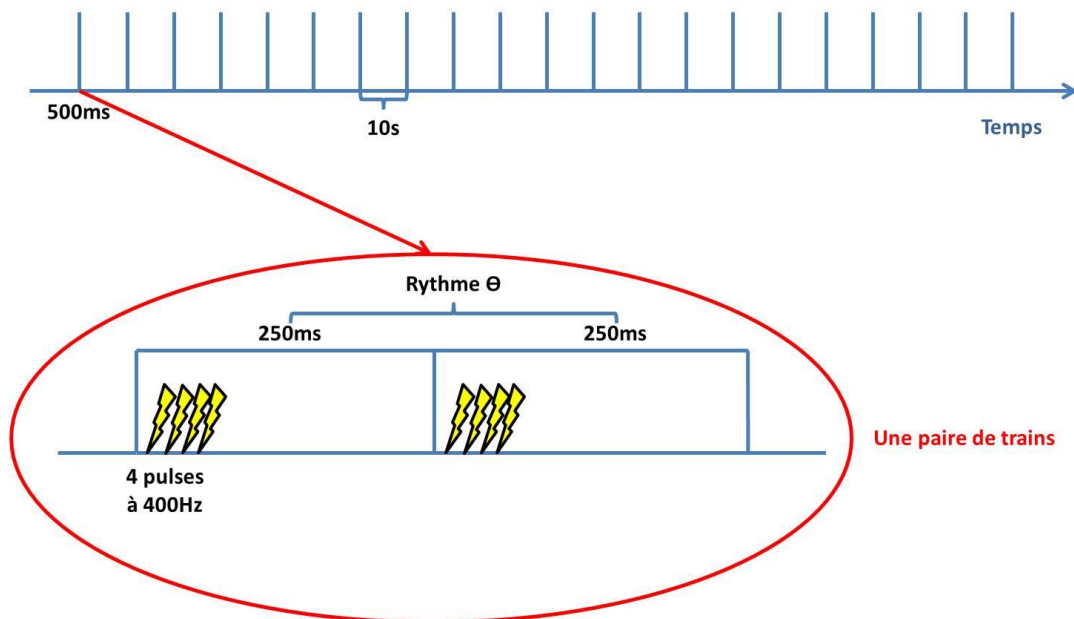


Protocoles d'induction de potentialisation à long terme

Comme déjà indiqué, les protocoles de stimulations haute fréquence ont été adaptés de travaux précédents (W. C. Abraham et al., 1993; Gilbert & Mack, 1998). Il s'agissait de choisir 2 protocoles capables d'induire une potentialisation à long terme de la transmission entre axones de la voie perforante latérale et dendrites des neurones granulaires du gyrus denté, mais avec des magnitudes différentielles.

Pour ce faire, nous avons décidé de faire varier le nombre de paires de trains de stimulation administrées aux animaux (7 ou 21). Chaque paire de trains consistait en deux bouffées de 400 Hz chacune (4 stimulations d'une durée respective de 250 μs , séparées de 2,5ms et à l'intensité de travail). Les 2 bouffées sont séparées entre elles par une durée de 250 ms (fréquence thêta de 4Hz = «theta burst»). Les groupes stimulés ont reçu soit 7, soit 21 de ces paires, à raison d'une paire toutes les 10 s.

Figure 20 : Représentation schématique du protocole de stimulation haute fréquence à 21 paires de trains



Immédiatement après la fin du protocole de la stimulation haute fréquence, la réponse du gyrus denté à la stimulation de la voie perforante latérale a été enregistrée durant 40 minutes supplémentaires, dans les mêmes conditions que pour la réalisation de la ligne de base. Le groupe contrôle n'a reçu que la ligne de base. Aucune stimulation haute fréquence, aucune stimulation supplémentaire à 0,033 Hz ni enregistrement après la ligne de base n'ayant été effectué, ce groupe sera dénommé « Ligne de base » (LB).

Figure 21 : Représentation schématique des différentes conditions expérimentales

Ligne de base (20min)	SHF (7 paires ; 60s)	Post SHF (40 min)	7p
Ligne de base (20min)	SHF (21 paires ; 200s)	Post SHF (40min)	21p
Ligne de base (20min)	∅	∅ (40min)	LB

Sacrifice

Les animaux ont été sacrifiés 2h après le début de la ligne de base (donc 1h40 après la fin de la ligne de base, qu'il y ait eu stimulation haute fréquence ou non). Suite à une dose létale de

pentobarbital (200 mg/kg, i.p.), les animaux ont reçu une perfusion intracardiaque de 300 ml de paraformaldéhyde (PFA, 4%). Leur cerveau a été extrait.

Immunohistochimie

Des coupes frontales sériées de 50µm d'épaisseur ont été réalisées à froid à l'aide d'un vibratome (Leica®), avec une probabilité d'échantillonnage de 1/10.

Marquage péroxidasique

Pour visualiser les cellules néoformées ayant incorporé l'IdU ou le CldU, les coupes flottantes ont subi un enchaînement de traitements :

- Lavage au tampon Phosphate Buffer Saline (PBS)
- Élimination des peroxydases endogènes par du méthanol
- Rinçage au tampon PBS
- Ouverture de la double hélice d'ADN par de l'acide chlorhydrique, permettant l'accès aux analogues de la thymidine par les anticorps
- Blocage des sites immunoréactifs non spécifiques par du sérum normal de cheval pour l'IdU ou de chèvre pour le CldU
- Incubation pendant 72h en présence d'anticorps primaires anti IdU ou anti CldU³², dilués dans du sérum normal d'espèces identiques à l'étape précédente
 - Pour visualiser les cellules ayant incorporé l'IdU, des anticorps monoclonaux de souris de Becton Dickinson® ont été utilisés.
 - Pour visualiser les cellules ayant incorporé le CldU des anticorps primaires monoclonaux de rat de la compagnie Accurate® ont été utilisés
 - Pour visualiser les cellules exprimant la protéine c-Fos, l'étape permettant d'ouvrir les brins d'ADN a été volontairement omise. Des anticorps polyclonaux de lapin anti c-Fos fournis par Santa Cruz Biotechnology® ont été utilisés.
- Lavage au tampon PBS
- Incubation pendant 1h30 en présence d'anticorps secondaires dirigés respectivement contre les anticorps primaires de souris, de rat et de lapin
- Lavage au tampon PBS

³² La réalité est plus complexe : Il n'existe pas d'anticorps spécifiquement faits pour ces analogues de la thymidine, mais il existe 2 types d'anticorps anti BrdU respectivement affins pour le CldU ou l'IdU (cf annexes).

- Incubation dans une solution de streptavidine-biotine-péroxydase, en vue de fixer des peroxydases exogènes sur les complexes d'anticorps formés
- Lavage au tampon PBS puis au tampon Tris
- Révélation de l'activité peroxydasique par la 3,3 diaminobenzidine (DAB) comme chromogène en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)
- Lavage au tampon Tris-NaCl
- Montage des coupes sur lames gélatinisées en milieu Aquamonte® et couverture par lamelles de verre

Double immunofluorescence

La technique de double marquage en immunofluorescence nous a permis de déterminer si les cellules ayant incorporé l'analogue halogéné de la thymidine produisaient la protéine c-Fos. Ces doubles marquages en immunofluorescence ont été réalisés selon une procédure standard (Tronel et al., 2014). Les analyses de cellules CldU et IdU ont été faites sur des séries de coupes différentes d'un même animal pour éviter des réactions non spécifiques entre Ac primaires et secondaires.

Ici aussi, les coupes ont subi un enchaînement de traitements :

- Acide chlorhydrique pour l'ouverture de la double hélice
- Lavage au tampon PBS
- Incubation avec du sérum normal de chèvre pour bloquer les sites aspécifiques
- Incubation pendant 72h en présence d'anticorps primaires anti IdU provenant de souris (vendus par Becton Dickinson®), anti CldU provenant de rats (vendus par Accurate®), anti c-Fos provenant de lapins (vendus par Santa Cruz Biotechnology®) dilués dans du sérum normal d'espèces identiques à l'étape précédente
- Les anticorps anti-IdU et anti-CldU ont été visualisés à l'aide d'anticorps secondaires de chèvre dirigés contre les anticorps primaires de rat ou de souris (suivant l'halogène considéré) couplés au fluorochrome Alexa488
- Les anticorps secondaires de chèvre dirigés contre les anticorps primaires de lapin anti-c-Fos ont été couplés au fluorochrome Alexa 568
- Lavage au tampon PBS

- Montage des coupes dans du tampon Tris-NaCl, sur des lames non gélatinisées, recouvertes ensuite de PVA³³-Dabco puis d'une lamelle de verre

Le double marquage immunofluorescent a été analysé par microscopie confocale (à l'objectif X40). Cette technique permet de contourner l'une des limitations de la microscopie classique qui réside dans la faible profondeur de champ de l'image. En réalisant des plans focaux de 1 µm et, en balayant par le laser le plan de focalisation, une image très nette de chaque plan focal est obtenue. Cette technique m'a permis de déterminer le pourcentage de cellules en phase S aux instants d'injections (possédant l'analogue de la thymidine) qui expriment le facteur de transcription Fos.

Pour évaluer le marquage des cellules, le fluochrome Alexa 488, dont les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission maximales sont respectivement 491 et 515 nm, a été excité par un laser Argon 488nm. Le fluochrome Alexa568, dont les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission maximales sont respectivement 578 et 603 nm, a été excité par un laser solide pompé par diode, à une longueur d'onde de 561nm. Une analyse séquentielle a été réalisée et pour chaque plan focal les deux lasers excitant les fluorochromes ont donc été activés successivement. Les fenêtres d'émission ont été définies afin de récupérer le maximum de fluorescence pour chaque marqueur : Alexa 488=498-550 ; Alexa568=571-670.

Analyse microscopique

Pour chaque coupe de cerveau, entre 4 et 6 zones de comptage, également réparties sur le pourtour du gyrus denté, ont été choisies. Dans chaque zone, l'ensemble de l'épaisseur de la coupe présentant les deux marquages, a fait l'objet d'un inventaire des cellules contenant l'analogue de la thymidine considéré clairement identifiables. Puis, j'ai compté l'ensemble de ces cellules XdU et déterminé lesquelles, parmi elles, contenaient également c-Fos.

