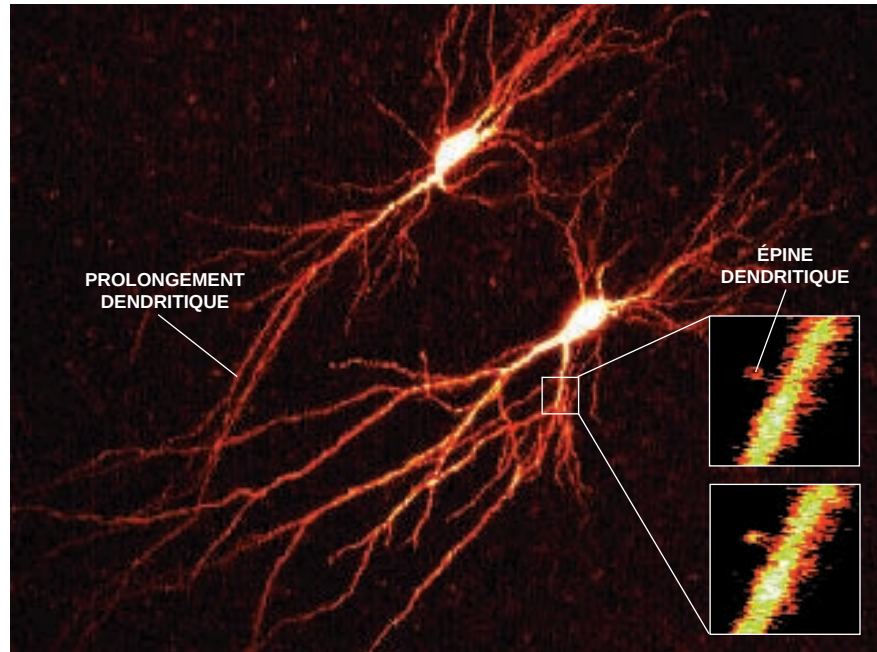


électriques nommées potentiels d'action. Cette réponse neuronale, sélective du stimulus signifiant, se construit en quelques essais, parallèlement à l'apprentissage. Plusieurs mois après, les neurones restent capables de réagir au même son : les neurones de l'hippocampe conservent une mémoire à long terme de l'association apprise. Le codage des composantes implicites et émotionnelles de telles associations est réalisé par des circuits du cervelet et par des circuits liant le thalamus et les noyaux amygdaliens.

La mémoire spatiale, très étudiée chez l'animal, est un autre exemple de mémoire explicite. Lorsqu'il se déplace, l'animal construit une carte cognitive de son environnement qui lui permet de se représenter simultanément les relations spatiales entre différents points remarquables. Cette carte, construite grâce à l'intégration des informations sensorielles acquises successivement au cours des déplacements, fournit un cadre de référence où les objets, le sujet lui-même et tout emplacement, occupé ou non, sont localisés.

En 1971, John O'Keefe et ses collègues de l'Université de Londres ont découvert, dans l'hippocampe, des neurones qui sont spécifiquement activés lorsqu'un animal passe par une position particulière de l'environnement. Ces neurones, nommés les neurones de lieu, sont très nombreux dans l'hippocampe. Certains ont de petits champs spatiaux et codent des emplacements extrêmement précis, d'autres sont activés sur des zones plus larges de l'environnement, qui se recouvrent partiellement. De nombreuses recherches ont montré que les décharges des neurones de lieu ne dépendent pas d'un indice particulier de l'environnement, mais d'une combinaison spatiale ordonnée d'informations extérieures, telles les caractéristiques de la pièce de l'expérience et des objets qui s'y trouvent.

L'ensemble des neurones qui déchargent dans les différents lieux d'un même environnement formerait un réseau unique représentant cette structure spatiale, et la propagation de l'activité dans ce réseau (par l'intermédiaire des multiples connexions entre neurones) ferait «défiler» la représentation de l'espace au cours des déplacements. Qui plus est, après apprentissage, les décharges sélectives des neurones de lieu persistent en l'ab-



3. L'ACTIVATION DE DEUX NEURONES a été visualisée après injection d'un marqueur fluorescent des ions calcium. L'image d'une portion de dendrite avant activation synaptique (le cartouche en haut à droite) et pendant l'activation (le cartouche en bas à droite) montre l'élévation transitoire de la concentration en ions calcium (en jaune) dans une épine dendritique et dans un prolongement. Les ions calcium activent la synthèse de diverses protéines utilisées pour le renforcement des synapses (la photographie, dont le grossissement est égal à 2 000, est de Nigel Emptage, Alan Fine et Timothy Bliss, de l'Institut britannique de la recherche médicale, à Londres).

sence d'indices (par exemple, dans l'obscurité), à condition que l'animal ait vu ces indices au moment de son entrée dans la chambre d'expérience, c'est-à-dire qu'il connaisse son orientation initiale.

