

Université de Montréal

**Dérégulation de la synthèse protéique et dysfonction
synaptique dans un modèle de souris d'autisme**

Par Mona Ouirzane

Département de Neurosciences, Université de Montréal
Faculté de Médecine

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Neurosciences

Août 2018

© Mona Ouirzane, 2018

Résumé

Les troubles du spectre autistique (TSA) sont des maladies neuro-développementales définies par des déficits cognitifs, un manque de compétences sociales et des comportements stéréotypés. La sclérose tubéreuse de Bourneville (TSC) est une des causes monogéniques les plus importantes d'autisme et d'épilepsie chez les humains. Le gène encodant le complexe 1 de la sclérose tubéreuse (*Tsc1*) est un des deux gènes les plus fortement associés à ces maladies. Chez des souris transgéniques qui n'expriment pas le gène *Tsc1*, on observe une hyperactivation de la protéine mTOR qui régule entre autres le cycle cellulaire et la synthèse protéique. De plus, on suppose que les TSA seraient issus d'un déséquilibre dans l'équilibre excitation/inhibition (E/I) dans certaines zones du cerveau (Rubenstein and Merzenich 2003). Cet équilibre est maintenu entre autres par les interneurons inhibiteurs qui contrôlent l'activité des cellules excitatrices. Ainsi, le but du projet est donc de déterminer les mécanismes par lesquels la synthèse de protéines régule les fonctions synaptiques des cellules excitatrices de l'hippocampe, dont l'activité dépend des interneurons inhibiteurs de cette même région. Le système Cre-Lox a été utilisé pour créer le modèle de souris KO hétérozygote du gène *Tsc1* spécifique aux interneurons exprimant *Nkx2.1* (souris *Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}*). Les changements dans l'hippocampe ont été examinés au niveau moléculaire (données non présentées), comportemental et électrophysiologique, notamment par des enregistrements de potentiels de champs dans des tranches aiguës d'hippocampe. Les souris mutantes *Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}* ont démontrés un déficit dans la discrimination de contexte à l'épreuve du conditionnement à la peur par le contexte. Les résultats des expériences de stimulations paires «*paired pulse*» et de stimulations progressives «*input output*» reflétant les phénomènes de potentialisation à court

terme et de transmission de base respectivement, sont intacts chez les souris mutantes. La phase tardive de la potentialisation à long terme (PLT-tardive) est aussi préservée chez les souris $Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}$. Or, la phase précoce de la potentialisation à long terme (PLT-précoce) est altérée chez les souris mutantes, lorsqu'induites par le protocole 1XHFS, mais intacte en utilisant le protocole 4XTBS. Ainsi, les phénomènes de plasticité synaptique sont majoritairement intacts chez les souris mutantes $Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}$, cependant la PLT-précoce est altérée lorsqu'induite par le protocole 1XHFS. Par ailleurs, la transmission synaptique de base et la potentialisation à court terme sont inchangées. Une altération de l'expression du gène *Tsc1* dans les interneurones exprimant *Nkx2.1* entraîne donc un déficit dans la discrimination de contextes, tâche dépendante de l'hippocampe. Selon les résultats obtenus, ces déficits ne sont pas expliqués par une altération de la transmission et de la plasticité synaptique ceux-ci étant intacts chez les souris mutantes $Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}$.

Mots-clés : Interneurones, plasticité synaptique, synthèse protéique, mémoire et hippocampe.

Abstract

Autism Spectrum Disorders (ASD) are neurodevelopmental disorders defined by cognitive deficits, lack of social skills, and stereotyped behaviors. Tuberous Sclerosis (TSC) is one of the most important monogenic cause of autism and epilepsy in humans. The complex 1 of tuberous sclerosis (*Tsc1*) gene is one of the two genes most strongly associated with these diseases. In knockout *Tsc1* mice, hyperactivation of the mTOR protein, the main regulator of the cell cycle and protein synthesis, is observed. In addition, it has been hypothesized that ASDs would result from imbalance in the excitation / inhibition ratio in certain areas of the brain (Rubenstein and Merzenich 2003). Thus, the goal of the project is to determine the mechanisms by which protein synthesis regulates synaptic functions in interneurons of the hippocampus. The Cre-Lox system was used to create the heterozygous KO mouse model of the interneuron-specific *Tsc1* gene (*Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}*). Changes in the hippocampus were examined at the molecular (data not shown), behavioral and electrophysiological levels, including field potential recordings in acute hippocampal slices. The *Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}* mutant mice demonstrated a deficit in contextual fear conditioning. Paired pulse and input/output experiments demonstrated intact short-term potentiation as well as late-LTP elicited by a 15XTBS protocol. However, E-LTP was altered in mutant mice using the 1XHFS protocol, but intact using the 4XTBS protocol. The laboratory also demonstrated in *Nkx2.1^{C/+}; Tsc1^{f/+}* mice a decrease in mCPSI of interneurons when induced by optogenetics, resulting in a disruption of inhibitory transmission (data not shown). Overall, an alteration of the expression of the *Tsc1* gene in the PV and SOM interneurons leads to a deficit in context discrimination, a task dependent on the hippocampus. These deficits could be explained by a decrease in inhibitory transmission, making the circuit hyperexcitable and disturbing the E/I equilibrium.

Keywords : Interneurons, synaptic plasticity, protein synthesis, memory and hippocampus.

Table des matières

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| RÉSUMÉ | I |
| ABSTRACT | III |
| LISTE DES FIGURES | VII |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | IX |
| REMERCIEMENTS | XV |
| CHAPITRE 1. L'INTRODUCTION | 1 |
| 1. NEUROBIOLOGIE DE L'APPRENTISSAGE ET DE LA MÉMOIRE | 2 |
| 1.1 <i>Neuroanatomie de l'hippocampe</i> | 3 |
| 1.2 <i>Circuit et cytoarchitecture</i> | 5 |
| 1.3 <i>La mémoire dépendante de l'hippocampe</i> | 8 |
| 2. <i>Plasticité synaptique à long terme de l'hippocampe</i> | 13 |
| 2.1 <i>PLT NMDAR-dépendante</i> | 14 |
| 2.2 <i>DLT dépendante du récepteur NMDA</i> | 16 |
| 2.3 <i>DLT dépendante du récepteur mGluR</i> | 17 |
| 2.4 <i>Les phases précoces et tardives de la PTL</i> | 18 |
| 2.5 <i>PLT, DLT et mémoire dans l'hippocampe</i> | 20 |
| 3. INHIBITION, APPRENTISSAGE ET MÉMOIRE DE L'HIPPOCAMPE | 22 |
| 3.1 <i>Les interneurons: origine, développement et spécification</i> | 22 |
| 3.2 <i>Inhibition et plasticité synaptique</i> | 29 |
| 3.3 <i>Inhibition et mémoire</i> | 32 |
| 4. LA SCLÉROSE TUBÉREUSE ET LES TROUBLES DU SPECTRE DE L'AUTISME | 34 |
| 4.1 <i>Les troubles du spectre de l'autisme (TSA)</i> | 34 |
| 4.2 <i>Dérégulation de la synthèse protéique dans les TSA</i> | 38 |
| 4.3 <i>Déséquilibre de la balance excitation/inhibition dans les TSA</i> | 40 |
| CHAPITRE 2. OBJECTIFS DU MÉMOIRE DE MAÎTRISE | 42 |
| CHAPITRE 3. LES MÉTHODES | 46 |
| 1. ANIMAUX | 47 |
| 2. CONDITIONNEMENT À LA PEUR PAR LE CONTEXTE | 48 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3. ENREGISTREMENTS ÉLECTROPHYSIOLOGIQUES..... | 49 |
| 3.1 Préparation des tranches d'hippocampe <i>in vitro</i> : | 49 |
| 3.2 Enregistrements de potentiels de champs | 50 |
| 3. ANALYSES STATISTIQUES..... | 51 |
| CHAPITRE 3. LES RÉSULTATS..... | 55 |
| 1. LES SOURIS Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} PRÉSENTENT UN DÉFICIT DE DISCRIMINATION DE MÉMOIRE CONTEXTUELLE | 56 |
| 2. LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE EXCITATRICE EST INCHANGÉE CHEZ LES Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 59 |
| 2.1 La transmission synaptique de base est intacte chez les souris Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 59 |
| 2.2 La plasticité synaptique à court terme est intacte chez les souris Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 60 |
| 3. LA PLT EST INCHANGÉE CHEZ LES Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 62 |
| 3.1 La PLT-précoce induite par le protocole 1XSHF est de plus faible magnitude chez les souris Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 62 |
| 3.2 La PLT-précoce induite par le protocole 4XTBS est inchangée chez les souris Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 64 |
| 3.3 La phase-tardive de la PLT est inchangée chez les souris Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 66 |
| CHAPITRE 4. DISCUSSION | 69 |
| 4.1 RAPPEL DES PRINCIPAUX OBJECTIFS ET RÉSULTATS | 70 |
| 4.2. CARACTÉRISATION DU MODÈLE DE SOURIS Nkx2.1 ^{C/+} ;Tsc1 ^{F/+} | 72 |
| 4.3 UNE PLASTICITÉ SYNAPTIQUE INCHANGÉE | 74 |
| 4.3.1 La PLT-précoce | 74 |
| 4.3.2 La PLT-tardive..... | 78 |
| 4.2 UN DYSFONCTIONNEMENT DE L'HIPPOCAMPE | 79 |
| CHAPITRE 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES FUTURES..... | 83 |
| BIBLIOGRAPHIE..... | 85 |

Liste des figures

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1. La formation hippocampique simplifiée illustrant le circuit trisynaptique | 4 |
| Figure 2. Illustration représentant la contribution relative de l'éminence ganglionique médiane (MGE) et l'éminence ganglionique caudale ventrale (vCGE) et dorsale (dCGE) aux sous-groupes d'interneurones corticaux | 25 |
| Figure 3. Schéma simplifié illustrant certains réseaux de connexions entre les interneurones de l'hippocampe et les couches dans lesquelles ils sont localisés | 28 |
| Figure 4. Voies de signalisation neuronales de la traduction..... | 40 |
| Figure 5. Schéma illustrant le protocole de croisement du modèle de souris <i>Tsc1</i> ainsi que la localisation hippocampique des interneurones ciblés dans ce modèle | 51 |
| Figure 6. Schéma présentant le protocole de conditionnement contextuel par la peur..... | 53 |
| Figure 7. Les souris <i>Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}</i> présentent un déficit de discrimination de contexte . | 56 |
| Figure 8. La transmission synaptique de base et la plasticité à court terme sont inchangées chez les souris <i>Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}</i> | 58 |
| Figure 9. La PLT-précoce induite par le protocole 1XSHF est de plus faible magnitude chez les souris <i>Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}</i> | 60 |
| Figure 10. La PLT-précoce induite par le protocole 4XTBS est inchangée chez les souris <i>Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}</i> | 62 |
| Figure 11. La PLT-tardive induite par le protocole 15XTBS est inchangée chez les souris <i>Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}</i> | 64 |

Figure 12. Figure synthèse. Altération des synapses inhibitrices entre les CP et les interneurons SOM et PV dans un modèle de souris d'autisme $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$77