Pour chaque animal nous avons déterminé le pourcentage de cellules marquées au XdU exprimant c-Fos (neurones d'une même génération activés). Ces pourcentages ont été calculés à partir d'un échantillonnage d'environ 50±3 cellules marquées XdU par coupe de cerveau. Soit une moyenne de 340±35 cellules par animal. Les pourcentages ont été calculés de la façon suivante :

$$\frac{\text{Nombre de cellules XdU et Fos}}{(\text{Nombre de cellules XdU} + \text{Nombre de cellules XdU et Fos})} \times 100$$

³³ PolyVinyl Alcohol – 1,4 DiazABiCycloOctane (voir annexes)

Analyse statistique

Les différences entre les trois groupes ont été analysées avec une ANOVA suivie, si nécessaire par un Neuman-Keuls (NK).

Résultats

Réponses électrophysiologiques

L'optimisation des conditions d'électrophysiologie, incluses au sein d'un protocole nécessitant en outre sacrifice et perfusion de l'animal, demanda un très grand nombre de mises au point et d'adaptations, sur ce modèle ne fonctionnant pas en routine. En effet, nous espérions dans un premier temps nous focaliser uniquement sur l'amplitude des PPA, mais avons dû nous « rabattre » sur les valeurs des pentes des PcPSE. Les 2 indicateurs permettent la même quantification de la transmission et sa potentialisation. Cependant, l'amplitude des PPA est autrement plus rapide et facile à calculer, ce qui n'est pas négligeable lorsque chaque rat donne à analyser 40 ou 120 signaux !

De ce fait, les expériences présentées ci-après ne résultent pas d'un taux de succès maximal, et sur les rats mâles sélectionnés après parturition des mères gestantes, un total de 10 animaux (voir Tableau 1) a été utilisé pour les résultats présentés ici.

Tableau 1 : Répartition des effectifs exploités pour cette étude

LB	7 paires	21 paires
4 rats	3 rats	3 rats

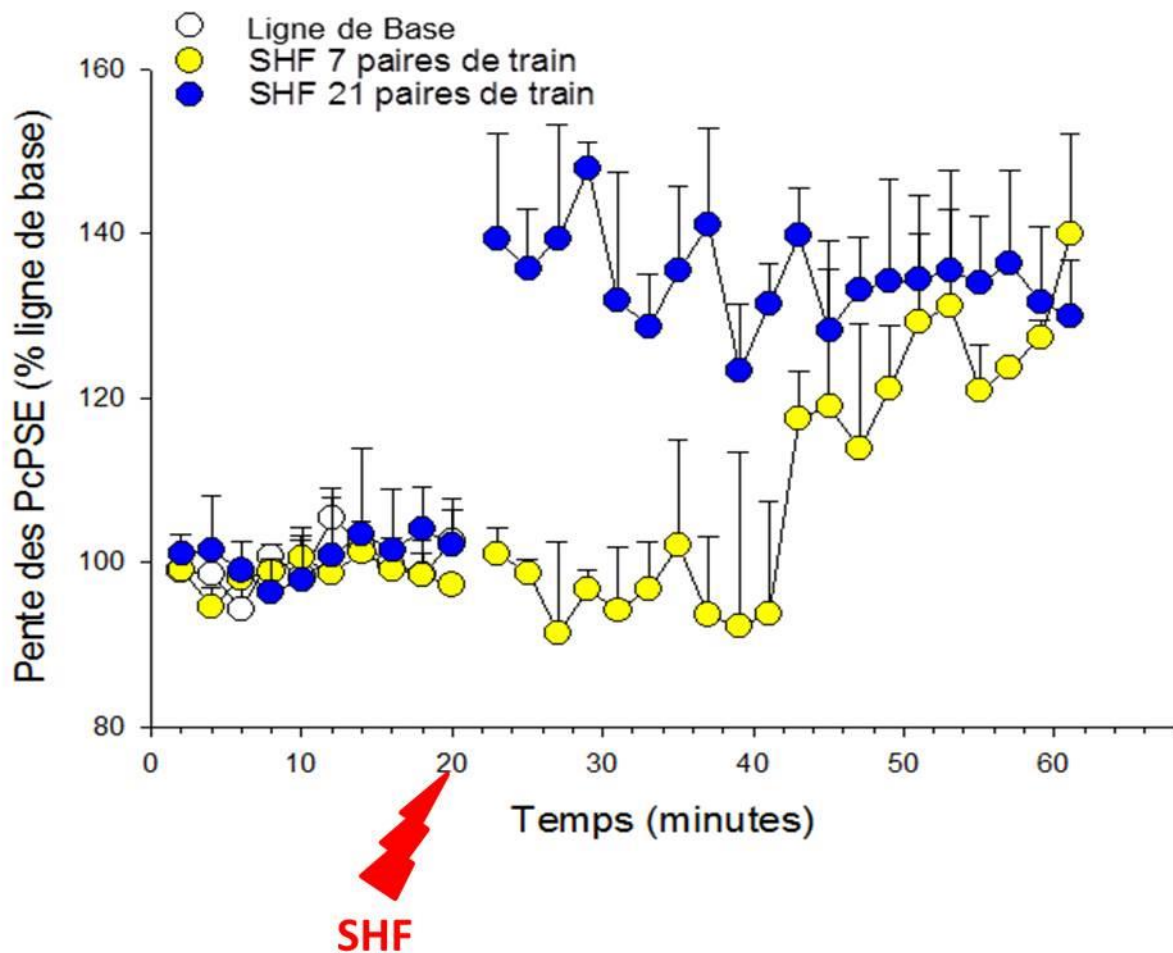
En moyenne, la pente des PcPSE que nous avons enregistrée en condition basale, c'est-à-dire chez les animaux du groupe LB, et durant les 20 minutes précédant la SHF dans les deux autres groupes, est de 652 ± 14 mV/s ($n = 10$), avec des valeurs extrêmes situées aux alentours de 200 et 1000 mV/s. Il s'agit de valeurs classiquement observées dans ces conditions expérimentales (McNaughton et al., 1978), la variabilité observée étant liée à la fois aux différences interindividuelles et à des variations, même discrètes, concernant l'emplacement exact de l'électrode de stimulation.

La Figure 22 présente les valeurs des PcPSE en réponse à chaque stimulation à 0.033Hz exprimées en fonction de la valeur moyenne de ceux-ci durant la ligne de base (période 0 à 20 minutes).

Soit x la valeur du PcPSE en $mV.s^{-1}$ obtenue suite à une stimulation. Pour chaque x est calculée la valeur y correspondante selon la formule suivante :

$$y = \frac{x}{\text{Moyenne des PcPSE entre 0 et 20min}} \times 100$$

Figure 22 : Valeurs de PcPSE au fil du temps exprimées en pourcentage de la moyenne des valeurs basales



Comme ce graphique le montre, la pente des PcPSE augmente de manière significative suite à une stimulation haute fréquence³⁴. Nous avons pu observer lors d'expériences préliminaires, chez des animaux naïfs n'ayant pas reçu d'analogues de la thymidine, que cette augmentation se maintenait au-delà de 100 min après le début du protocole de SHF, qu'il soit de 7 ou de 21 paires de trains. Un tel effet, stable et prolongé dans le temps, a été caractérisé par le passé comme correspondant précisément à une potentialisation à long terme (Wickliffe C. Abraham et al., 1995). Toutefois, nos expériences montrent que le profil de cette potentialisation à long terme diffère significativement entre les deux groupes ayant subi une stimulation haute fréquence. En effet, après une stimulation à 21 paires de train, la pente des PcPSE augmente immédiatement, pour atteindre un plateau égal à 132% des valeurs basales. En revanche, au sein du groupe ayant subi 7 paires de trains, l'augmentation de la pente des PcPSE est différée et ne s'observe qu'après un délai de 20 minutes après la stimulation haute fréquence, et n'atteint un plateau (123% des valeurs basales) que 30 minutes après cet arrêt.

Immunoréactivité et marquage peroxydasique

Les immunohistochimies anti IdU et anti CldU nous ont permis de vérifier les observations datant de 2010, sur les 2 vagues de neurones générés, ainsi que leur localisation. Sur ce sujet, nos observations étaient en accord avec celles de l'équipe de Fred Gage (Mathews et al., 2010). Bien que ces cellules aient été générées à des stades ontogéniques différents et aient incorporé des analogues différents de la thymidine, il n'en demeure pas moins que nous avons retrouvé, dans les deux cas, les mêmes profils de marquage cellulaire. Ainsi, on observe i) des cellules dont le noyau est intensément marqué, ii) des cellules dont le noyau est rendu visible sous la forme d'enrobage de marquage parcellaire, à l'instar de coquilles d'œufs fragmentées.

Nous avons également procédé à des immunohistochimies anti c-Fos et avons décrit la répartition de ce gène d'expression précoce. Ces résultats concordent avec les données de la littérature (Jeffery, Abraham, Dragunow, & Mason, 1990).

³⁴ Des études statistiques plus poussées de ces résultats prouvent que la différence observée entre les groupes 7 et 21 paires, dans la partie post stimulation haute fréquence, est bien due aux 20 minutes suivant la stimulation, comme le laisse présumer ce graphique. Dans les dernières 20 minutes, les valeurs de PcPSE se rejoignent (cf Annexes).

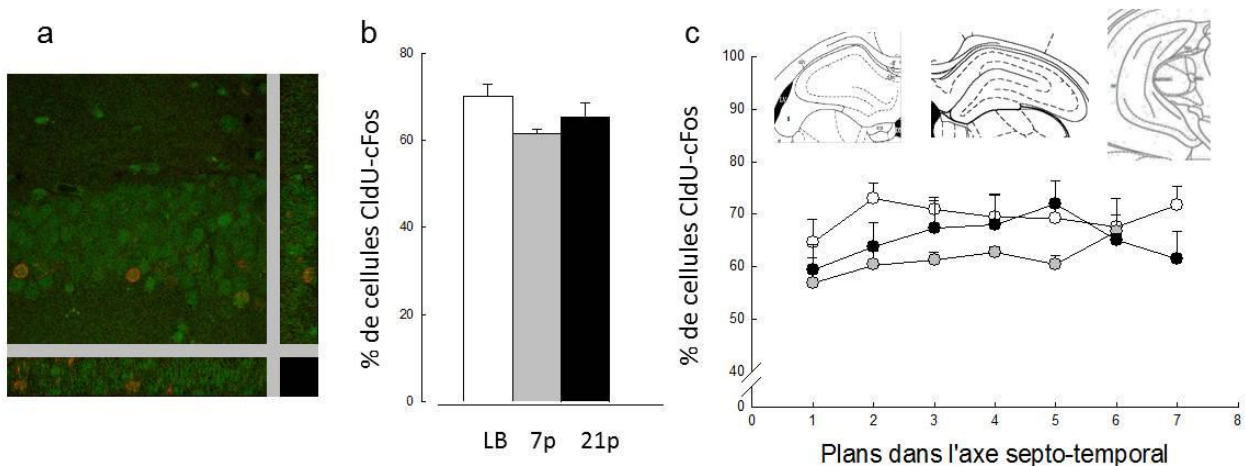
Expression de la protéine c-Fos dans les neurones granulaires

Neurones embryonnaires

Comme vu précédemment, nous nous sommes servis d'une technique de double marquage immunofluorescent XdU/c-Fos. Ainsi, nous avons pu caractériser le recrutement des neurones générés au 19^{ème} jour d'embryogénèse (CldU/c-Fos) et 7^{ème} jour postnatal (IdU/c-Fos).