Ainsi, la représentation neuronale peut être activée par ce que l'animal sait et a mémorisé de l'espace. De plus, il utilise cette représentation mnésique pour guider ses déplacements. Si chaque représentation spatiale utilise un grand nombre de neurones, un même neurone de l'hippocampe participe à plusieurs représentations spatiales dans des environnements différents, et à d'autres types de représentations, non spatiales.

Plasticité synaptique et formation des souvenirs

Ces exemples illustrent comment les neurobiologistes traquent les représentations mnésiques dans le cerveau et étudient leurs propriétés. Pourtant, il ne s'agit là que d'un état transitoire de mémoire : cette activité électrique évanescence ne constitue pas une trace stable à long terme, compatible avec la quasi-permanence des souvenirs. Les activités neuronales spécifiques de

chaque souvenir ne restent pas en permanence sous cet état : nous n'avons pas l'ensemble de nos souvenirs présents à l'esprit en même temps. En fait, les motifs d'activation neuronale forment la mémoire active, présente seulement au moment de la construction du souvenir, lorsque les événements déclencheurs se produisent, ou lors de son rappel et de son utilisation ultérieure. Que se passe-t-il entre les deux ? Comment un souvenir se maintient-il pendant des années, alors que l'activité neuronale qui représente ce souvenir a «disparu» ?

On a découvert que les expériences sensorielles laissent des traces dans le cerveau en modifiant l'efficacité des synapses entre neurones et la structure des réseaux neuronaux. Selon leur degré d'activation pendant l'expérience sensorielle, certaines synapses sont renforcées, d'autres affaiblies ou de nouveaux contacts synaptiques apparaissent : la configuration de ces changements synaptiques représente le souvenir de l'expérience.

Comme le psychologue canadien Donald Hebb l'avait supposé dès 1949, des modifications cellulaires gravent, puis stabilisent les réseaux, supports

de la trace mnésique. Ces mécanismes assurent un maintien stable de la trace en mémoire et permettent la restauration de l'activité neuronale spécifique lors du rappel du souvenir. Ainsi, lorsqu'un animal est à nouveau confronté à un environnement connu, les mêmes cellules de lieu sont activées aux mêmes emplacements que lors des visites précédentes.

Depuis quelques années, les preuves que la formation de traces mnésiques s'accompagne de remaniements synaptiques se sont accumulées. Tout commence en 1973, lorsque Timothy Bliss, à Londres, et Terje Lømo, à Oslo, découvrent que certaines synapses de l'hippocampe ont une remarquable plasticité, connue sous le nom de potentialisation à long terme. Chez l'animal adulte, une brève stimulation électrique à haute fréquence d'une voie nerveuse qui aboutit dans l'hippocampe provoque une augmentation durable de l'efficacité de la transmission synaptique, de telle sorte que les neurones cibles réagissent davantage à toute activation ultérieure des mêmes synapses. La potentialisation à long terme est un exemple de la plasticité neuronale : la seule activation d'un circuit pendant quelques dizaines de millisecondes (par des stimulations qui imitent les décharges spontanées des neurones) modifie les synapses de ce circuit pendant plusieurs semaines, voire des mois ou plus. Ainsi, les neurones conservent une trace de leur activation antérieure : le circuit est modifié. Un tel mécanisme sert de filtre pour rejeter les messages trop faibles et favorise les associations entre messages d'origines différentes dans le cerveau, mais qui convergent vers les mêmes neurones et les activent de façon synchrone. Un lien préférentiel – ou chemin spécifique – se crée durablement entre les neurones activés et leurs cibles.