Liste des abréviations

| | |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| AMPA | Acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4 isoxazolépropionique. |
| AP5 | Acide D,L-2-amino-5-phosphonopentanoïque |
| Akt | Protéine kinase B (PKB) |
| CA1 | Cornus ammonis 1 |
| CA2 | Cornus ammonis 2 |
| CA3 | Cornus ammonis 3 |
| CA4 | Cornus ammonis 4 |
| Ca ²⁺ | Calcium |
| CE | Cortex enthorinal |
| CDEA | Conseil de déontologie sur l'expérimentation animale |
| CGE | Éminence ganglionnaire caudale |
| CI-AMPA | Récepteurs AMPA imperméable au calcium |
| CP | Cellules pyramidales |
| CPSE | Courants postsynaptiques excitateurs |
| CPSI | Courants postsynaptiques inhibiteurs |
| CREB | Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) response element binding Protein |
| CS | Collatérales de Schaffer |

| | |
|-----------------|--------------------------------------------------|
| DHPG | Dihydroxyphenylglycine |
| DLT | Dépression à long terme |
| EEG | Électroencéphalogramme |
| eIF4E | Facteur d'initiation eukaryotique 4E |
| E/I | Excitation/inhibition |
| ERK | Kinase extracellulaire régulée par signal |
| fEPSP | Potentiels de champs excitateurs postsynaptiques |
| Fmr1 | Fragile X mental retardation 1 |
| GABA | Acide γ -aminobutyrique |
| GAP | GTPase activating protein |
| GD | Gyrus dentelé |
| GSX2 | GS Homeobox 2 |
| IEG | Immediate early genes |
| IRMf | Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle |
| K ⁺ | Potassium |
| LGE | Éminence médiane latérale |
| mCPSE | Courant postsynaptiques excitateurs miniatures |
| mCPSI | Courant postsynaptiques inhibiteurs miniatures |
| Mg ⁺ | Magnésium |

| | |
|-----------------|-----------------------------------------|
| MGE | Éminence ganglionnaire médiane |
| mGluR | Récepteur au glutamate |
| mLST8 | Target of rapamycin complex subunit |
| mTOR | Mechanistic target of rapamycin |
| Na ⁺ | Sodium |
| NF1 | Neurofibromatose type 1 |
| Nkx2.1 | NK2 Homeobox 1 |
| NMDA | Récepteur N-méthyl-D-aspartate |
| NT | Neurotransmetteur |
| OLM | oriens-lacunosum-moleculare |
| PA | Potentiel d'action |
| PAX6 | Paired Box 6 |
| PIP2 | 4,5-diphosphate phosphatidylinositol |
| PIP3 | 3,4,5-triphosphate phosphatidylinositol |
| PIV | Peptide vasoactif Y intestinal |
| PI3K | Protéine kinase 3-phosphatidylinositol |
| PKA | Protéine kinase A |
| PLT | Potentialisation à long terme |
| PTEN | Phosphatase and tensin homolog |

| | |
|--------|-------------------------------------------------|
| PV | Parvalbumine |
| p70S6K | Ribosomal Protein S6 Kinase |
| Raptor | Regulatory Associated Protein Of MTOR Complex 1 |
| Ras | Proto-oncogene protein p21 |
| RCPG | Récepteur couplé aux protéines G |
| Rheb | Ras Homolog enriched in brain |
| SC | Stimulus conditionné |
| SEM | Standard error of mean |
| SHF | Stimulation à haute fréquence |
| SI | Stimulus inconditionné |
| SOM | Somatostatine |
| SXF | Syndrome de l’X fragile |
| S6K1 | Ribosomal Protein S6 Kinase B1 |
| TBS | Thêta burst stimulation |
| TSA | Trouble du spectre de l’autisme |
| TSC | Tuberous Sclerosis |
| Tsc1 | TSC Complex Subunit 1 |
| Tsc2 | TSC Complex Subunit 2 |
| zif268 | Early Growth Response 1 |

4EBP

Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E Binding Protein

«Limits, life fear, is often just an illusion»

Michael Jordan.

Remerciements

Ce projet de maîtrise a été une longue et périlleuse épreuve dans mon parcours scolaire. Plusieurs personnes ont croisé mon chemin durant ces moments de dur labeur et je tiens à les remercier tout un chacun.

Merci à mon directeur de recherche, Jean-Claude Lacaille, d'avoir permis la réalisation de ce projet de maîtrise.

Ensuite, les membres du laboratoire, Isabel, Julie, Julien, Ilse, Nabila, Paul, Alex, Xiao. Vous avez su me faire sentir comme chez moi. Merci pour les longues journées de discussions philosophiques sur des sujets aussi éclatés les uns que les autres. Merci spécial aux assistantes de recherche, Isabel et Julie, vos concours complètement fous durant le temps des fêtes ont su rendre les journées pluvieuses et hivernales beaucoup plus agréables. La radio de Neige folle m'aura définitivement traumatisé de la musique folklorique québécoise du temps des fêtes! Merci également à Paul qui a été un véritable mentor durant ma première année, maître dans l'art du «trouble shooting» tu as sauvé mes expériences plus d'une fois! Ilse, les choses ne se sont pas terminées comme nous l'avions prévu, mais simplement merci de m'avoir formé à ton image, débrouillarde, assidue, curieuse avec une rigueur scientifique sans faille. Alex, qui aurait cru que nous nous retrouverions dans le même laboratoire au terme de notre baccalauréat en sciences biomédicales! Chaleureux, souriant et comique, tu n'es certes pas le plus matinal des étudiants, mais tu as su me faire rire et me donner ce petit élan d'encouragement dont j'avais besoin. Bonne chance pour la suite des choses!

Merci spécial aux derniers venus dans mon périple, Julia et Ayman. Notre bureau d'écriture aura été un véritable cabinet de consultation pour maux de l'âme! Rires, pleures, joies

et déceptions auront été au menu, mais je me considère plus que privilégiée d'avoir pu vous avoir à mes côtés durant les derniers mois de rédaction. Je vous souhaite également bonne chance dans la poursuite de vos projets!

Merci à mon copain, sans qui je n'aurais jamais pu finir cette maîtrise. Par tes actions et tes propres accomplissements, tu m'inspires à repousser mes limites et à donner le meilleur de moi-même. Tu n'as probablement pas idée à quel point tu as joué un rôle important dans cette maîtrise malgré toi! Je t'aime très fort et j'ai très hâte de partager nos prochaines réussites ensemble.

Maman, papa et Leilla, merci de m'encourager et surtout de m'endurer! Je ne suis pas facile à vivre, mais je vous aime d'un amour inconditionnel. Papa, maman, vous avez su me transmettre les valeurs qui font de moi la personne que je suis aujourd'hui. Vous êtes de vrais exemples de réussite ayant accompli la dure tâche de fonder et maintenir une famille unie. Je ne saurais vous remercier assez pour votre support et votre dévouement. Leilla, discrète, mais à l'écoute, merci pour ton support et ta bonne humeur. Tu es un véritable trésor qui renferme une jeune femme énergique sur qui je peux compter. Je t'aime ma sœur.

À tous un chacun, merci.

Chapitre 1. L'introduction

1. Neurobiologie de l'apprentissage et de la mémoire

La mémoire, ce fil d'évènements et d'expériences de vie qui relie notre passé au présent, est issue de l'apprentissage. Ce dernier est un processus actif engendrant des changements comportementaux nous permettant de nous adapter tout au long de la vie. Les nouvelles connaissances acquises sont encodées et stockées pour être récupérées dans le futur, bagage qui forme notre mémoire (Kandel, Schwartz et al. 2013).

En 1957, Brenda Milner, William Scoville et Wilder Penfield publient le cas du patient H.M. qui introduira l'hippocampe comme une des pièces maîtresses de la mémoire. En tentant de le guérir de sa condition épileptique, on lui retira chirurgicalement les lobes temporaux médians, emportant ainsi l'hippocampe antérieur, le gyrus dentelé, du tissu cortical et l'amygdale. Soulageant son épilepsie, cette chirurgie a toutefois eu pour effet de supprimer toute capacité à former de nouveaux souvenirs (amnésie antérograde) (Scoville and Milner 1957). Bien que les souvenirs de son enfance et sa mémoire de travail aient été préservés, H.M. était incapable d'enregistrer de nouvelles informations apprises à la suite de son opération. Ce célèbre, mais triste cas a permis de découvrir l'importance de l'hippocampe dans la mémorisation et l'apprentissage de nouvelles informations. Aujourd'hui, une impressionnante littérature est disponible sur le rôle de l'hippocampe dans ces processus d'encodage et elle forme une des régions les plus étudiées du cerveau humain (Andersen 2007).

1.1 Neuroanatomie de l'hippocampe

L'hippocampe est une structure en forme de «C» positionnée horizontalement le long du quatrième ventricule au niveau des lobes médiaux temporaux. On en retrouve un par hémisphère et ils communiquent entre eux par le corps calleux (Andersen 2007). L'hippocampe se subdivise ensuite en hippocampe dorsal et ventral (supérieur et inférieur, plan sagittal) comportant chacun une architecture similaire, mais des fonctions distinctes (Strange, Witter et al. 2014). Sur le plan transversal, on peut apprécier sa cytoarchitecture organisée en couches hautement conservées entre les espèces. De manière simplifiée, la formation hippocampique est composée du gyrus dentelé (GD), de l'hippocampe, du complexe subiculaire (subiculum, présubiculum et parasubiculum) et du cortex enthorinal (CE) (voir Figure 1 page 4). On divise ensuite l'hippocampe en 3 sous-régions portant le nom de *Cornu Ammonis* (CA), qui signifie la corne d'Ammon en latin; CA1, CA2 et CA3. Les régions CA1 et CA3 sont les principales et les plus étudiées.