Concernant la population de cellules embryonnaires (Emb), **les pourcentages de colocalisation CldU/c-Fos, ne diffèrent pas significativement d'un groupe d'animaux à l'autre** ($F_{2,6}=2,88$; $p=0,132$, ANOVA une voie). Nous observons des valeurs peu éloignées les unes des autres pour les différents groupes LB ($70,11\pm 2,75\%$), 7 paires ($61,57\pm 1,04\%$) et 21 paires de trains ($65,29\pm 3,23\%$). Ce résultat est relativement homogène en tout point de l'axe septotemporal. Rappelons que ces pourcentages ont été obtenus par comptage d'une cinquantaine de cellules par point de l'axe antéropostérieur et par animal. **Ainsi, il n'y a pas d'effet de la stimulation haute fréquence sur l'expression de la protéine c-Fos dans les neurones d'origine embryonnaire.**

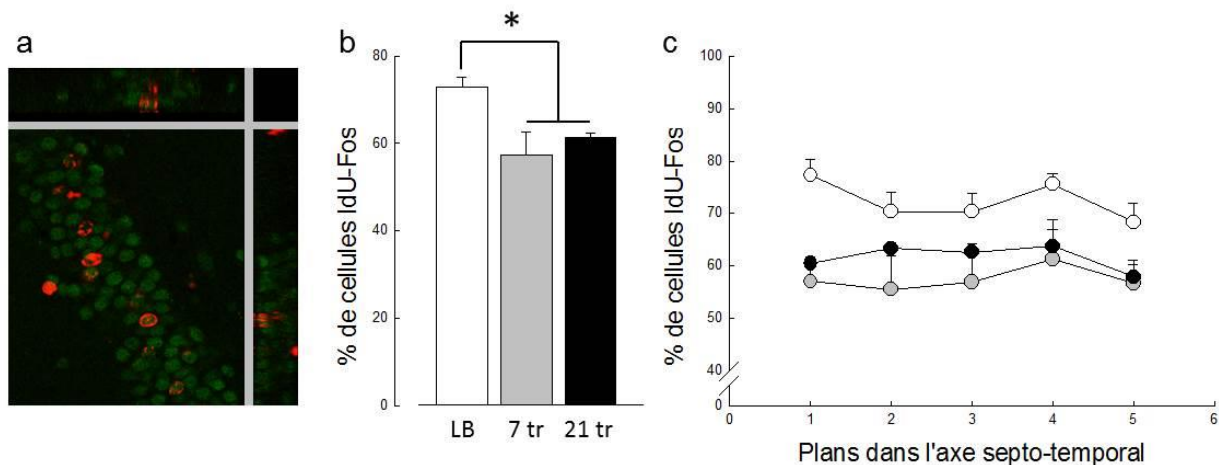
Figure 23 : Marquage immunofluorescent de la protéine c-Fos dans les neurones granulaires d'origine embryonnaire. Photo d'un plan focal et ses projections orthogonales (a) Pourcentages de colocalisation par groupe (b) Pourcentages de colocalisation sur l'axe septotemporal de l'hippocampe représenté par 3 schémas (c)



Neurones postnataux

Au sein de ceux-ci, en revanche, nous observons des **profils de production protéique différents selon le traitement électrophysiologique subi**. En effet, les animaux ayant seulement reçu une ligne de base de 20 minutes, montrent un pourcentage de cellules doublement marquées de ($73,66 \pm 2,84\%$), significativement supérieur à celui des animaux ayant reçu une ligne de base, suivie d'une stimulation haute fréquence et d'une période post SHF de 40 minutes ($F_{2,6}=6,08$; $p=0,036$). **Ceci, que la stimulation haute fréquence soit de 7 paires (colocalisation IdU/c-Fos moyenne de $57,43 \pm 5,11\%$, $p < 0,05$ vs LB, test de Neuman-Keuls), ou de 21 paires de trains (Colocalisation IdU/c-Fos moyenne de $61,39 \pm 1,06\%$, $p < 0,05$ vs LB, test de Neuman-Keuls).** Ici aussi, le pourcentage de co-expression reste homogène le long de l'axe septotemporal. **La stimulation haute fréquence engendre une diminution de l'expression c-Fos des neurones postnataux.**

Figure 24 : Marquage immunofluorescent de la protéine c-Fos dans les neurones granulaires d'origine postnatale. Photo d'un plan focal et ses projections orthogonales (a) Pourcentages de colocalisation par groupe (b) Pourcentages de colocalisation sur l'axe septotemporal de l'hippocampe représenté par 3 schémas (c) * $p < 0,05$



En résumé, ces résultats indiquent que :

- **Les conditions expérimentales étaient conformes à celles décrites dans la littérature** en ce qui concerne le marquage des 2 populations de cellules, ainsi que la stimulation de la voie perforante latérale
- **Les 2 protocoles de stimulation haute fréquence génèrent bien une potentialisation à long terme, avec des profils différents**

- **Il existe bien une réactivité différentielle des neurones de stades ontogénétiques distincts et plus important, nous apportons ici des éléments en vue de ne plus considérer comme strictement égaux tous les neurones développementaux (embryonnaires et postnataux)**

Discussion

Nous avons ainsi modélisé un recrutement différentiel de neurones selon leur stade ontogénétique.

L'intensité de la stimulation haute fréquence (7 ou 21 paires) semble être sans effets au sein d'une population de cellules donnée. En effet, il n'y a pas de différence dans l'expression de cFos entre les groupes stimulés à 7 et 21 paires de trains. Du fait que la potentialisation à 7 paires de trains soit différée dans le temps, nous nous attendions à observer des différences d'expression de c-Fos entre les groupes 7 et 21 paires pour une population de cellules donnée.

Nos observations sont conformes à la littérature : La stimulation tonique (0,033Hz) chez l'animal anesthésié au pentobarbital sodique engendre bien une expression du gène Fos et l'administration de stimulations phasiques (haute fréquence), quant à elle, la réduit (Jeffery et al., 1990)³⁵. Au sujet de cette diminution d'expression de cFos, plusieurs hypothèses sont possibles :

- À l'échelle cellulaire : Nous pouvons supposer que la stimulation phasique, correspondant à nos protocoles de stimulation haute fréquence, mette bien en jeu le recrutement des neurones granulaires, puis qu'un rétrocontrôle négatif se mette en place par sollicitation d'interneurone-s inhibiteur-s. Ces mêmes protocoles de stimulation haute fréquence ne seraient pas parvenus à recruter les neurones embryonnaires, qui ne sont donc pas inhibés par rapport aux animaux contrôles.
- À l'échelle du réseau : Les axones de la voie perforante latérale projetteraient en même temps sur un neurone granulaire et un interneurone inhibiteur, celui-ci projetant sur ce même neurone granulaire, établissant une voie bisynaptique. Des neurones de stades ontogénétiques différents n'auraient pas la même qualité de connexion relative à la voie perforante latérale et l'interneurone inhibiteur. Ces neurones granulaires de stades ontogénétiques différents développeraient des sensibilités différentes aux afférences de l'interneurone inhibiteur et/ou des axones de la voie perforante latérale.

³⁵ Se référer au tableau II des résultats de cet article.

Ces résultats confirment l'hétérogénéité relative de la phase « développementale », introduite plus haut. Cependant, seuls les résultats complets de toutes les populations de cellules nous permettront de dire s'il est pour autant nécessaire d'abandonner définitivement cette dénomination. En effet, il est probable que la différence entre les stades embryonnaire et immédiatement postnatale soit infime par rapport aux différences entre le stade adulte et les stades embryonnaire et/ou postnatal. Nous pouvons tout à fait supposer que la différence entre des cellules de stades ontogénétiques distincts soit proportionnelle à leur éloignement dans le temps.

Les perspectives d'avenir de ce projet sont :

- **L'étude comparée des stades ontogénétiques deux à deux :**
 - **Populations de neurones embryonnaire et adulte : par injection du deuxième marqueur à 2 mois ou plus de vie de l'animal**
 - **Populations de neurones postnatale et adulte**
- **Compléter par d'autres groupes contrôles constitués d'animaux recevant 60 minutes de stimulations toniques, contre les 20 minutes effectuées ici**
- **L'étude de toutes les populations de cellules avec un autre gène d'expression précoce : Zif268, connu pour être plus sensible que Fos à l'amplitude de la potentialisation de la réponse**
- **L'ajout d'un marqueur cellulaire supplémentaire : NeuN, que j'ai déjà évoqué et qui est spécifique du phénotype neuronal**

Les protagonistes de cette approche cellulaire et notamment ceux de la controverse visant à attribuer ou non des fonctions particulières aux neurones granulaires générés à l'âge adulte, semblent chercher les réponses à ces questions dans les propriétés intrinsèques des cellules, bien qu'il n'en soit pas toujours fait mention explicitement.

Ayant une vision universaliste, intégrée, je considère de manière générale que l'intrinsèque et l'extrinsèque de toutes choses sont en interaction, en « dialogue ». Que, ni l'un, ni l'autre, ne peuvent exister sans la relation qui les lie.

Cependant, ce ne sont que mes discussions avec Vincent Proton, doctorant de l'équipe où je réalisais ce projet, qui m'ont fait transposer ce raisonnement à la neurogénèse hippocampique. J'ai depuis lors cherché les travaux exposant une vision plus intégrée de cette neurogénèse. J'ai par ailleurs cherché les autres domaines depuis lesquels je pouvais raisonner par analogie pour valider ou infirmer cette idée d'inclure l'interaction entre cellules nouvellement générées et l'environnement dans lequel elles s'inséraient.

Partie 3 : Étude des réseaux

« Réseau » se dit *retis* en latin, il vient du mot *rete* signifiant « filet »³⁶. En analysant les différentes définitions faites par les éditions Larousse³⁷, apparaît la succession des notions d'entrecroisement, de liaison, d'entrelacement et de communication, témoin d'une gradation dans la complexité de ces associations d'unités que sont les réseaux.