Avec Valérie Doyère, nous avons mis en évidence une augmentation de l'efficacité de la transmission synaptique dans les circuits de l'hippocampe lors d'ap-

prentissages associatifs. Quand on bloque cette plasticité synaptique, les neurones de l'hippocampe ne modifient plus leur activité pour coder l'information mise en mémoire. De telles modifications synaptiques ont aussi été observées dans d'autres structures du cerveau (le cortex ou les noyaux amygdaliens), selon le type d'information à mémoriser.

D'après des études que nous avons réalisées, des phénomènes de dépression à long terme, réciproques de la potentialisation à long terme, se produisent également. Tout se passe comme si la potentialisation de certaines synapses pendant l'apprentissage s'accompagnait de l'affaiblissement d'autres synapses. Un tel système de modification des synapses augmente notablement les configurations possibles, donc les capacités de stockage des réseaux neuronaux.

En outre, l'amplitude des modifications synaptiques, pendant l'apprentissage, est liée à la force du souvenir. Avec le temps, si les modifications synaptiques disparaissent, on observe un oubli de l'information mémorisée. L'évolution de ces modifications, dans un réseau neuronal spécifique, reflète la force et l'accessibilité d'un souvenir.

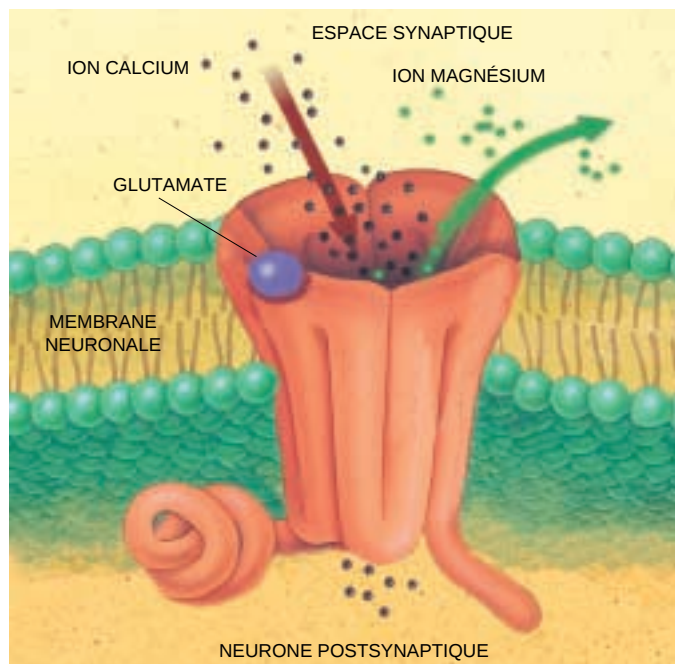
Mécanismes d'induction de la plasticité synaptique

On connaît, aujourd'hui, le mécanisme moléculaire qui déclenche ces modifications durables des synapses. La synapse a deux composantes : la terminaison du neurone présynaptique (le bouton terminal) et la membrane réceptrice du neurone cible postsynaptique. Quand un neurone est activé, le signal électrique transmis le long de l'axone atteint le bouton terminal, et une substance chimique contenue dans les vésicules synaptiques – un neurotransmetteur – est libérée dans l'espace synaptique. La plupart des synapses modifiables utilisent le glutamate comme neurotransmetteur. Une fois libéré dans la fente synaptique, le neurotransmetteur se fixe sur des récepteurs situés à la surface des épines dendritiques des neurones postsynaptiques ; le signal chimique est transformé en signal électrique, que transmet le neurone postsynaptique.

Plusieurs types de récepteurs du glutamate interviennent dans la transmission et la plasticité synaptique. Les récepteurs AMPA assurent la transmission synaptique rapide normale, permettant à l'influx nerveux de se propager de neurone en neurone.

Un autre type de récepteurs, le récepteur NMDA (voir la figure 4), commande spécifiquement la plasticité sur la majorité des voies qui fonctionnent avec le glutamate. Un bloquant spécifique des récepteurs NMDA ne modifie pas la transmission synaptique, mais empêche le déclenchement de la potentialisation à long terme. Dans les conditions normales, le récepteur NMDA est inactif ; il entre en jeu lorsque l'activité des neurones présynaptiques est élevée (libération importante de glutamate) et que les neurones postsynaptiques sont fortement dépolarisés (leur seuil critique d'activation est dépassé). Quand les récepteurs NMDA sont activés, le réseau neuronal est modifié.