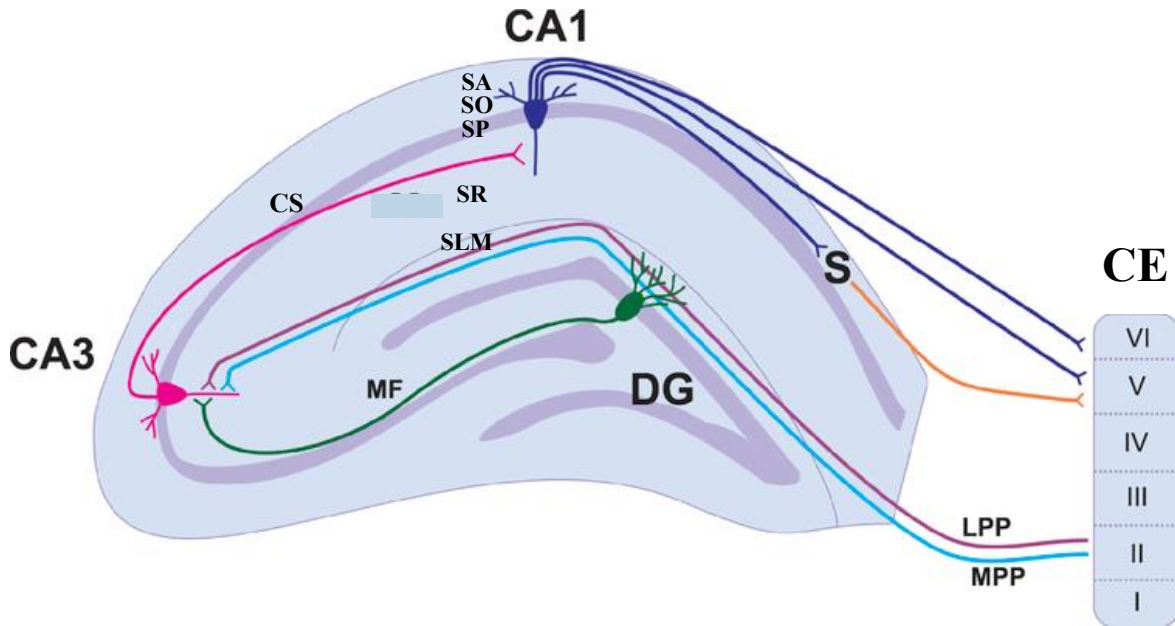


Figure 1. La formation hippocampique simplifiée illustrant le circuit trisynaptique d'hippocampe. Le circuit de base de l'hippocampe est appelé circuit trisynaptique. La couche II du CE fournit une entrée aux cellules granulaires du GD via la voie perforante médiane (bleu clair) et latérale (violet). Les cellules granulaires du GD se projettent sur les cellules pyramidales (CP) de CA3 via les fibres moussues (vert). Les CP de CA3 se projettent sur le CA1 via des collatérales de Schaffer (CS) (rose). Les CP de CA1 projettent à la fois sur le subiculum et sur les couches V et VI du CE. Abréviations: Alveus (A), stratum oriens (SO), stratum pyramidale (SP), stratum radiatum (SR), stratum lacunosum-moleculare (SLM), cornu ammonis (CA); gyrus dentelé (DG); cortex entorinal (CE); voie perforante latérale (LPP); voie perforante médiane (LPP); fibres moussues (MF); collatérales de Schaffer (CS); subiculum (S). Figure adaptée de Patten et collègues, 2015 ((Patten, Yau et al. 2015).

1.2 Circuit et cytoarchitecture

Les travaux historiques de Santiago Ramon Cajal en 1904 nous ont permis de découvrir la grande diversité des neurones par la complexité de leur morphologie (Ramón y Cajal 1909). Cette morphologie leur confère des propriétés uniques leur permettant de former un vaste réseau de connexions. Ces réseaux sont à la base des processus biologiques sous-jacents la mémoire. En effet, Cajal a démontré que les neurones ne sont pas en continuité cytoplasmique comme on le croyait, mais communiquent entre eux par des régions hautement spécialisées, les synapses. Pour comprendre comment les informations sont traitées puis consolidées, il faut d'abord explorer l'organisation macro et microscopique de l'hippocampe ainsi que les propriétés uniques des neurones qui le constitue.

1.2.1 Le circuit trisynaptique

Ce circuit trisynaptique se compose de 3 relais, tous excitateurs. Le CE peut-être vu comme le point de départ de la boucle trisynaptique. En effet, la majorité des informations en provenance des aires corticales transitent par le CE avant d'atteindre l'hippocampe (Sweatt 2010). L'hippocampe reçoit également des afférences du septum médial (Daitz and Powell 1954), de l'hippocampe controlatéral (Blackstad 1956), du cingulum (White 1959) du cortex olfactif et des aires néocorticales associatives. Le diencephale ainsi que le tronc cérébral ont également des projections directes vers l'hippocampe (Pasquier and Reinoso-Suarez 1976). Les cellules des couches superficielles du CE envoient leurs axones au GD formant ce qu'on appelle la voie perforante (synapse no°1). Cette voie constitue la principale source d'information afférente de l'hippocampe. Les axones des cellules granulaires du GD forment ensuite les fibres moussues qui font synapses avec les CP de la région CA3 (synapse no°2). Par ce que l'on appelle

les collatérales de Schaffer (CS), les axones des CP de CA3 communiquent avec les CP de la région CA1 (synapse no°3). On compte également des influx directs du CE et de la région CA3 controlatérale qui arrivent également aux CP de CA1, mais ces voies ne font pas parties à proprement dit du circuit trisynaptique (van Groen and Wyss 1990). Le circuit se termine par les projections de CA1 vers le subiculum, principal efflux excitateur de l'hippocampe (voir Figure 1) (Sweatt 2010). Ces informations repassent par le CE au niveau des couches profondes pour retourner dans les aires corticales où l'information y sera stockée à long terme (Andersen and Oxford University Press. 2007, Sweatt 2010). On pense donc que l'hippocampe est un lieu d'entreposage temporaire des informations et n'est donc pas le site de stockage des informations à long terme (Strange, Witter et al. 2014, Kitamura, Ogawa et al. 2017).

Comme mentionné précédemment, le circuit trisynaptique de base se compose des projections du CE vers le GD (voie perforante), du GD vers CA3 (fibres moussues) puis des collatérales de Schaffer (CS) reliant CA3 à CA1. CA1 se divise en plusieurs couches dans lesquelles on retrouve des afférences variées et divers types neuronaux. Ces couches confèrent une structure hautement organisée dans laquelle il est facile et reproductible d'étudier les différentes synapses.

1.2.2 Organisation cytoarchitecturale

On retrouve deux grandes classes de neurones dans l'hippocampe, les CP et les interneurones. Les CP forment la majorité des cellules peuplant cette structure et leurs fibres axonales constituent le principal message excitateur efférent de l'hippocampe. Le deuxième type de neurone prépondérant est la cellule non pyramidale ou l'interneurone inhibiteur. Comme le nom le mentionne, les interneurones ont comme principal objectif, via leurs projections inhibitrices, de moduler l'activité excitatrice des CP.

Ainsi, les projections provenant des diverses régions corticales font synapses à des endroits bien précis sur les éléments dendritiques des CP. Cette ségrégation des connexions engendre la formation d'une structure hautement stratifiée et ordonnée dans laquelle on décèle 5 couches :

(1) la *stratum lacunosum moleculare* est la couche la plus dorsale et reçoit des afférences de la voie perforante (CE vers GD) et extrahippocampique;

(2) la *stratum radiatum* est composée des dendrites apicales des CP ainsi que des CS;

(3) la *stratum pyramidale* abrite les corps cellulaires des CP qui projettent leurs dendrites apicales dans les couches supérieures;

(4) la *stratum oriens* regroupe les dendrites basales des CP;

(5) la *stratum alveus* contient leurs axones (Andersen and Oxford University Press. 2007).

Les CP sont pourvues d'un nombre impressionnant d'épines dendritiques pouvant atteindre plus de 30 000 épines par CP. Ces épines sont des excroissances de la membrane plasmique des neurones leur permettant d'établir des connexions synaptiques multiples, variées et hautement spécialisées. Ceci témoigne de l'étendue et de la complexité du réseau (Bannister and Larkman 1995). Elles reçoivent en majorité des influx excitateurs et ces afférences sont ensuite filtrées par les interneurons inhibiteurs. Ces derniers sont nettement moins abondants (10%) que les CP (90%) toutefois, on en retrouve une impressionnante variété ayant toute des propriétés uniques (Freund and Buzsaki 1996, Somogyi and Klausberger 2005). Ceux-ci seront décrits plus en détail ultérieurement.

1.3 La mémoire dépendante de l'hippocampe

On sépare la mémoire sous forme déclarative et non déclarative aussi appelée explicite et implicite respectivement. Ce modèle supporte la théorie de Larry Squire et Eric Kandel (Squire and Kandel 2002) proposant qu'il existe plusieurs systèmes de mémoire qui fonctionnent en parallèle et dont différentes régions du cerveau sont responsable. Cette théorie est également supportée par le cas du patient H.M. mentionné plus haut. Ce dernier a pu conserver plusieurs habiletés cognitives malgré une atteinte de l'hippocampe.

La mémoire non déclarative se divise en plusieurs sous-catégories ; procédurale, amorçage et l'apprentissage non associatif (Milner, Squire et al. 1998). Cette dernière ne dépend cependant pas de l'hippocampe et ne sera donc pas abordée dans le présent mémoire.

La mémoire déclarative quant à elle, nous permet d'enregistrer les faits (sémantique) et les événements (épisode) importants de notre vie. Par exemple, un moment marquant, une date historique ou la signification des mots sont des exemples qui constituent la mémoire déclarative. C'est la forme la plus simple d'apprentissage et le type de mémoire auquel les gens se réfèrent dans le jargon populaire. Cette fonction est majoritairement régulée par le lobe médial temporal, où l'on y trouve notamment l'hippocampe. On commence à démystifier ce type de mémoire et le rôle de l'hippocampe en 1928 avec les expériences pionnières de Pavlov. Il introduira le concept encore largement utilisé aujourd'hui de « conditionnement classique ». Ce phénomène a été démontré en conditionnant un chien à saliver en réponse à un stimulus sonore (stimulus conditionné; SC) après lui avoir appris que ce stimulus signifiait qu'il recevrait une gâterie (stimulus inconditionnel; SI) (Pavlov 1951). À la base, un son n'occasionne pas un réflexe de salivation. C'est pourquoi il représente le stimulus conditionné, puisqu'on doit conditionner l'animal à associer ce son à une gâterie. Après l'entraînement, le chien associe un

stimulus se voulant neutre, à une récompense et se met donc à saliver. Cette théorie illustre qu'il y a un processus d'apprentissage résultant de l'association entre des stimuli de l'environnement et les réponses automatiques de l'organisme.

On observe donc que le cerveau est capable de s'adapter à l'environnement et modifie les comportements en conséquence. Une autre technique expérimentale plus récente et maintenant largement utilisée est le conditionnement à la peur par le contexte. C'est la méthode la plus utilisée pour étudier la mémoire dépendante de l'hippocampe (Sweatt 2010). Lors de ces expériences réalisées sur des souris, un contexte particulier est associé avec un SI aversif, tel qu'une décharge électrique. Les souris ont une réponse comportementale bien précise à la peur, elles s'immobilisent (*freeze*) afin d'esquiver l'attention des prédateurs. Après l'entraînement, le contexte qui ne provoquait aucun sentiment de peur au départ engendre maintenant une immobilisation de la souris que l'on quantifie dans le temps (*freezing*). On peut donc placer une souris dans une boîte dans laquelle elle reçoit des décharges électriques aux pattes et mesurer le % de temps passé immobile dans un test de rappel 24h plus tard. Après l'entraînement, la souris est capable de reconnaître cet environnement de par la forme de la boîte, l'odeur ou la texture du sol et figera automatiquement lorsque replacée dans cette boîte (Maren, Anagnostaras et al. 1998). Ces informations contextuelles sont intégrées en majeure partie par l'hippocampe nous permettant ainsi d'en étudier le fonctionnement en soumettant les souris à cette épreuve. Ces expériences peuvent également être faites chez l'humain en mesurant le rythme respiratoire ou cardiaque comme réponse à la peur (Olsson, Nearing et al. 2007).