Il existe, dans l'organisme humain, des réseaux à toutes les échelles (cellule, tissu, organe, système) et de différentes tailles, en nombre de constituants comme en distances couvertes. Nous nous intéresserons ici aux réseaux de neurones ainsi qu'aux réseaux de structures anatomiques du cerveau. Les réseaux sont le lieu d'intégration et de diffusion des informations. Ils permettent l'exécution des fonctions cognitives.

Je souhaite dans un premier temps discuter de la plasticité de ces réseaux, de leur dynamique, afin de rapporter leurs caractéristiques et de proposer en quoi notre objet d'étude, la neurogénèse dans l'hippocampe, est intéressante à étudier sous cet angle.

Les réseaux sont dynamiques

L'adjectif « dynamique », lui, est dérivé du nom grec *dunamos* signifiant « force »³⁸. Il renvoie aux forces exercées sur l'objet, son mouvement et inclut la notion d'évolution de l'objet au cours du temps³⁹.

Mon but est d'exposer les différents éléments prouvant la capacité des réseaux à éprouver les changements, depuis leur mise en place jusqu'à leur fonctionnement en routine, sans pour autant présenter une revue exhaustive de la littérature scientifique à ce sujet.

Cortex visuel

Permettez-moi d'aborder ce sujet par un truisme : L'être humain possède 2 yeux, donc deux sources d'informations de même nature du monde extérieur. Cependant, une seule représentation de notre environnement, globale, est formée. Il est donc nécessaire qu'il y ait une mutualisation, un partage des circuits d'informations provenant de chaque œil.

³⁶ Picoche, J., & Rolland, J.-C. (2015). Dictionnaire d'étymologie du français. Paris: Le Robert

³⁷ <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/r%C3%A9seau/68585>

³⁸ Picoche, J., & Rolland, J.-C. (2015). Dictionnaire d'étymologie du français. Paris: Le Robert

³⁹ <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/dynamique/27078>

Chez les espèces dont nous parlerons ici, comme chez l'humain, les informations visuelles sont perçues par la rétine, transmises au corps géniculé latéral, puis acheminées au cortex visuel primaire. Par un système de décussation des fibres nerveuses provenant des yeux, au niveau du chiasma optique, le cortex visuel des deux hémisphères cérébraux reçoit des informations provenant des deux yeux.

J'ai choisi, pour présenter la mise en place du réseau visuel, de présenter les travaux de l'équipe du Professeur Torsten Wiesel, qui lui valurent le prix Nobel de Physiologie/Médecine en 1982 (Wiesel, 1982).

Grâce à des travaux de suture des paupières d'un œil, durant la période immédiatement postnatal de chats et de singes rhésus, l'équipe mit en évidence la « période critique », durant laquelle la réception des stimuli de l'environnement conditionne hautement la configuration du réseau visuel. Ils observèrent tout d'abord chez des chats, qu'après rupture de la suture, quasiment toutes les cellules du cortex visuel ne répondaient qu'aux stimuli provenant de l'œil laissé libre auparavant. Les stimuli en provenance de l'œil précédemment opéré ne génèrent pas ou peu de réaction dans le cortex visuel et donc cet œil ne participera plus à la fourniture d'informations visuelles.

Des travaux ultérieurs, chez le singe, permirent d'établir que lors de cette « période critique », les cellules binoculaires du cortex visuel établissent leur profil de décharge en recevant des informations en provenance des yeux, de manière parfaitement alternée. La suture, uniquement pendant cette période, engendre un déséquilibre aboutissant à une sensibilité exclusive aux informations en provenance d'un seul œil.

Notons toutefois, que si la suture est enlevée, on assiste à une réversion des effets et un rééquilibre des informations perçues par les cellules binoculaires. De même, si la suture est changée d'œil au cours de cette période, nous assisterons à une inversion des proportions d'informations provenant de chaque œil.

En résumé, pendant la « période critique », les cellules binoculaires du cortex visuel « apprennent » à recevoir des informations des deux yeux.

Cette méthode de suture de paupière et la réorganisation du réseau qu'elle engendre constituent un modèle d'étude toujours utilisé, notamment dans une équipe de chercheurs

allemande qui a récemment étudié les altérations de cette plasticité du réseau du cortex visuel par des lésions du cortex moteur limitrophe (Pielecka-Fortuna, Kalogeraki, Greifzu, & Löwel, 2015).

Aire tegmentale ventrale et renforcement de comportement

Nous avons déjà évoqué cette structure anatomique dans la partie « Addiction ». Je m'appuierai ici volontairement sur des travaux relativement anciens, car certains aspects du rôle des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale sont considérés comme acquis. En 2001, une équipe de chercheurs de l'Université de Californie San Francisco a montré que la stimulation électrique de l'aire tegmentale ventrale pendant un son particulier augmentait la réponse du cortex auditif à ce son, tout en diminuant les réponses des sons (d'autres fréquences) diffusés en dehors des stimulations (Bao, Chan, & Merzenich, 2001). Ainsi, **le traitement de l'information auditive est modifié par les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale qui renforcent un flux déjà existant**, solidifient le lien entre un stimulus et son traitement. En ce sens, l'aire tegmentale ventrale assure le remodelage continu de certains réseaux dont le circuit auditif.

Influences du cortex prémoteur sur le cortex moteur

Giacomo Rizzolatti et son équipe établirent en 1992 la présence de neurones miroirs dans le cortex. Depuis, la présence de telles cellules chez l'humain a été étudiée et est considérée comme acquise (Rizzolatti & Fogassi, 2014).

Le cortex prémoteur est une zone où circulent les informations nerveuses avant l'initiation d'un mouvement. Il existe dans cette zone du cortex du primate, des neurones dits visuomoteurs, divisés en deux catégories :

- Canoniques, qui répondent à la présentation d'objets, différemment selon leurs forme et taille
- Miroirs, qui répondent à l'observation de l'exécution d'une action par un congénère

Des travaux ultérieurs montrèrent que les neurones canoniques déchargent, en fait, différemment selon la manière dont il faut procéder pour, par exemple, se saisir d'un objet. Ces neurones sont chargés de préparer l'individu à l'action à réaliser.

Les neurones miroirs, quant à eux, déchargent de manières strictement identiques que le singe observe une action motrice d'un congénère primate (humain ou non) ou qu'il exécute cette même action. Ce circuit est sensible au conditionnement : l'association de l'observation de l'action à un son, produit le même profil de décharge des neurones que l'observation de l'action seule. Ceci fait dire aux auteurs que ces neurones codent « l'intention motrice » d'autrui.

Plus l'action observée a de la valeur pour l'observateur (nourriture dans le cas du singe), plus l'activation des neurones est forte.

Les neurones miroirs constituent un point d'interface entre l'environnement de l'individu et le fonctionnement de réseaux neuronaux.

Nous avons donc vu dans cette courte section sur la dynamique des réseaux, qu'il existe une « période critique » durant laquelle le réseau se met en place, se structure. Qu'il lui est possible de voir son organisation modifiée par le fonctionnement d'autres réseaux et réciproquement.

De la neurogénèse dans la dynamique des réseaux

Dans la partie précédente, nous avons vu les étapes-clés des constitution et modifications d'un réseau. La modification de ceux-ci, même lorsqu'elle est mineure, est perpétuelle. Du fait de cette dynamique des réseaux et de la relation entre le tout et ses constituants, il est, à mon avis, impossible d'attribuer à des neurones granulaires matures, des fonctions précises en considération unique de leurs propriétés intrinsèques.

Nous avons mentionné plus haut que les neurones générés à l'âge adulte possédaient une phase de maturation, marquée par une propension à la plasticité exacerbée. Il est nécessaire de rappeler que cette plasticité résulte d'une mise en place différentielle des afférences inhibitrices sur ces neurones (Pardi et al., 2015), mais également d'efférences inhibitrices directes et indirectes, fortes, de ces neurones néoformés sur les neurones matures déjà en place (Piatti, Ewell, & Leutgeb, 2013).

Mémorisation

Nous avons, tout au long de ce manuscrit, évoqué le rôle de l'hippocampe dans la mémoire. J'espère cependant ne pas avoir laissé entendre au lecteur que l'hippocampe serait le lieu de stockage de la mémoire.

Actuellement, les théories sur la mémoire indiquent que l'hippocampe constituerait la porte d'entrée des informations à stocker. Dans leur revue, les chercheurs réunis autour de Susumu Tonegawa exposent des travaux dans lesquels la stimulation sélective (par optogénétique) de cellules hippocampiques ayant participé à l'encodage d'un souvenir, permettent le rappel de celui-ci (Tonegawa, Pignatelli, Roy, & Ryan, 2015). Cette stimulation des cellules hippocampiques est nécessaire, mais est-elle suffisante au rappel ?

Les auteurs proposent que lors de l'encodage, un ensemble de cellules, distribuées dans différentes régions cérébrales, se synchronisent et renforcent leurs connexions synaptiques (potentialisation à long terme). Elles seraient, par la suite, liées grâce à cet événement vécu ensemble.

Rappelons que dans leur phase de maturation, les neurones générés à l'âge adulte établissent des connexions inhibant leurs congénères déjà en place, pour assurer leur insertion. Ainsi, ils déconstruisent partiellement la connectivité du réseau en place, pour la moduler et s'y insérer. Du fait de cette insertion dans un réseau déjà établi, les néoneurones peuvent augmenter la complexité des réseaux de cellules susceptibles de supporter un souvenir. Agrandir un réseau, par la rencontre de deux ensembles de cellules préexistants et ainsi, créer de nouvelles possibilités de fonctions mnésiques, en accord avec les résultats de la littérature (Tronel et al., 2014).

Des chercheurs de l'équipe REMEMBeR, du Centre de Recherche sur la Cognition Animale toulousain, travaillent depuis plusieurs années sur un modèle bien décrit de souris transgénique de la maladie d'Alzheimer. En vieillissant, ces souris présentent notamment :

- des dépôts amyloïdes
- une importante perturbation de la connectivité, comprenant une hypersynchronisation électrique des neurones
- de forts déficits mnésiques
- Un comportement anxieux exacerbé

Leurs travaux mettent en évidence l'effet bénéfique de l'exposition à un environnement enrichi, chez ces souris, bien avant la situation pathologique (Verret et al., 2013). Bien que cette étude ne comporte pas de résultats quant aux effets de l'enrichissement environnemental sur la neurogénèse hippocampique, il est indéniable, au vu des données présentées précédemment, que celle-ci ait été favorablement impactée, au moins un court intervalle de temps après l'exposition. Ces travaux indiquent que l'enrichissement environnemental avant l'atteinte histologique :

- Normalise l'activité électrique des réseaux de neurones
- Réduit le comportement anxieux (bien qu'au vu du test utilisé, les chercheurs ne soient pas sûrs et émettent la possibilité qu'il s'agisse d'une inconscience du danger)
- Restaure les performances mnésiques

Nous pouvons tout à fait supposer que ces effets puissent être en partie médiés par la neurogénèse hippocampique, que les neurones générés au moment de l'exposition à l'environnement enrichi, participent au renforcement de réseaux en place, engendrent des remaniements qui seront protecteurs par la suite.