Dans ce cas, le canal ionique associé au récep-



4. LE RÉCEPTEUR NMDA du glutamate (en orange) est associé à un canal ionique. Quand le glutamate (en violet) s'y fixe, le canal, initialement bloqué par les ions magnésium, s'ouvre : les ions magnésium sont rejetés dans l'espace intercellulaire, tandis que les ions calcium pénètrent dans le neurone postsynaptique. L'entrée massive des ions calcium déclenche des réactions moléculaires qui aboutissent au renforcement des connexions entre les neurones pré- et postsynaptiques.

teur s'ouvre, et les ions calcium entrent massivement dans le neurone postsynaptique. Les ions calcium déclenchent la plasticité synaptique. Leur entrée massive amorce une cascade de réactions moléculaires qui aboutit à une modification durable de la synapse.

Le rôle des ions calcium

Les récepteurs métabotropiques, qui forment une autre classe de récepteurs du glutamate, n'ont pas de canal ionique, mais sont couplés à des protéines, nommées protéines G ; ils semblent amplifier le phénomène en mobilisant les ions calcium des réserves intracellulaires.

Cette cascade de réactions déclenchées par l'élévation transitoire de la concentration en ions calcium commence par l'activation d'un ensemble de protéines, notamment des kinases, qui participent à la transduction des signaux dans les cellules. Ces kinases assurent la phosphorylation d'autres protéines, c'est-à-dire qu'elles y fixent un groupe phosphate. Plusieurs cascades de phosphorylation ont été identifiées. En utilisant des inhibiteurs de ces kinases ou des animaux génétiquement modifiés qui ne synthétisent pas ces protéines, on a montré que la plasticité synaptique est peu stable et décroît en quelques heures. Ainsi, les cascades de phosphorylation jouent un rôle essentiel dans les premières étapes de la mise en place des modifications synaptiques durables. La phosphorylation des récepteurs AMPA et NMDA, qui augmente leur sensibilité, est une des étapes ultimes de ce mécanisme.

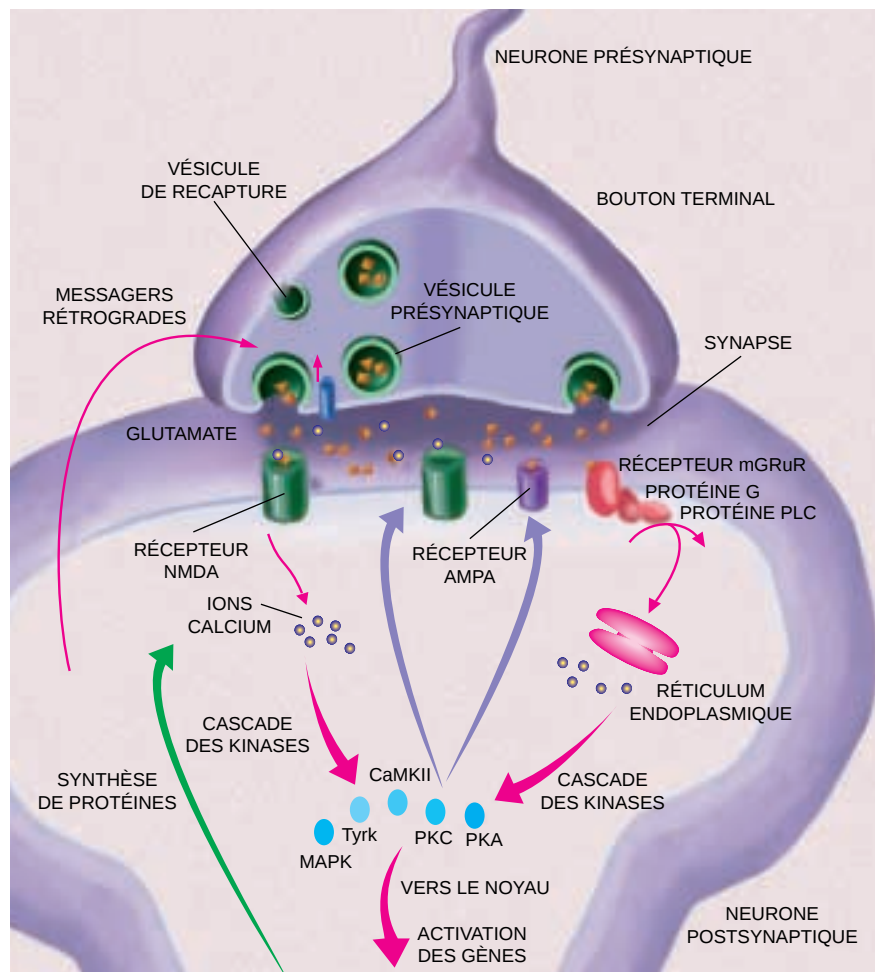
Enfin, le bouton terminal présynaptique subit aussi des modifications, la plasticité synaptique reposant en partie sur une augmentation durable de la capacité des synapses à libérer du glutamate : l'activation de certaines kinases semble moduler l'activité des complexes protéiques qui participent à la mobilisation, à l'amarrage et à la fusion des vésicules synaptiques, ce qui augmente la libération des neurotransmetteurs. Ces modifications présynaptiques seraient déclenchées par des messagers libérés par le neurone postsynaptique et qui agiraient comme des signaux rétrogrades sur la libération du glutamate par le bouton présynaptique correspondant.