1.3.2 La mémoire spatiale

Lorsqu'un animal se déplace et explore un nouvel environnement, il sollicite son hippocampe (Sweatt 2010). Les premières données qui en témoignent viennent d'études utilisant des enregistrements électroencéphalographiques (EEG). Cette technique permet d'enregistrer de larges populations de neurones et donc de capter des motifs de décharges précis durant certaines tâches cognitives (Winson 1978). C'est par ces études que les ondes thêta ont été découvertes. Ces décharges rythmiques de 5Hz en moyenne qu'on désigne comme étant des rythmes thêta, se manifestent au niveau de l'hippocampe lorsque l'animal se déplace dans un environnement nouveau (O'Keefe and Dostrovsky 1971). C'est essentiellement le langage qu'utilisent les neurones de l'hippocampe lorsqu'ils encodent ces informations. O'Keefe et Dostrovsky ont également découvert la présence de «cellules de lieu» qui déchargent seulement lorsque l'animal se dirige dans une certaine direction (O'Keefe 1976). Ainsi, chaque angle d'orientation de la tête déclenche l'activation d'une sous population de neurones. Ces cellules possèdent également des «champs de lieu» qu'elles acquièrent et spécialisent en quelques minutes suivant l'exploration d'un nouvel environnement (Lever, Wills et al. 2002). Ces circuits constituent donc de véritables cartographies des lieux qui encodent les informations recueillies par l'animal en mouvement.

1.3.3 La consolidation de la mémoire

Un rôle important de l'hippocampe dont nous avons discuté précédemment est de traiter la grande variété d'informations sensorielles qui lui arrivent des aires corticales associatives. Elle est principalement impliquée dans l'étape de consolidation dans un processus qui se fait en 4 étapes; l'encodage, le stockage, la consolidation et le rappel (Sweatt 2010).

L'encodage est le processus par lequel les nouvelles informations sont incorporées aux connaissances déjà acquises. On la mesure chez l'homme par le test de rétention mnésique. On demande à une personne de retenir 3 mots qu'on énumère d'abord et qu'on demande de répéter immédiatement après l'énumération. L'encodage permet au sujet de répéter ces 3 mots quelques secondes après les avoir entendus pour la première fois. Si cette étape est déficiente, la consolidation et le rappel de ces informations sont impossibles. C'est pourquoi on la désigne comme étant l'étape limitante qui permet de prédire si les nouvelles informations seront bien mémorisées. Nous retenons beaucoup mieux les choses lorsque nous sommes en mesure de faire des liens entre elles. C'est pourquoi elles doivent être associées aux informations déjà bien encodées et consolidées afin de rendre le processus efficace. Craik et Lockhart abordent cet élément dans leur théorie sur le niveau de traitement des informations (Lockhart 1972). Plus nous pouvons faire des liens, mieux le cerveau s'en souviendra.

Le stockage des informations se réfère au processus systématique de collecte et de catalogage des données afin qu'elles puissent être récupérées sur demande (Poo, Pignatelli et al. 2016). C'est Richard Semon en 1921 qui introduit le concept d'engramme comme trace biologique de la mémoire (Semon 1921). Selon sa théorie, le processus d'apprentissage, enrichi par les connaissances contemporaines, active un petit ensemble de cellules cérébrales qui forment ce que l'on appelle «engrammes». Ces cellules subissent des changements physiques et chimiques permanents. Par la suite, la réactivation de ces cellules par des signaux de rappel entraîne la récupération de l'information mnésique associée à cet ensemble de cellules. Ainsi, ces engrammes sont formés dans le GD de la formation hippocampique durant les tâches cognitives, constituant la base biologique des nouvelles connaissances.

C'est au niveau de la consolidation que l'hippocampe intervient davantage. Cette troisième étape permet de stabiliser les informations temporairement stockées et encore labiles. Les informations nouvellement acquises peuvent être perturbées par plusieurs facteurs externes comme le comportement et l'environnement pharmacologique (Alberini and Ledoux 2013). Des changements morphologiques permanents au niveau des circuits neuronaux sont donc nécessaires à la réalisation de cette étape. Ces changements s'accomplissent notamment par le renforcement des synapses par la synthèse protéique. En effet, plusieurs études utilisant des inhibiteurs de la synthèse protéique comme l'anisomycine ont démontré l'importance de cette synthèse au cours de cette étape. En effet, la consolidation à long terme peut être abolie lorsque la synthèse protéique est bloquée suivant l'acquisition de nouvelles informations (Davis and Squire 1984, Kandel 2001, Dudai 2004).

On peut donc résumer le rôle de l'hippocampe comme étant le lieu d'entreposage à moyen terme des informations qui seront ultimement transférées vers les aires corticales pour un stockage à long terme (Sweatt 2010). Cette conclusion laisse tout de même plusieurs questions en suspens à savoir comment l'hippocampe entrepose ces informations. Quels sont les processus biologiques qui permettent la synthèse protéique et le renforcement synaptique? La section suivante nous donnera davantage de réponses à ces questions.

2. Plasticité synaptique à long terme de l'hippocampe

Comme mentionné précédemment, le stockage et la consolidation de la mémoire se traduisent par des modifications permanentes de la force des synapses (Sweatt 2010). Ce phénomène illustre comment des concepts abstraits comme les souvenirs et les idées sont encodés sous forme de matière tangible et quantifiable.

L'apprentissage et la mémoire se manifestent par un changement de comportement chez l'animal que l'on peut observer dans un contexte expérimental. Ces comportements sont quant à eux issus de l'activité neuronale. On peut donc dire qu'un changement de comportement est, à l'origine, issu d'un changement dans l'activité neuronale (Sweatt 2010). Cette affirmation peut aussi se lire à l'envers : l'activité neuronale est aussi issue d'un changement de comportement secondaire à l'adaptation de l'organisme à son environnement. Le postulat de Hebb : «*we fire together we wire together*» nous permet de mieux comprendre comment s'opèrent ces changements au niveau des synapses. En effet, prenons un neurone «A» qui stimule un neurone «B» pendant que ce dernier est actif. La synapse qui relie les deux neurones est alors potentialisée, la rendant plus efficace (Hebb 1949). Cette capacité à moduler les connexions entre les neurones réfère au concept de plasticité synaptique.

La potentialisation à long terme (PLT) est l'un des mécanismes de plasticité synaptique qui est proposée comme étant la base biologique qui sous-tend l'apprentissage et la mémoire. Elle est caractérisée par 3 propriétés de base; la coopérativité, l'associativité et la spécificité des influx. La coopérativité fait référence au fait qu'un nombre défini de fibres doit être mobilisé simultanément pour atteindre un minimum d'activation et induire une PLT. L'associativité représente les probabilités qu'un stimulus de faible intensité induise une potentialisation s'il est associé à un stimulus de plus forte intensité. Ainsi, l'intégration multiple d'influx peut permettre

de potentialiser une synapse. Finalement, la spécificité des influx signifie que deux neurones qui ne sont pas actifs de manière synchrone ne peuvent induire une PLT à leur synapse (Bliss and Collingridge 1993). Les premiers à étudier ce phénomène dans l'hippocampe ont été Tim Bliss et Terje Lomo en 1973 (Bliss and Lomo 1973). Ils ont découvert qu'en appliquant une brève stimulation d'une fréquence de 100Hz aux fibres de la voie perforante, il y a un renforcement considérable des synapses reliant le CE au GD. Ce type de PLT peut être induit dans les 3 synapses excitatrices du circuit trisynaptique de l'hippocampe. Cependant, la grande majorité des expériences, dont celles du présent mémoire sont réalisées au niveau des CS entre CA3 et CA1.

2.1 PLT NMDAR-dépendante

Que se passe-t-il à la synapse lors des processus de renforcement synaptique? Il existe plusieurs formes de PLT qui dépendent de récepteurs différents. Une des mieux décrites au niveau des CS est celle qui fait intervenir le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA). C'est un récepteur de type canal inotrope étant perméable à plusieurs ions. Ainsi, pour être activé, ce récepteur nécessite la fixation de son ligand naturel, le glutamate, d'un coactivateur, la glycine ainsi que la dépolarisation de la cellule pour éjecter l'ion magnésium (Mg^+) qui bloque son canal. Lorsqu'activé, il est perméable au sodium (Na^+), au potassium (K^+) et au calcium (Ca^{2+}) engendrant la création d'un potentiel postsynaptique excitateur (PPSE). De plus, son activation déclenche des cascades intracellulaires aussi importantes pour la PLT (Baudry, Zhu et al. 2015). Son rôle crucial dans la PLT a été démontré par l'utilisation d'un antagoniste du récepteur NMDA, l'acide D,L-2-amino-5-phosphonopentanoïque (AP5) à empêcher la PLT. Dans les expériences de Morris en 1989, l'utilisation d'AP5 empêche l'apprentissage spatial, mais pas

visuel chez des rats (Morris 1989). En 1996, Tonegawa et coll. ont développé un modèle de souris transgénique chez laquelle les neurones de la région CA1 n'expriment pas le gène encodant pour le récepteur NMDA. Les souris présentaient des déficits de PLT et de mémoire spatiale, confirmant une fois de plus le rôle central des récepteurs NMDA dans la PLT et l'apprentissage (Tsien, Huerta et al. 1996).

Lorsque le PPSE du neurone «A» arrive à la synapse avec le neurone «B», des canaux calciques voltage-dépendant s'ouvrent et dépolarisent la membrane permettant une entrée de Ca^{2+} dans la terminaison axonale. Le Ca^{2+} déclenche ensuite une cascade menant ultimement à la formation et la libération dans la fente synaptique de vésicules synaptiques contenant du glutamate (Castillo 2012). Le récepteur NMDA dépolarise la membrane postsynaptique à la suite de son ouverture en laissant entrer les ions Na^+ et K^+ dans la cellule. Le glutamate seul n'est pas suffisant pour activer le récepteur NMDA. En effet, on le surnomme le «détecteur de coïncidence» puisqu'il doit non seulement lier son agoniste, mais également expulser l'ion de magnésium (Mg^{2+}) qui bloque son canal. Pour ce faire, la membrane de l'élément postsynaptique doit également être dépolarisée, expulsant par le fait même l'ion Mg^{2+} au même moment où le glutamate se lie au récepteur NMDA. Cette cascade d'évènements reflète bien le postulat de Hebb quant à la nécessité d'une coïncidence entre le PA et la dépolarisation de l'élément postsynaptique.

Un autre récepteur très important qui intervient dans ce processus est le récepteur à l'acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolépropionique que l'on appelle communément AMPA. C'est également un récepteur canal inotrope fortement perméable au Na^+ et plus faiblement au K^+ . Il permet la dépolarisation de la membrane postsynaptique afin de réunir les deux conditions d'activation du récepteur NMDA (Sweatt 2010). Il est formé de 4

sous-unités composées d'un mix de GluA1 à GluA4. Les récepteurs AMPA des CP composés en majorité des sous-unités Glu1 et Glu2 (Keinanen, Wisden et al. 1990). L'influx de Ca^{2+} déclenche plusieurs cascades intracellulaires menant à l'insertion de nouveaux récepteurs AMPA à la membrane postsynaptique, la rendant plus facilement excitable (Luscher and Malenka 2012). La PLT et la dépression à long terme (DLT) peuvent toutes deux être issues de l'activation du récepteur NMDA. Voyons comment la synapse arrive à décoder le message électrique afin d'initier la PLT ou la DLT.