Traitement des informations spatiales

Le Professeur Alain Berthoz, dans son livre paru en 2013 sur la vicariance⁴⁰, évoque une forme particulière de vicariance, qu'est la vicariance fonctionnelle, la possibilité de substituer un moyen d'atteindre un but, une stratégie, par un-e autre. Il écrit au sujet de la possibilité d'emprunter plusieurs chemins pour se rendre en un même lieu. Il insiste notamment sur le changement de référentiel, ce pouvoir d'évaluer une situation selon différents points de vue (parfois simultanément), de prendre une décision par synthèse de données provenant de plusieurs référentiels. Il y décrit brièvement les structures impliquées respectivement dans les différents référentiels, y rappelle la participation de l'hippocampe dans le traitement des informations d'un référentiel allocentré (indépendant de l'individu), mais suggère surtout, sur la base de travaux réalisés par son équipe, que l'hippocampe droit en particulier, agirait en aiguillant vers l'usage de tel ou tel référentiel (Lambrey et al., 2008). En ayant un tel rôle, l'hippocampe doit posséder un fin système de régulation des communications, non seulement dans ses circuits internes, mais aussi et surtout dans les circuits le connectant à toutes les autres structures, gérant les autres référentiels.

⁴⁰ Berthoz, A. (2013). La vicariance, le cerveau créateur de mondes. Paris: Odile Jacob

Je suppose que la neurogénèse hippocampique participe à cette dynamique interstructures. Qu'au fur et à mesure des expériences de l'individu, faisant appel aux différents référentiels, le poste d'aiguillage réduit ou augmente certaines communications d'un réseau à un autre. Certaines stratégies seraient privilégiées au fur et à mesure de l'expérience, permettant ainsi à certaines personnes d'être à l'aise avec le référentiel allocentré, leur conférant un bon sens de l'orientation, alors que d'autres développent une habileté à retenir une suite d'indicateurs de leur itinéraire, inhérents à leur référentiels autocentré.

Conclusion

Il existe de multiples moyens d'étudier la neurogénèse hippocampique, faisant appel à des niveaux d'observations différents (organisme entier, cellule isolée...). Beaucoup de données restent à produire à des niveaux d'observation plus intégrés, permettant de mieux refléter l'implication tentaculaire de ce phénomène.

Nous l'avons vu, les informations interneuronales sont variantes au fil du temps, les expériences vécues par l'individu laissent des traces dans le système nerveux central. Héraclite, dans son fragment 91, nous dit que l'on ne peut pas se baigner deux fois dans le **même** fleuve. L'intégration des neurones nouvellement générés dans une architecture déjà existante en augmente la complexité et fait émerger de nouvelles possibilités de connectivité, corrélée à l'exécution de fonctions plus ou moins différentes. Ainsi, un des enjeux majeurs de la compréhension de la neurogénèse serait de pouvoir appréhender les changements induits par les nouveaux neurones dans l'architecture préexistante, de développer des modèles, vivants ou non, d'un même réseau, et d'en comparer les états avec ou sans « greffe neuronale ».

Je le disais en introduction, je me suis focalisé ici sur la neurogénèse hippocampique. Mais, tout comme il me semble nécessaire de faire varier les niveaux d'observation pour produire des connaissances de différentes natures aboutissant à l'approche globale de celle-ci, l'étude de la neurogénèse dans les autres structures cérébrales me semblerait être d'un grand secours, afin de saisir les mécanismes généraux de la neurogénèse et ceux qui sont spécifiques à une zone anatomique donnée.

La manière dont nous interagissons avec notre environnement (activité sportive, confrontation à la nouveauté, interactions sociales riches etc.) impacte la genèse de neurones tout au long de notre vie, nous permettant la conception de nouvelles stratégies d'interaction avec le monde extérieur. Ainsi, nous sommes ici au carrefour de l'universel et du singulier : Bien que nous possédions tous les mêmes outils, les utilisations diffèrent selon chacun. Ceci représente donc le point central de la construction de l'individualité.

Travaux cités

- Abraham, W. C., Mason-Parker, S. E., Williams, J., & Dragunow, M. (1995). Analysis of the decremental nature of LTP in the dentate gyrus. *Molecular Brain Research*, *30*(2), 367-372. [http://doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00026-O](http://doi.org/10.1016/0169-328X(95)00026-O)
- Abraham, W. C., Mason, S. E., Demmer, J., Williams, J. M., Richardson, C. L., Tate, W. P., ... Dragunow, M. (1993). Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience*, *56*(3), 717-727. [http://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90369-Q](http://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90369-Q)
- Abrous, D. N., Koehl, M., & Moal, M. L. (2005). Adult Neurogenesis: From Precursors to Network and Physiology. *Physiological Reviews*, *85*(2), 523-569. <http://doi.org/10.1152/physrev.00055.2003>
- Aimone, J. B., Li, Y., Lee, S. W., Clemenson, G. D., Deng, W., & Gage, F. H. (2014). Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. *Physiological Reviews*, *94*(4), 991-1026. <http://doi.org/10.1152/physrev.00004.2014>
- Alexander, B. K., Beyerstein, B. L., Hadaway, P. F., & Coombs, R. B. (1981). Effect of early and later colony housing on oral ingestion of morphine in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *15*(4), 571-576. [http://doi.org/10.1016/0091-3057\(81\)90211-2](http://doi.org/10.1016/0091-3057(81)90211-2)
- Altman, J., & Das, G. D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *The Journal of Comparative Neurology*, *124*(3), 319-335.
- Alvarez-Buylla, A., Theelen, M., & Nottebohm, F. (1988). Birth of projection neurons in the higher vocal center of the canary forebrain before, during, and after song learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *85*(22), 8722-8726.

- Arenkiel, B. (2011). Genetic approaches to reveal the connectivity of adult-born neurons. *Neurogenesis*, 5, 48. <http://doi.org/10.3389/fnins.2011.00048>
- Bao, S., Chan, V. T., & Merzenich, M. M. (2001). Cortical remodelling induced by activity of ventral tegmental dopamine neurons. *Nature*, 412(6842), 79-83. <http://doi.org/10.1038/35083586>
- Barnea, A., & Nottebohm, F. (1994). Seasonal recruitment of hippocampal neurons in adult free-ranging black-capped chickadees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(23), 11217-11221.
- Ben M'Barek, K., Pla, P., Orvoen, S., Benstaali, C., Godin, J. D., Gardier, A. M., ... Humbert, S. (2013). Huntingtin mediates anxiety/depression-related behaviors and hippocampal neurogenesis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(20), 8608-8620. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5110-12.2013>
- Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., Van Emde Boas, W., ... Scheffer, I. E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*, 51(4), 676-685. <http://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>
- Bernasconi, A., Bernasconi, N., Bernhardt, B. C., & Schrader, D. (2011). Advances in MRI for « cryptogenic » epilepsies. *Nature Reviews Neurology*, 7(2), 99-108. <http://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.199>
- Bialer, M., & White, H. S. (2010). Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(1), 68-82. <http://doi.org/10.1038/nrd2997>
- Blümcke, I., Coras, R., Miyata, H., & Ozkara, C. (2012). Defining clinico-neuropathological subtypes of mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 22(3), 402-411. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2012.00583.x>

- Bouchet, C., & Cazauvieilh, J. B. (1825). *De l'Épilepsie considérée dans ses rapports avec l'aliénation mentale, recherches sur la nature et le siège de ces deux maladies*. [Paris]: Impr. Migneret.
- Bruel-Jungerman, E., Davis, S., Rampon, C., & Laroche, S. (2006). Long-Term Potentiation Enhances Neurogenesis in the Adult Dentate Gyrus. *The Journal of Neuroscience*, *26*(22), 5888-5893. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0782-06.2006>
- Colcombe, S., & Kramer, A. F. (2003). Fitness Effects on the Cognitive Function of Older Adults A Meta-Analytic Study. *Psychological Science*, *14*(2), 125-130. <http://doi.org/10.1111/1467-9280.t01-1-01430>
- Drew, L. J., Kheirbek, M. A., Luna, V. M., Denny, C. A., Cloidt, M. A., Wu, M. V., ... Hen, R. (2016). Activation of local inhibitory circuits in the dentate gyrus by adult-born neurons. *Hippocampus*, n/a-n/a. <http://doi.org/10.1002/hipo.22557>
- Dupret, D., Fabre, A., Döbrössy, M. D., Panatier, A., Rodríguez, J. J., Lamarque, S., ... Abrous, D. N. (2007). Spatial Learning Depends on Both the Addition and Removal of New Hippocampal Neurons. *PLoS Biology*, *5*(8). <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050214>
- Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A., & Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine*, *4*(11), 1313-1317. <http://doi.org/10.1038/3305>
- Ernst, A., & Frisén, J. (2015). Adult Neurogenesis in Humans- Common and Unique Traits in Mammals. *PLoS Biology*, *13*(1). <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002045>
- Fabel, K., Wolf, S. A., Ehninger, D., Babu, H., Leal-Galicia, P., & Kempermann, G. (2009). Additive Effects of Physical Exercise and Environmental Enrichment on Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice. *Frontiers in Neuroscience*, *3*. <http://doi.org/10.3389/neuro.22.002.2009>