Or, ces mécanismes de plasticité cérébrale sont essentiels à la formation

des traces mnésiques. Avec le groupe de T. Bliss, nous avons montré que l'apprentissage d'une association entre deux stimulus s'accompagne d'une augmentation de la capacité des synapses du gyrus denté et de l'hippocampe à libérer du glutamate. De plus, les mécanismes mis en jeu reposent sur les mêmes messagers que lors de la potentialisation à long terme et ils sont bloqués par les antagonistes des récepteurs NMDA.

Depuis, des modifications similaires ont été observées dans l'hippocampe après un apprentissage spatial, et d'autres changements tels que l'activation des kinases ou l'augmentation

de la sensibilité des récepteurs du glutamate ont été identifiés au niveau postsynaptique. En outre, la modification expérimentale de ces mécanismes perturbe notablement la mémoire : Sabrina Davis et Richard Morris, de l'Université d'Édimbourg, ont montré que le blocage des récepteurs NMDA rend les animaux incapables d'apprendre une tâche de localisation spatiale. À mesure que les doses d'antagonistes augmentent, la plasticité synaptique diminue et les déficits mnésiques se renforcent. De même, des déficits mnésiques notables sont observés chez des souris mutantes dont des gènes codant des kinases ou des récepteurs indis-



5. LA CASCADE DES RÉACTIONS déclenchées lors de la mémorisation commence par la libération de glutamate dans la fente synaptique qui sépare le neurone présynaptique, qui a reçu le stimulus déclenchant (visuel, par exemple), du neurone postsynaptique. Le glutamate, en se fixant à son récepteur AMPA, assure la transmission rapide de l'influx nerveux. Quand le récepteur NMDA est activé, des ions calcium entrent dans le neurone postsynaptique. Les récepteurs métabotropiques augmentent l'afflux d'ions calcium en favorisant leur libération des réserves intracellulaires (le réticulum endoplasmique). Les ions calcium activent toute une série de protéines nommées kinases, lesquelles phosphorylent d'autres protéines (elles leur ajoutent un groupe phosphate) ; parmi elles, les récepteurs AMPA et NMDA, dont la sensibilité augmente. Les cascades de kinases déclenchent aussi, dans le noyau du neurone postsynaptique, l'expression de divers gènes codant des protéines essentielles à la modification de la synapse et à la construction de nouvelles synapses.

pensables au déclenchement et au maintien de la plasticité synaptique sont inactivés. Ainsi, les étapes clefs des mécanismes de plasticité synaptique sont activées dans le cerveau lors de la mémorisation.

Les mécanismes moléculaires de la mémoire

Si la mémorisation repose sur des modifications synaptiques, celles-ci doivent être stabilisées et consolidées, sinon la force synaptique décroît rapidement, et le souvenir s'estompe. Ces mécanismes de consolidation nécessitent la synthèse de protéines. Dans les années 1960, des expériences avaient montré que des inhibiteurs de la synthèse protéique, délivrés pendant l'apprentissage, ne perturbent pas l'acquisition ou la rétention à court terme, mais produisent des déficits sélectifs de la mémoire à long terme. On sait que la potentialisation à long terme déclenchée par une stimulation électrique repose, dans une première phase, sur l'activation de kinases, mais, en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique, cette potentialisation à long terme décroît rapidement et ne peut se stabiliser au-delà de quelques heures. Des modifications stables nécessitent donc l'activation de gènes et la synthèse de protéines.