2.2 DLT dépendante du récepteur NMDA

La DLT se définit comme étant une réduction de la force des synapses pouvant perdurer dans le temps (Andersen 2007). Celle-ci est aussi importante que la PLT dans les processus d'apprentissage et permet aux synapses d'ajuster la force de leurs connexions au fil du temps (Dudek and Bear 1992, Mulkey and Malenka 1992). On retrouve de la DLT entre autres au niveau des synapses entre les CS et les CP de la région CA1 de l'hippocampe (Staubli and Scafidi 1997). Le mécanisme cellulaire repose sur l'influx de Ca^{2+} dans l'élément postsynaptique. En effet, le niveau ainsi que le moment d'entrer du Ca^{2+} semblent être des facteurs déterminants dans l'activation de certaines cascades intracellulaires. En fonction de la cascade activée, un changement de polarité de la cellule sera initié menant à la PLT ou la DLT (Artola and Singer 1993, Cooke and Bliss 2006). Ainsi, la DLT est induite lorsque l'influx de Ca^{2+} est sous optimal par rapport au seuil minimal requis pour une potentialisation. Ce seuil dépend quant à lui, de l'état préalable de la synapse.

Contrairement à la PLT, la DLT dépendante du récepteur NMDA est induite par des stimulations répétées de faibles fréquences (~ 1 Hz). Ce type de stimulation ne laisse entrer

qu'une petite quantité de Ca^{2+} dans l'élément postsynaptique (Bear and Malenka 1994). Si le niveau de Ca^{2+} ne dépasse pas le seuil minimal requis pour amorcer une potentialisation, la synapse subit une DLT plutôt qu'une PLT. Ces données laissent donc croire que les mécanismes sous-jacents la DLT dépendante du récepteur NMDA s'opèrent en majeure partie au niveau postsynaptique. En effet, la DLT met en scène l'activation de phosphatases et non de kinases comme on l'observe au cours de la PLT. Ces phosphatases, activées par les niveaux de Ca^{2+} , déphosphorylent les protéines cibles comme les récepteurs postsynaptiques AMPA. Leur déphosphorylation engendre leur internalisation, réduisant ainsi la sensibilité au glutamate de l'élément postsynaptique (Collingridge, Isaac et al. 2004). Tout comme la PLT, la phase tardive de la DLT requiert la synthèse de protéines (Sajikumar and Frey 2003). Les détails des mécanismes menant à cette phase tardive sont distincts de ceux menant à la PLT et ne seront pas vus en détail dans le présent mémoire.

2.3 DLT dépendante du récepteur mGluR

Il existe plusieurs autres formes de DLT aux CS dont une qui dépend de l'activation des récepteurs au glutamate métabotropes (mGluR) (Huber, Roder et al. 2001). Ce sont des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) parmi lesquels on compte les récepteurs mGluR1 et mGluR5 (Niswender and Conn 2010). Les mGluR1 sont majoritairement au niveau des cellules de Purkinje dans le cervelet et les mGluR5 sont davantage dans l'hippocampe et le cortex cérébral (Ferraguti and Shigemoto 2006). Dans l'hippocampe, la DLT dépendante du récepteur mGluR5 a lieu davantage aux synapses formées sur les dendrites dans le *stratum radiatum* alors que la DLT dépendante du récepteur mGluR1 s'observe aux corps cellulaires (Lujan, Nusser et al. 1996). En appliquant deux stimulations à basse fréquence rapidement une

après l'autre au neurone présynaptique, Huber et al ont démontré que la DLT induite était dépendante des récepteurs mGluR (mGluR1 et 5) (Huber, Kayser et al. 2000). Tout comme la DLT dépendante du récepteur NMDA, on observe une internalisation des récepteurs mGluRs en réponse à leur activation au niveau de l'élément postsynaptique (Gladding, Fitzjohn et al. 2009). Cette internalisation s'opère par la formation de vésicules provenant de la membrane plasmique autour desquelles se lient des protéines de clathrine qui permet d'incorporer le tout à l'intérieur de la cellule (Kandel, Schwartz et al. 2013). Les détails de cette forme de DLT ne seront pas abordés dans le présent mémoire.

2.4 Les phases précoces et tardives de la PTL

En présence d'un inhibiteur de la synthèse protéique comme l'anisomycine ou d'un inhibiteur de la transcription comme l'actinomycine, la PLT préalablement induite dans la région CA1 de l'hippocampe retourne progressivement à son niveau de base en 5 à 6 heures (Frey, Krug et al. 1988). De ces expériences a émergé le concept de phase précoce (PLT-précoce) et tardive (PLT-tardive) de la PLT qui dépendent de changements post traductionnels et de la transcription et traduction de nouvelles protéines respectivement. Ainsi, il existe plusieurs formes de PLT qui se distinguent par leur durée (phase précoce ou tardive) et par la direction des changements d'efficacité synaptique (potentialisation ou dépression).

La PLT-précoce dure de 1 à 3 heures et est indépendante de la synthèse protéique. L'hypothèse initiale s'appuie sur l'idée que ce processus repose essentiellement sur la phosphorylation de protéines déjà existantes et s'exprime par une augmentation de la quantité et de la probabilité de relâche de neurotransmetteurs à la suite d'un PA (Stevens and Wang 1994). Du point de vue postsynaptique, la PLT-précoce s'exprime par une augmentation de la

conductance (γ) unitaire des récepteurs AMPA et par une insertion de nouveaux récepteurs à la membrane postsynaptique (Benke, Luthi et al. 1998, Hayashi, Shi et al. 2000).

La PLT-tardive peut durer plusieurs heures voir des jours et requiert la synthèse d'ARN messenger (ARNm) et de protéines pour se maintenir dans le temps (Bliss and Collingridge 1993, Nguyen, Abel et al. 1994, Kelleher, Govindarajan et al. 2004). La protéine kinase A (PKA) joue un rôle autant au niveau de la PLT-précoce que la PLT-tardive. Elle peut phosphoryler plusieurs substrats importants menant à l'activation de cascade de signalisation intracellulaire. Au niveau de la PLT-tardive, l'hypothèse est que l'activation soutenue de la PKA entraîne un signal rétrograde vers le noyau, stimulant l'expression de gène et la synthèse protéique. Ces protéines sont ensuite transportées dans les dendrites pour mettre en oeuvre le renforcement des synapses (Kandel 2001, Andersen 2007).

2.4.1 Plasticité synaptique dépendante de la synthèse protéique : phase tardive de la PLT

La PLT-tardive nécessite la synthèse de nouvelles protéines autant au niveau du corps cellulaire que des dendrites (Zucker and Regehr 2002, Klann and Dever 2004, Lynch 2004). La persistance de l'activation des protéines kinases telles que ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) est l'hypothèse suggérée pour expliquer son induction. À la suite de son activation, ERK phosphoryle plusieurs substrats cytoplasmiques et nucléaires menant ultimement à la synthèse de protéines ainsi qu'à des changements morphologiques. Parmi ces substrats, il y a des facteurs de transcription tels que CREB (*C-AMP Response Element-Binding protein*, c'est-à-dire protéine se fixant au CRE). CREB dirige ensuite l'expression d'IEG (*immediate early genes*) telle que *c-fos* et *zif268*. Les ARNm et les protéines produites ensuite transportées vers les

dendrites postsynaptiques pour assurer le maintien de la PLT notamment par la formation de nouvelles épines dendritiques (Kelleher, Govindarajan et al. 2004).

Un autre acteur important dans la régulation de la synthèse protéique est la protéine mTOR (*mechanistic target on rapamycin*). mTOR est une protéine sérine-thréonine (Sr/Tr) kinase de la famille des kinases reliées au PI3K (PIKK). On compte deux complexes mTORC1 et mTORC2 qui ont des fonctions et une constitution différente. Le complexe mTORC1 contient en réalité 3 composantes : mTOR, Raptor (*regulatory protein associated with mTOR*) et mLST8 (Kim, Sarbassov et al. 2002). mTOR régule la synthèse protéique en phosphorylant 2 substrats en particulier soit la kinase 1 p70S6 (S6K) et la protéine de liaison du facteur eIF4E (4EBP). Par la suite, S6K1 phosphoryle à son tour plusieurs substrats menant à l'initiation de la transcription d'ARNm comme l'eIF4E (Holz, Ballif et al. 2005). mTOR est essentiel à l'homéostasie de la cellule en raison de son rôle dans : le métabolisme du glucose et des lipides, l'adipogenèse, les fonctions immunitaires, la cognition et bien d'autres (Saxton and Sabatini 2017). Nous traiterons des impacts de sa dérégulation dans la section 4 de l'introduction.

2.5 PLT, DLT et mémoire dans l'hippocampe

Dans la section 1 du présent mémoire, *Neurobiologie de l'apprentissage et de la mémoire*, nous avons établi que diverses régions du cerveau sont responsables du stockage de plusieurs types de mémoire. Pour permettre à ces types de mémoire d'exister et d'être encodés, une trace biologique doit être laissée. Comme l'a postulé Hebb, apprendre revient à modifier la force de connexion synaptique au sein d'un réseau de neurones (Hebb 1949). On pense que le substrat biologique de la mémoire est la PLT NMDA-dépendante (PLT hebbienne) (Kandel 2001). Les observations expérimentales qui en témoignent comprennent (1) l'apprentissage

induit de la PLT dans l'hippocampe (Whitlock, Heynen et al. 2006) et (2) le blocage de la PLT empêchant l'apprentissage d'une tâche (Davis, Butcher et al. 1992). Il est donc évident que c'est majoritairement à l'échelle de la synapse que s'observent les modifications qui expliquent ce concept si abstrait qu'est la mémoire.

3. Inhibition, apprentissage et mémoire de l'hippocampe

Pour assurer la fonction d'apprentissage et de mémorisation, le cerveau doit constamment intégrer et filtrer les différents stimuli qui lui parviennent. Pour ce faire, une gestion étroite de l'activation et de l'inhibition des circuits est nécessaire afin de synchroniser l'activité électrique neuronale. Les interneurons ont un rôle essentiel dans cette régulation. En effet, ils harmonisent cette synchronisation en filtrant les influx excitateurs aux CP de l'hippocampe. Ainsi, ils régulent quels groupes de neurones s'activent en réponse à quel stimulus. De plus, ils sont essentiels à la genèse des patrons de décharges des CP. Cette synchronisation de l'activité électrique se traduit par la suite en comportements observables (Andersen 2007).

3.1 Les interneurons: origine, développement et spécification

C'est en 1959 que Gray décrit 2 types de neurones dans le cortex; type 1 et type 2 (Gray 1959). Dix ans plus tard en 1968, Colonnier observe que les corps cellulaires des CP sont presque exclusivement couverts de synapses de type inhibitrices, démontrant leur existence physique et stratégique au sein du circuit (Colonnier 1968).

Nous en savons maintenant davantage sur la grande variété d'interneurones ainsi que sur leurs propriétés de base (Freund and Buzsaki 1996). Ils ne totalisent environ que 25% de tous les neurones du cortex, mais sont indispensables dans l'homéostasie de ce dernier (Whittington and Traub 2003). De multiples efforts ont été déployés afin de corréler leur fonction à leur morphologie qui varie considérablement d'un type cellulaire à l'autre (Gulyas, Miles et al. 1993, Sik, Penttonen et al. 1995, Halasy, Buhl et al. 1996, Buzsaki 2002). Les premières évidences nous viennent des études de Ramón y Cajal en 1893 et Lorente de Nó plus tard en 1934. En

analysant la distribution des fibres dendritiques, ils ont établi que leur disposition dépend de l'origine des influx excitateurs qu'elles reçoivent. À l'inverse, la distribution des axones reflète la sélection préférentielle de cibles postsynaptiques (Ramón y Cajal 1909). Ainsi, l'origine et la destination des courants électriques dictent l'organisation du circuit.