- Fares, R. P., Belmeguenai, A., Sanchez, P. E., Kouchi, H. Y., Bodennec, J., Morales, A., ... Bezin, L. (2013). Standardized Environmental Enrichment Supports Enhanced Brain Plasticity in Healthy Rats and Prevents Cognitive Impairment in Epileptic Rats. *PLOS ONE*, *8*(1), e53888. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0053888>
- Farioli-Vecchioli, S., Mattera, A., Micheli, L., Ceccarelli, M., Leonardi, L., Saraulli, D., ... Tirone, F. (2014). Running Rescues Defective Adult Neurogenesis by Shortening the Length of the Cell Cycle of Neural Stem and Progenitor Cells. *STEM CELLS*, *32*(7), 1968-1982. <http://doi.org/10.1002/stem.1679>
- Frankland, P. W., Köhler, S., & Josselyn, S. A. (2013). Hippocampal neurogenesis and forgetting. *Trends in Neurosciences*, *36*(9), 497-503. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2013.05.002>
- Ge, S., Yang, C., Hsu, K., Ming, G., & Song, H. (2007). A Critical Period for Enhanced Synaptic Plasticity in Newly Generated Neurons of the Adult Brain. *Neuron*, *54*(4), 559-566. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.05.002>
- Gilbert, M. E., & Mack, C. M. (1998). Chronic lead exposure accelerates decay of long-term potentiation in rat dentate gyrus in vivo. *Brain Research*, *789*(1), 139-149. [http://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01517-5](http://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01517-5)
- Goldman, S. A., & Nottebohm, F. (1983). Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *80*(8), 2390-2394.
- Hafting, T., Fyhn, M., Molden, S., Moser, M.-B., & Moser, E. I. (2005). Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, *436*(7052), 801-806. <http://doi.org/10.1038/nature03721>

- Hayes, S. M., Alosco, M. L., Hayes, J. P., Cadden, M., Peterson, K. M., Allsup, K., ... Verfaellie, M. (2015). Physical Activity Is Positively Associated with Episodic Memory in Aging. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, 21(10), 780-790. <http://doi.org/10.1017/S1355617715000910>
- Hillman, C. H., Erickson, K. I., & Kramer, A. F. (2008). Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 58-65. <http://doi.org/10.1038/nrn2298>
- Jacobs, B. L., van Praag, H., & Gage, F. H. (2000). Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Molecular Psychiatry*, 5(3), 262-269.
- Jeffery, K. J., Abraham, W. C., Dragunow, M., & Mason, S. E. (1990). Induction of Fos-like immunoreactivity and the maintenance of long-term potentiation in the dentate gyrus of unanesthetized rats. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 8(4), 267-274.
- Jessberger, S., & Parent, J. M. (2015). Epilepsy and Adult Neurogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(12). <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a020677>
- Josselyn, S. A., Köhler, S., & Frankland, P. W. (2015). Finding the engram. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(9), 521-534. <http://doi.org/10.1038/nrn4000>
- Jung, K.-H., Chu, K., Kim, M., Jeong, S.-W., Song, Y.-M., Lee, S.-T., ... Roh, J.-K. (2004). Continuous cytosine-b-D-arabinofuranoside infusion reduces ectopic granule cells in adult rat hippocampus with attenuation of spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus. *The European Journal of Neuroscience*, 19(12), 3219-3226. <http://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03412.x>
- Jung, K.-H., Chu, K., Lee, S.-T., Kim, J., Sinn, D.-I., Kim, J.-M., ... Roh, J.-K. (2006). Cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, inhibits the altered hippocampal neurogenesis with attenuation of

spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus.

Neurobiology of Disease, 23(2), 237-246. <http://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.02.016>

Kang, E., Wen, Z., Song, H., Christian, K. M., & Ming, G.-L. (2016). Adult Neurogenesis and Psychiatric Disorders. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a019026>

Kaplan, M. S., & Hinds, J. W. (1977). Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science (New York, N.Y.)*, 197(4308), 1092-1094.

Kim, H., Lee, S.-H., Kim, S.-S., Yoo, J.-H., & Kim, C.-J. (2007). The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 25(4), 243-249. <http://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2007.03.003>

Kitamura, T., Saitoh, Y., Takashima, N., Murayama, A., Niibori, Y., Ageta, H., ... Inokuchi, K. (2009). Adult Neurogenesis Modulates the Hippocampus-Dependent Period of Associative Fear Memory. *Cell*, 139(4), 814-827. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2009.10.020>

Korosi, A., Naninck, E. F. G., Oomen, C. A., Schouten, M., Krugers, H., Fitzsimons, C., & Lucassen, P. J. (2012). Early-life stress mediated modulation of adult neurogenesis and behavior. *Behavioural Brain Research*, 227(2), 400-409. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.037>

Lambrey, S., Amorim, M.-A., Samson, S., Noulhiane, M., Hasboun, D., Dupont, S., ... Berthoz, A. (2008). Distinct visual perspective-taking strategies involve the left and right medial temporal lobe structures differently. *Brain*, 131(2), 523-534. <http://doi.org/10.1093/brain/awm317>

- Laplagne, D. A., Espósito, M. S., Piatti, V. C., Morgenstern, N. A., Zhao, C., Praag, H. van, ... Schinder, A. F. (2006). Functional Convergence of Neurons Generated in the Developing and Adult Hippocampus. *PLoS Biol*, 4(12), e409. <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040409>
- Lee, H.-H., Kim, H., Lee, J.-W., Kim, Y.-S., Yang, H.-Y., Chang, H.-K., ... Kim, C.-J. (2006). Maternal swimming during pregnancy enhances short-term memory and neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *Brain and Development*, 28(3), 147-154. <http://doi.org/10.1016/j.braindev.2005.05.007>
- Lemaire, V., Tronel, S., Montaron, M.-F., Fabre, A., Dugast, E., & Abrous, D. N. (2012). Long-Lasting Plasticity of Hippocampal Adult-Born Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 32(9), 3101-3108. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4731-11.2012>
- Lepousez, G., Nissant, A., & Lledo, P.-M. (2015). Adult Neurogenesis and the Future of the Rejuvenating Brain Circuits. *Neuron*, 86(2), 387-401. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.01.002>
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P. T., Puryear, C. B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., & Tonegawa, S. (2012). Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*, 484(7394), 381-385. <http://doi.org/10.1038/nature11028>
- Mathews, E. A., Morgenstern, N. A., Piatti, V. C., Zhao, C., Jessberger, S., Schinder, A. F., & Gage, F. H. (2010). A DISTINCTIVE LAYERING PATTERN OF MOUSE DENTATE GRANULE CELLS IS GENERATED BY DEVELOPMENTAL AND ADULT NEUROGENESIS. *The Journal of comparative neurology*, 518(22), 4479-4490. <http://doi.org/10.1002/cne.22489>
- McNaughton, B. L., Douglas, R. M., & Goddard, G. V. (1978). Synaptic enhancement in fascia dentata: Cooperativity among coactive afferents. *Brain Research*, 157(2), 277-293. [http://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)90030-6](http://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90030-6)

- Motta-Teixeira, L. C., Takada, S. H., Machado-Nils, A. V., Nogueira, M. I., & Xavier, G. F. (2016). Spatial learning and neurogenesis: Effects of cessation of wheel running and survival of novel neurons by engagement in cognitive tasks. *Hippocampus*, n/a-n/a. <http://doi.org/10.1002/hipo.22560>
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, *34*(1), 171-175.
- Olson, A. K., Eadie, B. D., Ernst, C., & Christie, B. R. (2006). Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus*, *16*(3), 250-260. <http://doi.org/10.1002/hipo.20157>
- Ortega-Martínez, S. (2015). Influences of prenatal and postnatal stress on adult hippocampal neurogenesis: the double neurogenic niche hypothesis. *Behavioural Brain Research*, *281*, 309-317. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.036>
- Pardi, M. B., Ogando, M. B., Schinder, A. F., & Marin-Burgin, A. (2015). Differential inhibition onto developing and mature granule cells generates high-frequency filters with variable gain. *eLife*, *4*, e08764. <http://doi.org/10.7554/eLife.08764>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2006). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 6th Edition*. Consulté à l'adresse <http://store.elsevier.com/The-Rat-Brain-in-Stereotaxic-Coordinates/George-Paxinos/isbn-9780080475158/>
- Piatti, V. C., Ewell, L. A., & Leutgeb, J. K. (2013). Neurogenesis in the dentate gyrus: carrying the message or dictating the tone. *Frontiers in Neuroscience*, *7*. <http://doi.org/10.3389/fnins.2013.00050>
- Pielecka-Fortuna, J., Kalogeraki, E., Greifzu, F., & Löwel, S. (2015). A Small Motor Cortex Lesion Abolished Ocular Dominance Plasticity in the Adult Mouse Primary Visual Cortex and

- Impaired Experience-Dependent Visual Improvements. *PLOS ONE*, 10(9), e0137961.
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0137961>
- Pun, R. Y. K., Rolle, I. J., Lasarge, C. L., Hosford, B. E., Rosen, J. M., Uhl, J. D., ... Danzer, S. C. (2012). Excessive activation of mTOR in postnatally generated granule cells is sufficient to cause epilepsy. *Neuron*, 75(6), 1022-1034. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.08.002>
- Rakic, P. (1985). Limits of neurogenesis in primates. *Science (New York, N.Y.)*, 227(4690), 1054-1056.
- Reif, A., Fritzen, S., Finger, M., Strobel, A., Lauer, M., Schmitt, A., & Lesch, K.-P. (2006). Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Molecular Psychiatry*, 11(5), 514-522. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001791>
- Richardson, S. S., Daniels, C. R., Gillman, M. W., Golden, J., Kukla, R., Kuzawa, C., & Rich-Edwards, J. (2014). Society: Don't blame the mothers. *Nature*, 512(7513), 131-132.
<http://doi.org/10.1038/512131a>
- Rizzolatti, G., & Fogassi, L. (2014). The mirror mechanism: recent findings and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1644).
<http://doi.org/10.1098/rstb.2013.0420>
- Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., ... Hen, R. (2003). Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the Behavioral Effects of Antidepressants. *Science*, 301(5634), 805-809. <http://doi.org/10.1126/science.1083328>
- Scarmeas, N., & Stern, Y. (2003). Cognitive Reserve and Lifestyle. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 25(5), 625-633.