Le déclenchement de la potentialisation à long terme, après l'activation du récepteur NMDA et de différentes voies de signalisation cellulaire, s'accompagne de l'expression de gènes précoces (c'est-à-dire activés très rapidement), tels *c-fos*, *zif268*, *CREB* ou des gènes de la famille *jun*. Il existe probablement plusieurs centaines de gènes précoces ; on les estime à plus de 500 dans le cerveau humain, plus de la moitié étant spécifiques du système nerveux central. Ils commandent la synthèse de facteurs de transcription nucléaire, d'enzymes cytoplasmiques, de composants structuraux ou de certains facteurs de croissance.

A. Silva et E. Kandel ont montré l'importance de la protéine CREB dans la plasticité neuronale et dans la mémoire à long terme. L'inactivation de cette protéine, chez des souris

mutantes, perturbe non pas le déclenchement de la potentialisation à long terme, mais son maintien. Lors des tâches d'association de stimulus, de reconnaissance olfactive des congénères ou de mémorisation de l'espace, les animaux mutants retiennent bien l'information pendant les quelques heures qui suivent l'apprentissage, mais ils présentent de graves déficits de la mémorisation à long terme.

Les facteurs de transcription agissent comme des «commutateurs moléculaires». Ils modulent l'expression d'autres gènes tardifs qui commandent la synthèse de protéines dites effectrices et qui assurent la stabilisation des changements synaptiques et la formation de nouveaux contacts entre neurones : protéines de structure pour la construction des nouvelles synapses, récepteurs membranaires, protéines du maintien de l'intégrité cellulaire, nouvelles kinases, etc.

Quel est l'aboutissement des cascades de régulations transcriptionnelles ? Avec S. Davis, et les groupes de T. Bliss, de Jacques Mallet, à Paris, et de Stephen Hunt, à Cambridge, nous avons découvert que le déclenchement de la potentialisation à long terme dans l'hippocampe s'accompagne de vagues successives d'expression de gènes spécifiques, vagues qui s'étalent sur plusieurs jours et se chevauchent partiellement.

Après l'activation rapide et transitoire de différents facteurs de transcription, l'expression de gènes qui codent des kinases, des protéines d'exocytose, qui participent à la libération du

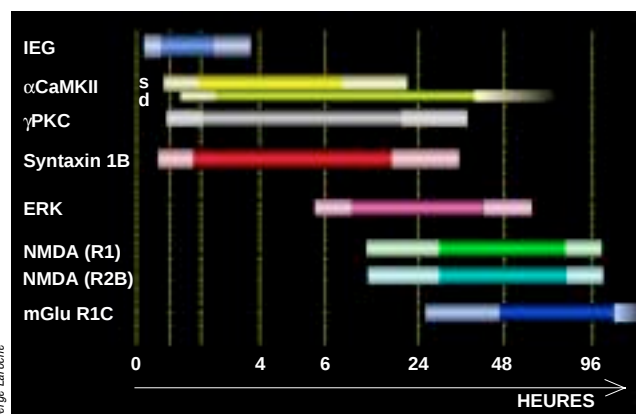
neuromédiateur, des facteurs de croissance neuronale et, après plusieurs jours, des récepteurs du glutamate augmente. Comment ces protéines trouvent-elles les bonnes adresses, c'est-à-dire les synapses activées, parmi les milliers qui jalonnent les arborisations dendritiques des neurones ? Uwe Frey et Richard Morris ont récemment montré que l'activation initiale qui potentialise l'efficacité d'une synapse laisse une marque, une sorte d'étiquette qui permet aux vagues ultérieures de protéines de trouver leur chemin et de consolider spécifiquement les synapses étiquetées.

Les nouvelles protéines transportées vers les synapses nouvellement activées transformeraient le changement temporaire en un changement permanent, mais on ignore encore quelle est l'étape finale de remodelage des réseaux neuronaux qui assure une mémoire stable.