3.1.1 Origine

C'est par des études d'immunomarquage que l'origine des interneurons corticaux a pu être démystifiée (de Carlos, Lopez-Mascaraque et al. 1996, Pelkey, Chittajallu et al. 2017). Ceux exprimant le facteur de transcription Nkx2.1 proviennent de l'éminence ganglionique médiale (MGE), une structure cérébrale embryonnaire transitoire guidant la migration des neurones et de leurs axones (Lavdas, Grigoriou et al. 1999). D'autres types d'interneurones exprimant le facteur de transcription Gsx2 proviennent de l'éminence ganglionique latérale (LGE) alors que ceux exprimant le facteur de transcription Pax6 sont dérivés de l'éminence ganglionique caudale (CGE) (voir figure 2). L'origine de chaque type d'interneurones est primordiale dans l'acquisition de leurs propriétés uniques.

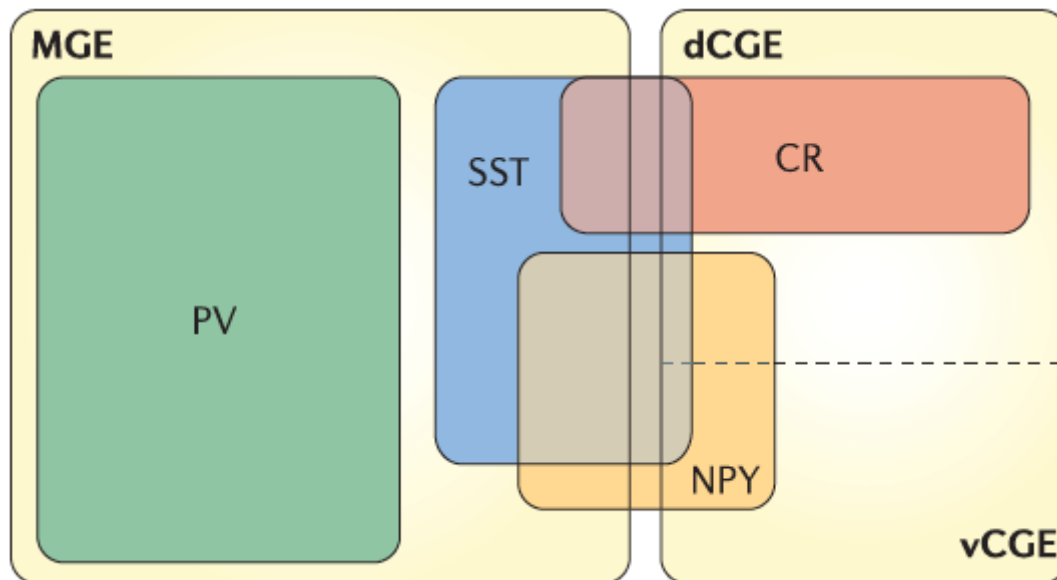


Figure 2. Illustration représentant la contribution relative de l'éminence ganglionique médiane (MGE) et l'éminence ganglionique caudale ventrale (vCGE) et dorsale (dCGE) aux sous-groupes d'interneurones corticaux. Les interneurones exprimant la parvalbumine (PV) sont entièrement dérivés du MGE alors que les interneurones exprimant la somatostatine (SST) proviennent en majeure partie du MGE, mais peuvent provenir du dCGE et vCGE. Les interneurones exprimant le neuropeptide Y sont issus des 3 régions et une large proportion d'entre eux sont colocalisés avec les interneurones SST. Ceux exprimant la calrétinine (CR) sont majoritairement dérivés du dCGE et colocalisent également avec les interneurones SST. Figure adaptée de Anderson et Stewart (2006).

3.1.2 Développement et spécification

Plusieurs évidences suggèrent que les interneurons sont déjà en phase post-mitotique lorsqu'ils entament leur migration. Cette particularité semblerait avoir un impact important sur la spécification de chaque sous-type d'interneurone. Les progéniteurs des interneurons dérivés du MGE et du LGE présentent déjà des différences moléculaires au moment où ceux-ci quittent leur cycle cellulaire. De plus, ces différences ne seraient pas acquises sous l'influence de facteurs environnementaux rencontrés lors de leur migration, mais bien de signaux locaux au site d'origine (Valcanis and Tan 2003, Butt, Fuccillo et al. 2005). Ce sont ces propriétés uniques qui ont permis l'élaboration d'une classification détaillée.

Cette classification peut s'effectuer en fonction de leur morphologie ou de la colocalisation des neuropeptides qu'ils expriment. Ainsi, d'un point de vue morphologique, on peut compter au moins 5 types d'interneurones différents dans la région CA1 de l'hippocampe : (1) les cellules chandeliers (ou axo-axoniques) (2) les neurones en panier (ou *basket cells*) (3) les neurones horizontaux (aussi appelés O-L-M), (3) les neurones verticaux comprenant les bistratifiés et les trilaminaires (4) les interneurons étoilés et (5) les interneurons exprimant le peptide vasoactif Y (PIV) (Freund and Buzsaki 1996, Tricoire, Pelkey et al. 2011, Kepecs and Fishell 2014).

- 1- Les corps cellulaires des cellules chandeliers dans l'hippocampe sont situés près de la couche pyramidale et projettent leurs dendrites dans toutes les couches de l'hippocampe de manière radiale. Elles ne possèdent que quelques épines dendritiques et la majorité de leurs dendrites se trouvent au niveau de la couche oriens. Leur distribution leur permet donc de recevoir des influx excitateurs provenant de plusieurs sources afférentes aux régions CA1 et CA3 venant majoritairement de la voie perforante. Elles projettent leur

axone dans la couche pyramidale et oriens sous la forme de colonnes verticales sur lesquelles on retrouve des rangées de boutons synaptiques. Une seule cellule chandelier peut innerver jusqu'à 1200 CP (Freund and Buzsaki 1996).

- 2- Les neurones en paniers ont un soma de forme triangulaire ainsi qu'une arborisation dendritique également sous forme de panier. 1 à 3 dendrites prennent naissance au pôle apical du soma pyramidal et pénètrent la couche O-L-M. Les dendrites basales sont plus nombreuses et parcourent l'entièreté de la couche oriens. Une particularité de ce type cellulaire est que les dendrites ne possèdent aucune épine. Ainsi, ce type d'interneurones a pour rôle de recevoir en majeure partie, des inputs des sources excitatrices principales tels que les fibres moussues, collatérales de Schaffer, les voies afférentes commissurales et celles du cortex enthorinal (Freund and Buzsaki 1996)
- 3- La caractéristique majeure qui distingue les neurones O-L-M se situe au niveau de leur axone strictement localisé dans la couche O-L-M ainsi qu'un arbre dendritique déployé dans les couches occupées par les collatérales récurrentes des CP environnantes. Ces neurones sont principalement impliqués dans les circuits de feedback (Freund and Buzsaki 1996).
- 4- Les interneuones étoilés ont leur soma dans la couche radiatum et O-L-M et leurs dendrites sont dépourvues d'épines. Ces interneurones reçoivent des afférences des collatérales de Schaffer, des fibres commissurales et du cortex enthorinal. Leur arborisation axonale est très étendue au niveau de la couche radiatum et O-L-M et forme des synapses en majeure partie au niveau des dendrites des CP (Miles, Toth et al. 1996).

5- Il existe une catégorie d'interneurones qui se spécialisent dans l'innervation d'autres interneurones. On les nomme les interneurones sélectifs (IS) et l'on en retrouve 3 sortes; IS-1, IS-2 et IS-3. Ces interneurones expriment le peptide VIP. Les interneurones IS-1 sont majoritairement dans la région CA1 et leur soma est localisé dans les couches radiatum, oriens et pyramidale. Une caractéristique intéressante est que leurs dendrites forment de longues jonctions dendro-dendritiques entre elles qui s'entremêlent. Leur principale source excitatrice provient des collatérales de Schaffer et du cortex enthorinal et leur activité est synchronisée par ces multiples jonctions dendro-dendritiques et axo-dendritiques entre elles. Les interneurones IS-2 ont été décrits seulement dans l'hippocampe où leur soma se trouve dans la couche radiatum. Ces neurones sont également stimulés par des afférences du cortex enthorinal. Ils innervent en majeure partie, d'autres interneurones responsables de l'inhibition dendritique des CP au niveau des collatérales de Schaffer. La dernière catégorie d'interneurones IS comprend les IS-3. Ils possèdent un soma en forme d'ovale fusiforme localisé dans la couche radiatum et la pyramidale. Ils innervent principalement des interneurones responsables du feedback inhibiteur des CP dans les couches recevant des influx du cortex enthorinal (Freund and Buzsaki 1996).

Il existe plusieurs autres types de classification (neuro-chimique, facteurs neurotrophiques exprimés, neuropeptides produits) (Freund and Buzsaki 1996).

Chacun de ces types d'interneurones possède sa propre morphologie, localisation et fonction dont les détails ne seront pas discutés dans le présent mémoire. La régulation de la transcription des différents sous-types d'interneurones menant à leur spécification et leur migration est complexe et encore largement méconnue (Wonders and Anderson 2006). C'est

pourquoi nous nous concentrerons davantage sur deux type d'interneurones exprimant le facteur de transcription Nkx2.1 et dérivés du MGE : les SOM et les PV.

Les interneurones SOM sont retrouvés au niveau de la stratum *oriens* et de l'*alvéus* de l'hippocampe et font partie de la plus grande famille des interneurones horizontaux comme l'ont démontré des travaux en immunocytochimie (Freund and Buzsaki 1996). Ainsi, ils ont leurs corps cellulaires dans la stratum *oriens* et projettent leurs dendrites horizontalement dans cette même couche ainsi que dans l'*alvéus* où elles se subdivisent en plusieurs branches. Ils projettent leur axone au travers de la stratum *radiatum* jusqu'à la *lacunosum-moleculare* où des collatérales forment des synapses avec les dendrites distales des CP (Blasco-Ibanez and Freund 1995). Leurs principales afférences proviennent des CP de la région CA1 (voir Figure 2).

Les interneurones PV constituent environ 20% de la population d'interneurones et expriment la parvalbumine qui est une protéine de liaison du Ca^{2+} (Baimbridge and Miller 1982). Environ 50% d'entre eux appartiennent à la famille des neurones en panier, 30 à 40% des neurones de la couche *oriens* expriment la PV et seulement 3 à 6% sont trouvés dans la couche *radiatum* (Kosaka, Katsumaru et al. 1987). Les neurones en panier ont leur corps cellulaire au niveau de la couche *pyramidale* et leurs dendrites apicales s'arborisent dans la couche *radiatum* et la *laculosum-moleculare* (Buhl, Cobb et al. 1995). Leurs dendrites basales s'étendent au niveau de la couche *oriens* et *alvéus*. Une particularité de ce type d'interneurones est que leurs prolongements ne possèdent habituellement pas d'épines dendritiques. En raison de leur vaste arborisation, ces neurones reçoivent des afférences variées des CS et des fibres enthorinales. Leur axone forme des synapses principalement dans la couche *pyramidale* ciblant le corps cellulaire et les dendrites proximales des CP (Schwartzkroin and Mathers 1978).