- Schlessinger, A. R., Cowan, W. M., & Gottlieb, D. I. (1975). An autoradiographic study of the time of origin and the pattern of granule cell migration in the dentate gyrus of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, *159*(2), 149-175. <http://doi.org/10.1002/cne.901590202>
- Shannon, K. M., & Fraint, A. (2015). Therapeutic advances in Huntington's Disease. *Movement Disorders*, *30*(11), 1539-1546. <http://doi.org/10.1002/mds.26331>
- Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, *8*(3), 448-460.
- Stranahan, A. M., Khalil, D., & Gould, E. (2006). Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. *Nature neuroscience*, *9*(4), 526-533. <http://doi.org/10.1038/nn1668>
- Tapia-Rojas, C., Aranguiz, F., Varela-Nallar, L., & Inestrosa, N. C. (2016). Voluntary Running Attenuates Memory Loss, Decreases Neuropathological Changes and Induces Neurogenesis in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Brain Pathology*, *26*(1), 62-74. <http://doi.org/10.1111/bpa.12255>
- Tonegawa, S., Pignatelli, M., Roy, D. S., & Ryan, T. J. (2015). Memory engram storage and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, *35*, 101-109. <http://doi.org/10.1016/j.conb.2015.07.009>
- Tronel, S., Lemaire, V., Charrier, V., Montaron, M.-F., & Abrous, D. N. (2014). Influence of ontogenetic age on the role of dentate granule neurons. *Brain Structure and Function*, *220*(2), 645-661. <http://doi.org/10.1007/s00429-014-0715-y>
- Tsai, C.-Y., Tsai, C.-Y., Arnold, S. J., & Huang, G.-J. (2015). Ablation of hippocampal neurogenesis in mice impairs the response to stress during the dark cycle. *Nature Communications*, *6*, 8373. <http://doi.org/10.1038/ncomms9373>

- van Dijk, R. M., Lazic, S. E., Slomianka, L., Wolfer, D. P., & Amrein, I. (2015). Large-scale phenotyping links adult hippocampal neurogenesis to the reaction to novelty. *Hippocampus*, n/a-n/a. <http://doi.org/10.1002/hipo.22548>
- van Praag, H., Schinder, A. F., Christie, B. R., Toni, N., Palmer, T. D., & Gage, F. H. (2002). Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, 415(6875), 1030-1034. <http://doi.org/10.1038/4151030a>
- Verret, L., Krezymon, A., Halley, H., Trouche, S., Zerwas, M., Lazouret, M., ... Rampon, C. (2013). Transient enriched housing before amyloidosis onset sustains cognitive improvement in Tg2576 mice. *Neurobiology of Aging*, 34(1), 211-225. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.013>
- Veyrac, A., Sacquet, J., Nguyen, V., Marien, M., Jourdan, F., & Didier, A. (2009). Novelty determines the effects of olfactory enrichment on memory and neurogenesis through noradrenergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(3), 786-795. <http://doi.org/10.1038/npp.2008.191>
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Fowler, J. S., Tomasi, D., & Telang, F. (2011). Addiction: Beyond dopamine reward circuitry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(37), 15037-15042. <http://doi.org/10.1073/pnas.1010654108>
- Wang, N., Gray, M., Lu, X.-H., Cattle, J. P., Holley, S. M., Greiner, E., ... Yang, X. W. (2014). Neuronal Targets of Mutant Huntingtin Genetic Reduction to Ameliorate Huntington's Disease Pathogenesis in Mice. *Nature medicine*, 20(5), 536-541. <http://doi.org/10.1038/nm.3514>
- Wiesel, T. N. (1982). Postnatal development of the visual cortex and the influence of environment. *Nature*, 299(5884), 583-591.

Zhong, Q., Ren, B.-X., & Tang, F.-R. (2016). Neurogenesis in the Hippocampus of Patients with Temporal Lobe Epilepsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 16(2), 20. <http://doi.org/10.1007/s11910-015-0616-3>

Annexes

Annexe 1 : Représentation schématique de la neurogénèse dans les cerveau du rongeur et de l'humain

Annexe 2 : Épileptogénèse

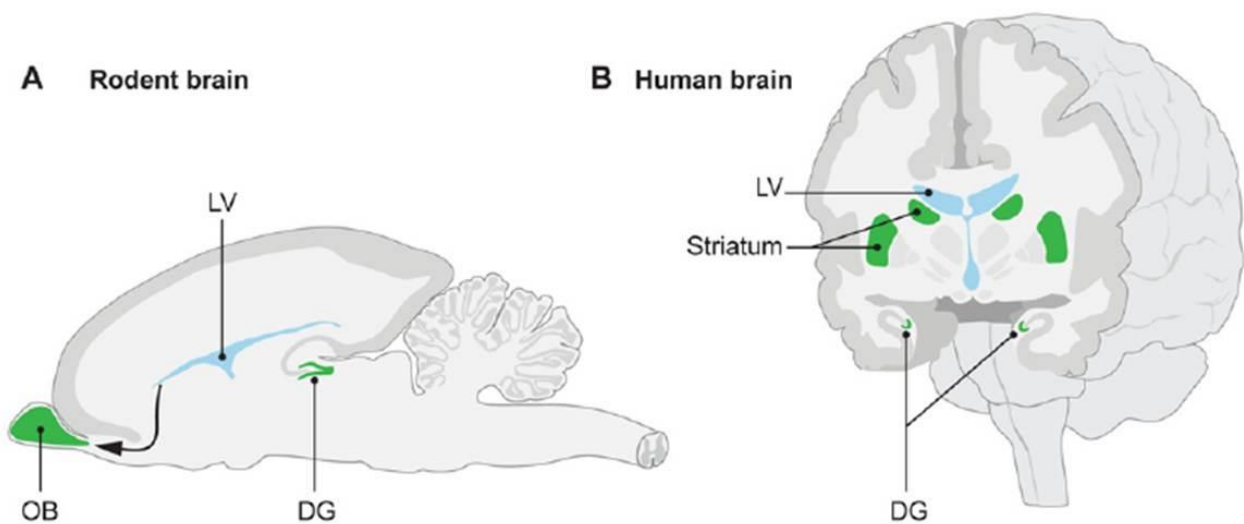
Annexe 3 : Cage d'environnement enrichi MalrauTM

Annexe 4 : Longueurs d'onde d'excitation et d'émissions des fluorochromes

Annexe 5 : Résultats électrophysiologiques complémentaires

Annexe 6 : Évolution d'un engramme au fil du temps

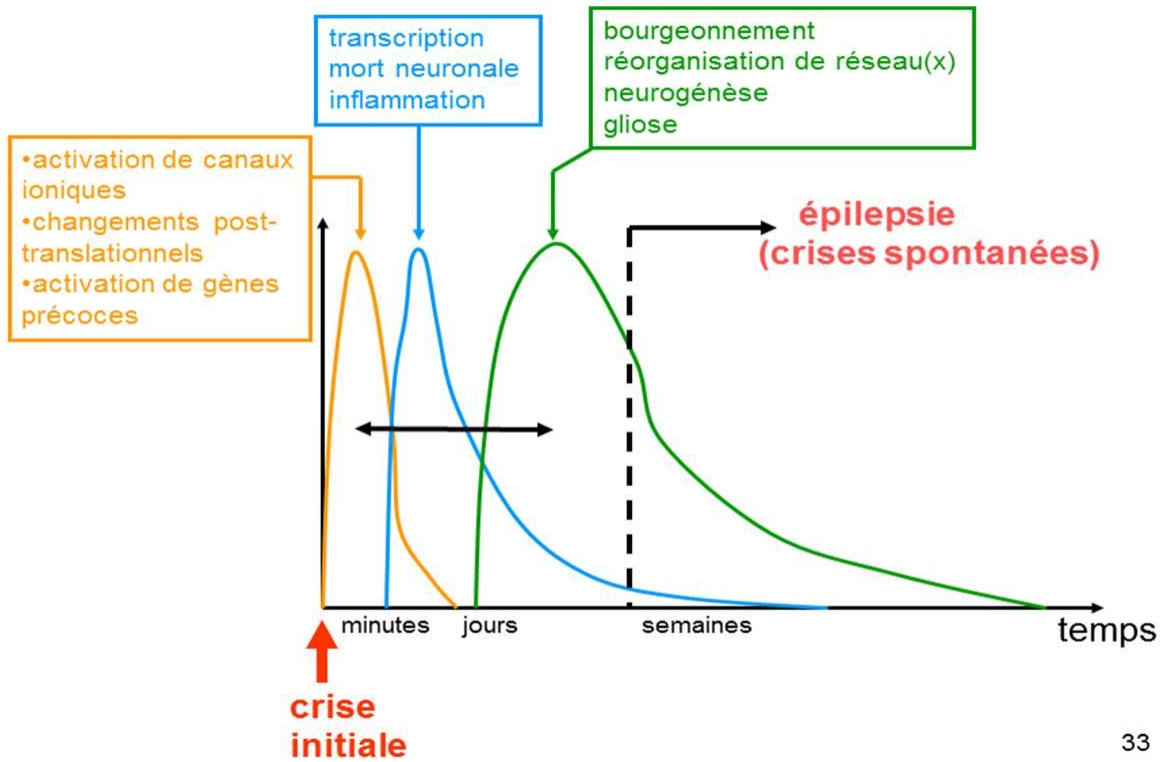
Annexe 1 : Représentation schématique de la neurogénèse dans les cerveau du rongeur et de l'humain



DG : Dentate Gyrus
LV : Lateral Ventricule
OB : Olfactory Bulb

(Ernst & Frisé, 2015)