Les études morphologiques, en microscopie électronique, ont révélé la trace de profonds remaniements des réseaux neuronaux après induction de la plasticité synaptique : changements de forme et de taille des synapses, augmentation des surfaces d'apposition entre les éléments pré- et postsynaptiques, transformation de synapses silencieuses en synapses actives et croissance de nouvelles synapses. Le remaniement de la structure des réseaux neuronaux serait un mécanisme fondamental des processus de mémorisation.

Aujourd'hui, on comprend mieux les mécanismes moléculaires locaux de formation des traces mnésiques en un point donné des circuits cérébraux. Mais comment un réseau réparti sur plusieurs

relais synaptiques, voire entre plusieurs structures, peut-il s'établir ? En étudiant la régulation génique dans la plasticité synaptique avec S. Davis et avec le groupe de J. Mallet, nous avons identifié un commutateur moléculaire qui pourrait jouer un rôle essentiel dans la propagation de la plasticité au sein des réseaux interconnectés. Il s'agit notamment de la syntaxine, une protéine qui intervient dans l'amarrage et dans la fusion des vésicules synaptiques à la membrane neuronale et dans la libération du neuromédiateur, au cours de l'étape finale de l'exocytose.

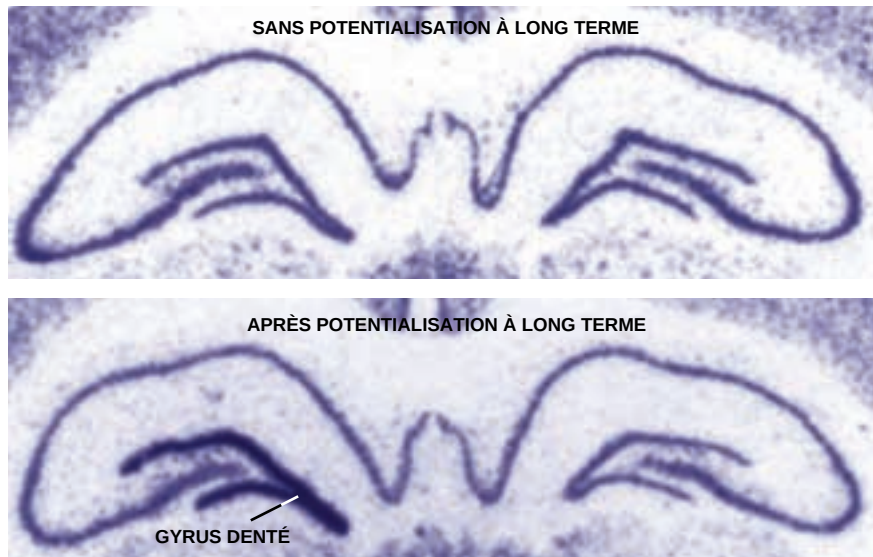


6. PLUSIEURS GÈNES sont activés après induction de la potentialisation à long terme dans le gyrus denté de l'hippocampe. Il s'agit de gènes immédiats (IEG), codant par exemple des facteurs de transcription, des gènes codant des kinases (CaMKII, PKC, ERK), les sous-unités R1 et R2B des récepteurs NMDA et une sous-unité (mGluR1C) des récepteurs métabotropiques du glutamate.

Quand on déclenche la potentialisation à long terme dans le gyrus denté, l'expression du gène de la syntaxine augmente pendant plusieurs heures dans les neurones postsynaptiques (voir la figure 7). Ensuite, la protéine est synthétisée et transportée vers les boutons terminaux des axones de ces neurones dans une autre région de l'hippocampe, l'aire CA₃. Là, elle déclenche une augmentation de la libération de glutamate, un indice du déclenchement d'une plasticité transsynaptique. Ainsi, les mécanismes de plasticité, à l'entrée des circuits de l'hippocampe, produisent, grâce à un mécanisme moléculaire de régulation génique, des modifications plus loin dans le réseau, changements qui se propagent de relais en relais.