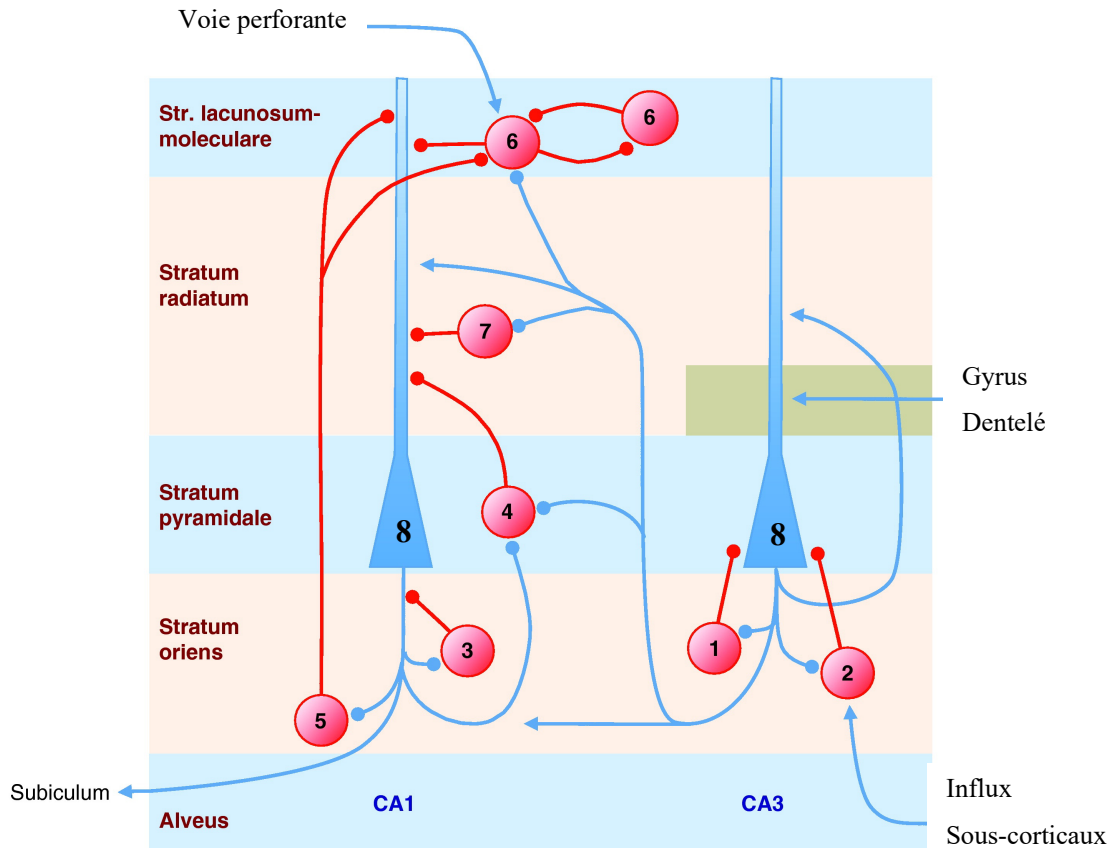


Figure 3. Schéma simplifié illustrant certains réseaux de connexions entre les interneurons de l'hippocampe et les couches dans lesquelles ils sont localisés. 1. PV = cellules en panier exprimant la parvalbumine; 2. CCK = cellules en panier exprimant la cholécystokinine; 3. Axo-axonique = cellules chandelier ; 4. Cellules Ivy; 5. O-L-M = cellules horizontales exprimant la somatostatine; 6. Cellules Neurogliaformes; 7. Cellules associées aux collatérales de Schaffer.; 8. Cellules pyramidales. Figure adaptée de (Kullmann 2011).

3.2 Inhibition et plasticité synaptique

Il est maintenant évident que les interneurons présentent de la plasticité synaptique qui dépend de leur activité (Kullmann and Lamsa 2007). Cette plasticité, présente à leurs synapses

excitatrices, peut prendre plusieurs formes en fonction du type d'interneurone et de la source des afférences synaptiques (Pelletier and Lacaille 2008).

3.2.2 La plasticité synaptique des interneurones

Comme dans toute synapse, une coïncidence des événements est nécessaire pour induire la PLT. Ainsi, une potentialisation des courants excitateurs postsynaptiques (CPSE) est induite dans les interneurones de la couche *radiatum* lorsqu'il y a coïncidence entre (A) la dépolarisation postsynaptique de ces interneurones et (B) la stimulation à basse fréquence de leur afférences glutamatergiques. La PLT de ces interneurones n'a donc lieu qu'aux synapses des afférences stimulées, démontrant qu'elle est spécifique à ces afférences. Ces synapses potentialisées sont riches en récepteurs NMDA et contiennent des récepteurs AMPA imperméables au Ca^{2+} (CI-AMPA). En bloquant ces récepteurs AMPA, on empêche la PLT (Lamsa, Heeroma et al. 2005). Ainsi, la PLT dépendante du récepteur NMDA dans les interneurones ressemble beaucoup à celle décrite précédemment aux synapses entre les CS et les CP de CA1. Cette coïncidence pré et postsynaptique permet l'entrée de Ca^{2+} par les récepteurs NMDA dans les interneurones activant des cascades de signalisation intracellulaire menant à l'insertion de nouveaux récepteurs AMPA (Kullmann and Lamsa 2007).

3.2.3 Le rôle des interneurones dans la plasticité synaptique

Les interneurones sont parfaitement positionnés pour orchestrer et synchroniser l'activité des circuits neuronaux. Les interneurones PV ont pour cible les dendrites des CP leur permettant de contrôler l'arrivée et la plasticité des afférences excitatrices que reçoivent ces cellules (Miles and Poncer 1996). D'autres interneurones positionnent leurs projections au

niveau des corps cellulaires afin de contrôler les efférences et synchroniser le motif de décharge des CP (Miles, Toth et al. 1996). On sait qu'un changement dans la transmission inhibitrice aura un impact sur la plasticité synaptique aux synapses excitatrices. En effet, il est connu depuis longtemps qu'un blocage des récepteurs à l'acide γ -aminobutyrique (GABA) facilite l'induction de la PLT aux synapses excitatrices via l'entrée de Ca^{2+} dans l'élément postsynaptique (Wigstrom and Gustafsson 1983). Également, en induisant de la DLT aux synapses inhibitrices, on peut produire une désinhibition des synapses excitatrices, autrement dit, induire de la PLT (Ormond and Woodin 2009).

Pour comprendre le rôle des interneurons dans la plasticité synaptique, il est important de comprendre comment l'inhibition s'opère en parallèle à la neurotransmission excitatrice. Lorsqu'un PA suffisamment puissant pour dépolariser la cellule arrive à celle-ci, une inhibition rétroactive (*feedback inhibition*) rapide de moins de 20ms est déclenchée via les récepteurs GABA_A . Durant cette courte période, aucun influx de plus faible ou de même intensité ne peut dépolariser la cellule. S'ensuit une période beaucoup plus longue (200ms) d'inhibition dans laquelle la cellule reste légèrement hyperpolarisée, il s'agit de l'inhibition GABA_B . Les récepteurs GABA_B sont situés au niveau présynaptique et donc produisent ce qu'on appelle une inhibition anticipée (*feedforward inhibition*). À eux deux, ils maintiennent un contrôle étroit de l'excitabilité des CP en contrecarrant les potentiels excitateurs qui leur parviennent. Comment contourner cet étroit système d'inhibition pour induire la PLT? En 1991, Ceri H. Davies et coll. ont démystifié les mécanismes moléculaires permettant l'induction de la PLT par un protocole de stimulation à haute fréquence (SHF). En effet, lorsqu'on applique ce protocole de stimulation, la transmission GABAergique inhibitrice s'auto régule via l'activation d'autorécepteurs GABA_B qui dépriment la libération de GABA et permettent la dépolarisation

de la cellule et l'ouverture des canaux NMDA (Davies, Starkey et al. 1991). Ce mécanisme est maintenant universellement accepté et démontre bien un des rôles de l'inhibition dans la plasticité synaptique.

3.3 Inhibition et mémoire

Il est maintenant clair que l'inhibition module de manière importante la plasticité synaptique dans l'hippocampe. Comment se traduisent ces phénomènes cellulaires lors de tâches d'apprentissages? Comme décrit précédemment, les expériences de conditionnement à la peur par le contexte permettent de mesurer expérimentalement une tâche dépendante de l'hippocampe. Lorsque l'on bloque l'activation des interneurons SOM, et non les phénomènes de plasticité, durant le conditionnement, on inhibe le rappel 24h plus tard (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014). Autrement dit, l'inhibition par les interneurons SOM est absolument nécessaire à l'apprentissage de ce genre de tâches.

Ce type d'apprentissage dépendant de l'hippocampe augmente le nombre de synapses que forment les fibres moussues sur les interneurons de CA3. Ces changements démontrent que l'inhibition est essentielle à ce que la tâche soit apprise et mémorisée de manière précise. Ce phénomène a été prouvé à la suite d'expériences dans lesquelles la protéine adducine 2, une protéine du cytosquelette, a été supprimée dans un modèle de souris, empêchant la formation de ces synapses entre les fibres moussues et les interneurons. En conséquence, les souris apprenaient les tâches de manière beaucoup moins précise démontrant l'importance de la formation de ces synapses entre les fibres moussues et les interneurons (Ruediger, Vittori et al. 2011).

On peut conclure que l'apprentissage requiert la formation de nouvelles synapses au sein des circuits neuronaux, ce qui constitue la base biologique de la mémoire. Ces synapses doivent être modulées au fil du temps afin d'encoder les informations de manière précise, ce qui correspond à la définition de la plasticité synaptique. Ce renforcement (PLT) ou cette dépression (DLT) synaptique est nécessaire et fait appel aux interneurons qui ont un rôle primordial par leur inhibition du circuit. Voyons maintenant les implications d'une dérégulation de la synthèse protéique et de la plasticité synaptique dans certaines maladies neuro-développementales comme les troubles du spectre de l'autisme (TSA).

4. La sclérose tubéreuse et les troubles du spectre de l'autisme

Dans les sections précédentes, nous avons parcouru le rôle de l'hippocampe dans la mémoire et dans l'apprentissage et nous avons défini ce qu'est le substrat biologique de ces phénotypes comportementaux. La réalisation de ces tâches d'apprentissage requiert le bon fonctionnement d'une machinerie protéique complexe prenant place à la synapse même. Que se passe-t-il lorsque cette machinerie est dérégulée et quelles en sont les conséquences comportementales? Les prochaines sections nous permettront de mieux comprendre les conséquences de telles dysfonctions afin de mieux cerner le rôle de certaines protéines au sein de cette machinerie.

4.1 Les troubles du spectre de l'autisme (TSA)

C'est en 1943 que Leo Kanner, un pédopsychiatre américain, décrit pour la première fois les troubles de l'autisme dans un ouvrage où il présente 11 cas d'enfants présentant une nouvelle forme de «désordre émotionnel» (Kanner 1943). Les TSA sont des troubles neuro-développementaux qui affectent la communication et le comportement. On parle de « spectre », car il existe une grande variation dans le type et la gravité des symptômes. Les TSA surviennent dans tous les groupes ethniques, raciaux et économiques et les gens atteints présentent généralement une constellation de 3 types de déficits: communication et interaction sociale, intérêts restreints et comportements stéréotypés (Fakhoury 2015).