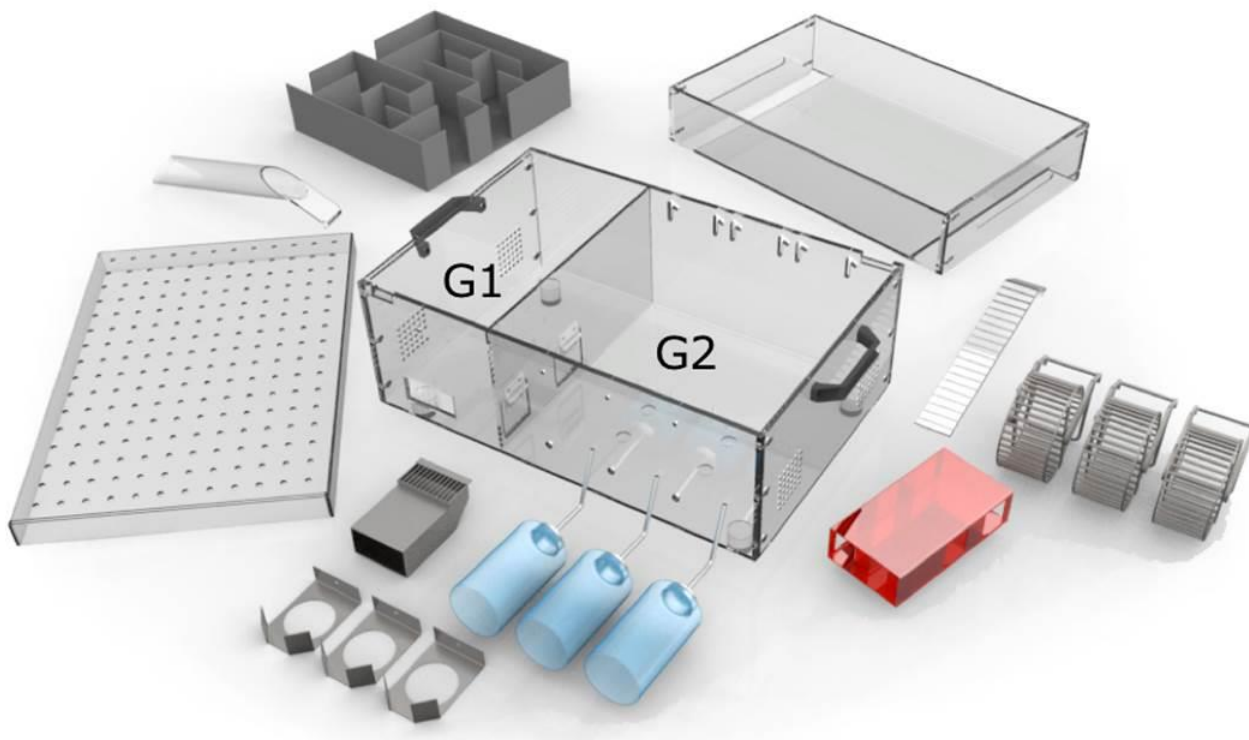
Annexe 2 : Épileptogénèse



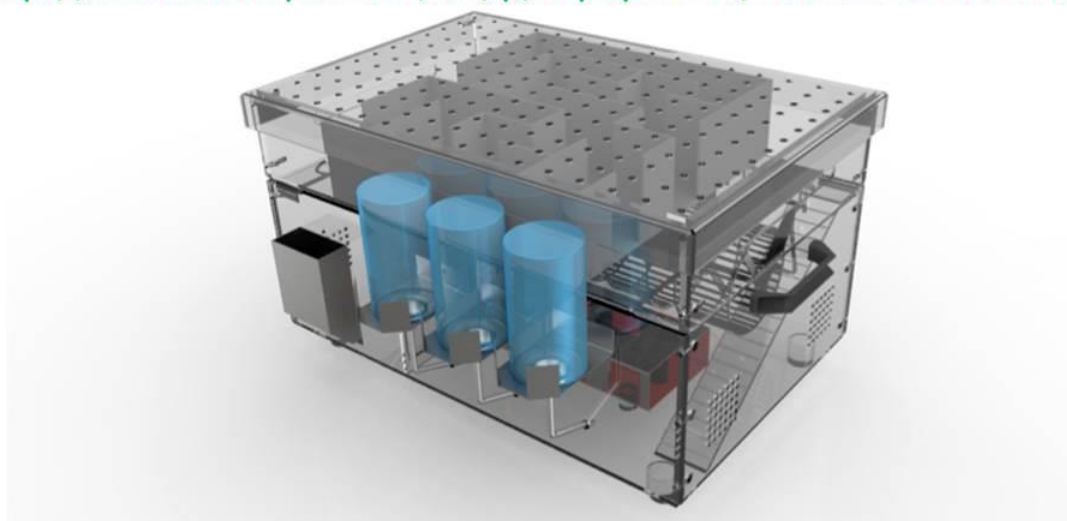
33

(Rakhade & Jansen, 2009)

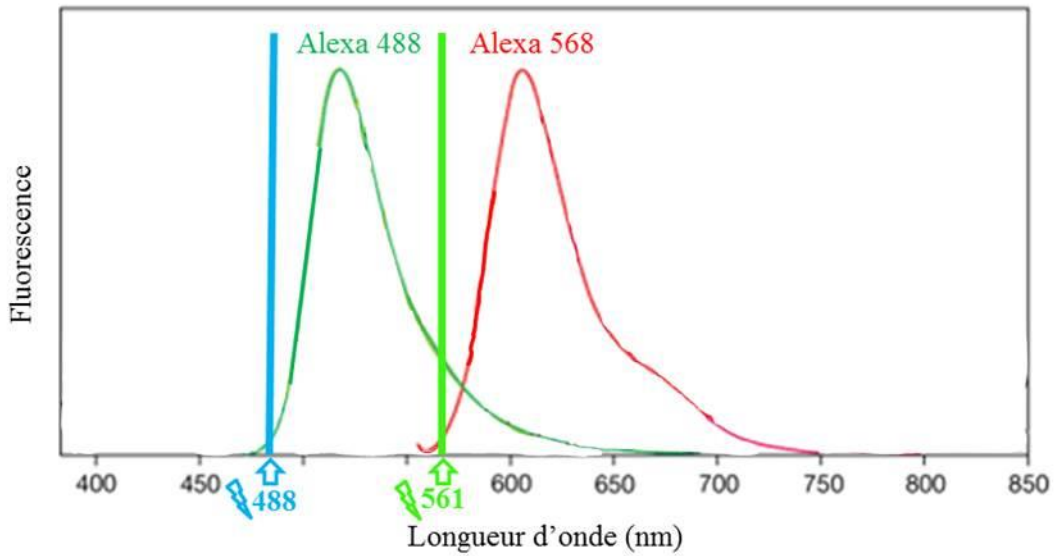
Annexe 3 : Cage d'environnement enrichi Malrau™



<http://www.viewpoint.fr/en/p/equipment/marlau-enrichment-cage>

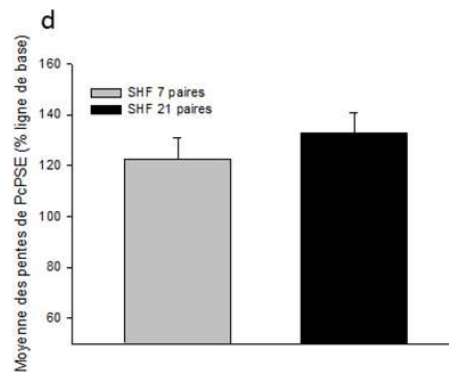
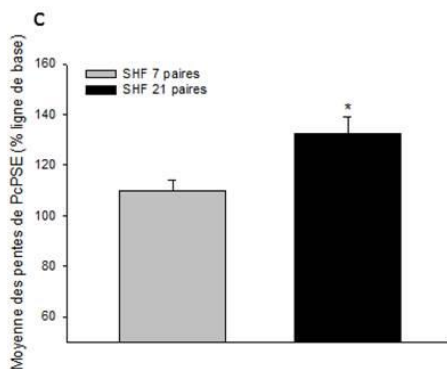
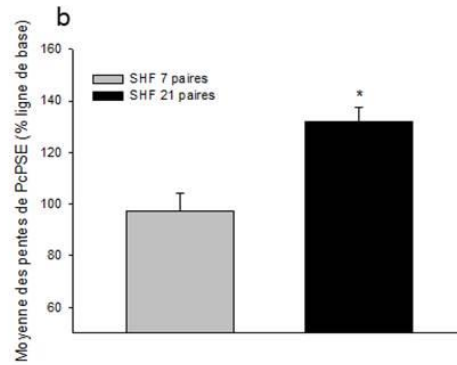
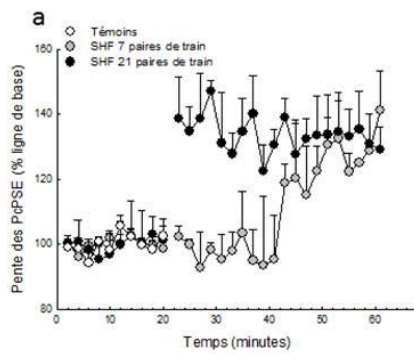


Annexe 4 : Longueurs d'onde d'excitation et d'émissions des fluorochromes

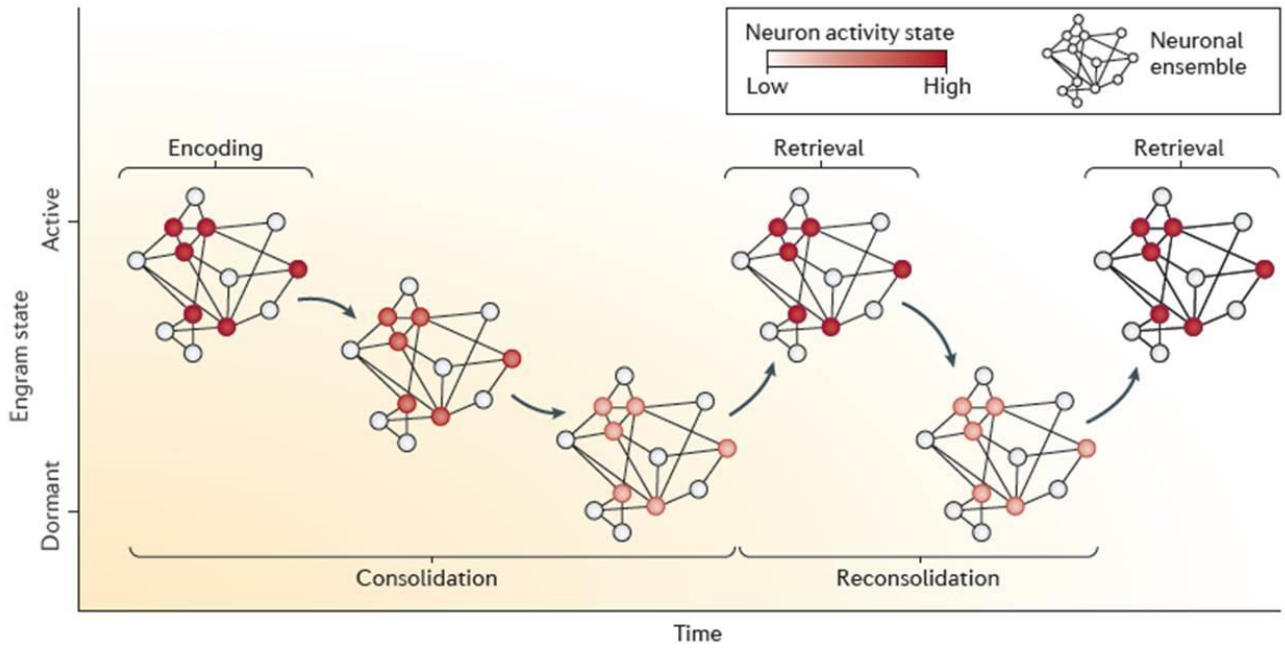


Annexe 5 : Résultats électrophysiologiques complémentaires. Valeur de PcPSE au fil du temps exprimée en pourcentage de LB

(a) Moyenne globale des valeurs de PcPSE post SHF (b) Moyenne des PcPSE sur l'intervalle de temps 23-43 min (c) Moyenne des PcPSE sur l'intervalle de temps 43-63min



Annexe 6 : Évolution d'un engramme au fil du temps



(Josselyn, Köhler, & Frankland, 2015)

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.