Récemment, nous avons montré que l'apprentissage lui-même entraîne une régulation de l'expression du gène codant la syntaxine. Dans une tâche de mémoire spatiale, l'expression de ce gène augmente dans les différents relais des circuits de l'hippocampe, au moment où les animaux commencent à maîtriser la tâche ; les performances mnésiques augmentent avec l'amplitude de cette régulation génique. Dans d'autres tâches qui nécessitent une mémoire de référence spatiale, ce marqueur de la plasticité transsynaptique est exprimé dans des circuits plus larges comportant l'hippocampe et des aires corticales préfrontales. Ce mécanisme moléculaire pourrait participer à la construction d'un réseau neuronal interconnecté codant la trace mnésique.

On a longtemps pensé que les mécanismes fondamentaux des fonctions mentales supérieures, la mémoire par exemple, échapperaient à toute analyse biologique. Aujourd'hui, on commence à mieux comprendre comment les différentes formes de mémoire s'organisent et quels sont les circuits et les structures du cerveau qui y participent. L'analyse des mécanismes de la communication intra- et intercellulaire et de la plasticité neuronale qui interviennent dans la formation et dans la conservation des traces mnésiques a notablement progressé. Cette extraordinaire plasticité des cellules nerveuses qui assure le remodelage des circuits cérébraux est une composante essentielle de la formation et du stoc-



7. DES COUPES DE CERVEAU DE RAT révèlent qu'après déclenchement de la potentialisation à long terme l'expression du gène de la syntaxine a été stimulée de façon spécifique dans le gyrus denté, une structure de l'hippocampe qui participe à la mémorisation. En haut, le rat témoin : l'expression du gène de la syntaxine est identique du côté gauche et du côté droit du gyrus denté. En bas, l'expression est supérieure du côté où la potentialisation a été déclenchée. L'expression de la syntaxine est augmentée dans l'ensemble des réseaux de l'hippocampe, lors de la mémorisation.

Serge Laroché

kage des souvenirs. On découvre des mécanismes de régulation fine de la machinerie génétique et les protéines spécifiques couplées aux récepteurs de surface des neurones qui interviennent dans des cascades susceptibles de modifier la physiologie des réseaux neuronaux. En fonction de leur place dans une cascade et de leur degré d'activation, ces protéines peuvent interrompre ou stimuler la propagation d'un signal et déclencher un remodelage coordonné des synapses et des circuits neuronaux.

De temps en temps, nous avons la mémoire qui flanche. Au cours du vieillissement, la plasticité des synapses diminue, les changements sont plus éphémères. Dans les stades précoces

de la maladie d'Alzheimer, les circuits de l'hippocampe nécessaires à la mémorisation dégénèrent et certaines mutations, identifiées dans des formes familiales de la maladie, aboutissent, quand on les reproduit chez l'animal, à des perturbations de la plasticité des synapses. Quand on connaîtra mieux ces mécanismes, les circuits cérébraux où ils s'expriment et les rôles spécifiques de ces circuits dans les différentes formes de mémoire, on disposera de clés pour percer les causes des dysfonctionnements du cerveau. On pourra alors mettre au point des outils performants d'investigation et de traitement des troubles cognitifs liés au vieillissement et aux maladies neurodégénératives.

Serge LAROCHE dirige le Laboratoire de neurobiologie de l'apprentissage et de la mémoire, unité CNRS URA 1491, à l'Université Paris Sud, à Orsay.

T. BLISS et G. COLLINGRIDGE, *A Synaptic Model of Memory : Long-term Potentiation in the Hippocampus*, in *Nature*, vol. 361, pp. 31-39, 1993.

S. LAROCHE et B. DEWEER, *La mémoire chez l'homme et chez l'animal*, in *Traité de psychologie expérimentale*, sous la direction de M. Richelle, J. Requin et M. Robert, pp. 473-521, Presses universitaires de France, 1994.

S. LAROCHE et al., *Neural Mechanisms of Associative Memory*, in *Brain and Memory*, sous la direction de J. McGaugh, N. Weinberger et G. Lynch, pp. 277-302, Oxford University Press, 1995.

S. DAVIS et al., *Brain Structure and Task-specific Increase in Expression of the Gene Encoding Syntaxin 1B during Learning in the Rat*, in *European Journal of Neuroscience*, vol. 8, pp. 2068-2074, 1996.

S. DAVIS et S. LAROCHE, *A Molecular Biological Approach to Synaptic Plasticity and Learning*, in *Comptes Rendus de l'Académie des sciences*, vol. 321, pp. 97-107, 1998.