Les TSA sont des troubles hautement héréditaires dont plusieurs causes monogéniques ont été décrites (Klauck 2006). Les deux principaux syndromes génétiques associés au TSA sont le syndrome de l'X fragile (SXF) et la sclérose tubéreuse (TSC) (Persico and Napolioni 2013). Ces deux syndromes partagent plusieurs aspects physiopathologiques dont l'altération de la

traduction d'ARNm et une synthèse protéique accrue. Le SXF est un désordre génétique lié au chromosome X causé par une expansion instable du codon CGG dans le gène *Fmr1*. Ce gène encode pour une protéine impliquée dans la plasticité synaptique via la synthèse protéique (Muhle, Trentacoste et al. 2004). La TSC est une maladie autosomique dominante causée par la mutation du gène *Tsc1* ou *Tsc2* qui forme tous deux un complexe aussi impliqué dans la régulation de la synthèse protéique. Plus de 40% des enfants atteints de TSC présentent un TSA et l'on pense que la grande prévalence d'épilepsie chez ces enfants en serait la cause (Bolton, Park et al. 2002).

Grâce entre autres aux études d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), on sait maintenant que le cerveau de jeunes patients autistes présente des dysfonctions fonctionnelles et morphologiques au niveau de l'amygdale et de l'hippocampe, notamment une taille plus petite de ces structures (Dichter 2012). Ces dysfonctions comprennent des altérations dans les phénomènes d'apoptose, une hyperconnectivité de certains circuits neuronaux, une altération de la plasticité synaptique, le développement anormal de certains neurones corticaux et un débalancement de l'équilibre inhibition-excitation (E/I) (Kana, Uddin et al. 2014). Ainsi, on retrouve dans la TSC une synthèse protéique accrue qui mène ultimement à une altération de la plasticité synaptique (von der Brelie, Waltereit et al. 2006).

4.1.1 Les modèles de souris TSA

Plusieurs modèles de souris ont été élaborés afin de mieux expliquer les mécanismes biologiques qui sous-tendent les déficits observés dans les TSA. Pour une revue complète des modèles de souris dans les TSA, voir Provenzano, Zunino et al. (2012).

Un des modèles les plus étudiés est celui du gène *Fmr1*. Les souris n'exprimant pas ce gène présentent un profil comportemental complexe ; anxiété sociale, déficits de vocalisation ultrasonore et des convulsions (McNaughton, Moon et al. 2008). De plus, ces souris présentent des déficits au niveau de la plasticité synaptique notamment au niveau de la fonction des récepteurs GABA_A et mGluR1/5 avec une réduction sévère de leur expression.

Le gène *NFI* encode la protéine neurofibromine qui est une GTPase impliquée dans la régulation de la cascade de signalisation Ras/ERK ayant un contrôle inhibiteur sur le complexe TSC1/2 (Ballester, Marchuk et al. 1990). Les souris homozygotes *NFI*^{-/-} meurent avant la naissance due à des malformations cardiaques embryonnaires (Brannan, Perkins et al. 1994). Chez l'humain, elle est associée à des déficits cognitifs et une prévalence accrue de TSA (North 2000). Par ailleurs, les souris hétérozygotes pour le gène *NFI* (*NFI*^{+/-}) sont viables et présentent une altération dans la PLT-précoce ainsi des déficits d'apprentissage à l'épreuve dans le labyrinthe aquatique de Morris (Silva, Frankland et al. 1997). De manière intéressante, les souris ayant subi une délétion conditionnelle du gène *NFI* dans les interneurons se développent normalement, n'ont pas de tumeurs, mais présentent des déficits d'apprentissage une fois adulte (Cui, Costa et al. 2008).

Un autre modèle de souris a été développé pour le gène *PTEN*. Il encode le suppresseur de tumeur PTEN (*tumor suppressor Phosphatase and Tensin homolog on chromosome 10*) qui

agit comme un inhibiteur de la voie de signalisation IP3 (kinase-3 phosphatidylinositol). PTEN déphosphoryle les seconds messagers 3,4,5-triphosphate phosphatidylinositol (PIP3) et 4,5-diphosphate phosphatidylinositol (PIP2) ce qui réduit l'activité de Akt. Akt régule plusieurs autres protéines dont notamment le complexe TSC1/2 (voir Figure 3). Les souris hétérozygotes pour le gène *PTEN* (*PTEN*^{+/-}) présentent des défauts de différenciation neuronale ainsi qu'une arborisation et une croissance axonale et dendritique aberrante. Elles présentent également un comportement social inadapté et une réponse inappropriée aux stimuli sensoriels (Provenzano, Zunino et al. 2012).

Plusieurs modèles de souris ont été élaborés pour le complexe TSC1/2. De manière uniforme, une mutation d'une des deux protéines formant le complexe mène à une hyperactivation de mTOR engendrant une prolifération cellulaire accrue. Dans des modèles de souris hétérozygotes *Tsc1*^{+/-} et *Tsc2*^{+/-}, on observe des déficits d'apprentissage et de mémorisation contextuelle c.-à-d. lors de la discrimination de deux contextes (Goorden, van Woerden et al. 2007, Ehninger, Han et al. 2008). En plus des déficits comportementaux, des altérations de la plasticité synaptique sont aussi observés dans ces modèles. La délétion conditionnelle de *Tsc1* dans les neurones corticaux provoque des malformations dendritiques ainsi qu'une augmentation de l'excitabilité corticale (Tavazoie, Alvarez et al. 2005, Meikle, Talos et al. 2007). Fait intéressant, ces souris ne présentent pas de tumeurs contrairement aux humains atteints de TSC, ce qui laisse croire que ces tumeurs ne sont pas à l'origine des déficits cognitifs observés chez l'homme.

4.2 Dérégulation de la synthèse protéique dans les TSA

Les gènes mutés dans les divers troubles monogéniques associés à l'autisme encodant des régulateurs négatifs de la synthèse protéique (Kelleher and Bear 2008) (voir Figure 4). Comme mentionné précédemment, la TSC est une maladie dans laquelle la mutation des protéines hamartine (TSC1) et tubérine (TSC2) engendre des TSA (25% à 60%), des troubles cognitifs et de l'épilepsie (Wiznitzer 2004, Kwiatkowski and Manning 2005).

Les travaux de Lacaille et Sonenberg en 2013 ont permis de mieux comprendre le rôle de la synthèse protéique dans les TSA. Le facteur d'initiation de la traduction eucaryotique liant la protéine 2 (4E-BP2) est un répresseur de la protéine eIF4E (*eukaryotic translation initiation factor 4E*) en aval de mTOR. La perte de l'expression de ce facteur 4E-BP2 ou une surexpression de la protéine eIF4E chez des souris transgéniques engendre une augmentation de la traduction de neuroligines. Ces protéines sont impliquées dans la plasticité synaptique et sont fortement associées aux TSA (Gkogkas, Khoutorsky et al. 2013). Les souris transgéniques présentaient une altération de la balance excitation/inhibition et des comportements autistiques comme des déficits d'interaction sociale, des troubles de communication et des comportements stéréotypés. Comme le facteur 4E-BP2 est important dans la traduction d'ARNm en inhibant la protéine eIF4E, il en résulte une augmentation de la synthèse de protéines synaptiques. Cette constatation est cohérente avec l'hypothèse de l'hyperconnectivité et du déséquilibre de l'équilibre E/I dans les TSA (Rubenstein and Merzenich 2003).

4.2.1 TSC et la dérégulation de mTOR

TSC1 et 2 forme un complexe et en condition non stimulée, il exprime une forte activité GAP (*GTPase activating protein*) hautement spécifique à Rheb (homologue de Ras enrichie dans le cerveau) une GTPase de la superfamille Ras (Dan, Sun et al. 2002). Lorsqu'un facteur de croissance se lie à son récepteur, TSC2 est phosphorylé par Akt, mieux connu sous le nom de protéine kinase B (PKB). Cette phosphorylation engendre la perte de l'activité GAP de TSC2 ne lui permettant plus d'inactiver Rheb (Kwiatkowski and Manning 2005). Par ailleurs, Rheb est une GTPase atypique et possède une activité intrinsèque lui permettant d'être autonome (Garami, Zwartkruis et al. 2003). En absence de régulation, son activité est alors augmentée ce qui affecte directement la protéine mTOR dont elle en régule le niveau d'activité. Une fois Rheb activé, elle active mTOR via un mécanisme toujours inconnu. Par la suite, mTOR phosphoryle deux cibles, la kinase S6 ribosomale (S6K1 et 2) et le 4EBP2. La phosphorylation de ce dernier cause son détachement du facteur eIF4E initiant la traduction de protéines et la croissance cellulaire (Gkogkas, Sonenberg et al. 2010)

Dans la sclérose tubéreuse, il y a absence d'un complexe fonctionnel TSC1/TSC2 menant à une élévation de l'activité de Rheb. Ceci conduit à une activation de la signalisation mTOR qui est indépendante des facteurs de croissance et insensible aux contraintes énergétiques. Cette augmentation cause la synthèse d'un trop grand nombre de protéines notamment synaptiques, menant à une hyperconnectivité du circuit. Ce mécanisme serait donc proposé comme étant responsable des déficits cognitifs dans la TSC.

4.3 Déséquilibre de la balance excitation/inhibition dans les TSA

On retrouve des déficits dans la synthèse de protéines synaptiques dans plusieurs modèles de souris des TSA. De plus, lorsque l'on mute préférentiellement certains gènes tels que *Nf1* ou *Tsc* dans les interneurons, on observe des déficits cognitifs majeurs pouvant être causés par une perturbation du circuit inhibiteur. Il est donc tentant de penser qu'un débalancement entre la transmission excitatrice et inhibitrice pourrait expliquer les phénotypes que l'on observe chez ces modèles murins.

Cette hypothèse nous vient de John Rubenstein et Michael Merzenich qui ont publié un article en 2003 suggérant qu'une augmentation du ratio E/I est à l'origine des TSA (Rubenstein and Merzenich 2003). Cette augmentation du ratio E/I mène à une hyperexcitabilité du circuit qui corrobore les expériences montrant une réduction de la transmission inhibitrice dans le cerveau de patients autistes (Cellot and Cherubini 2014). Cette hypothèse expliquerait également la propension des jeunes autistes à développer de l'épilepsie. Comme il est également proposé que l'inhibition permet l'intégration sélective des influx excitateurs, un manque d'inhibition mènerait donc à un apprentissage «brouillon» où les informations seraient intégrées de manière imprécise. Il serait simpliste de penser que les troubles comportementaux et sociaux observés dans l'autisme sont uniquement dus à ce débalancement. En effet, les microcircuits sont infiniment complexes et peuvent présenter des ratios E/I totalement différents ayant chacun un impact sur le portrait global (Rubenstein and Merzenich 2003).

Par ailleurs, plusieurs observations suggèrent une diminution de la transmission inhibitrice dans les TSA. Bateup et coll. ont démontré en 2013 qu'une délétion du gène *Tsc1* dans les neurones de l'hippocampe menait à une diminution des influx inhibiteurs aux CP

(Bateup, Johnson et al. 2013). Or, il n'est pas encore clair, à savoir: quelle est la contribution des différents sous types cellulaires dans ce débalancement du ratio E/I.

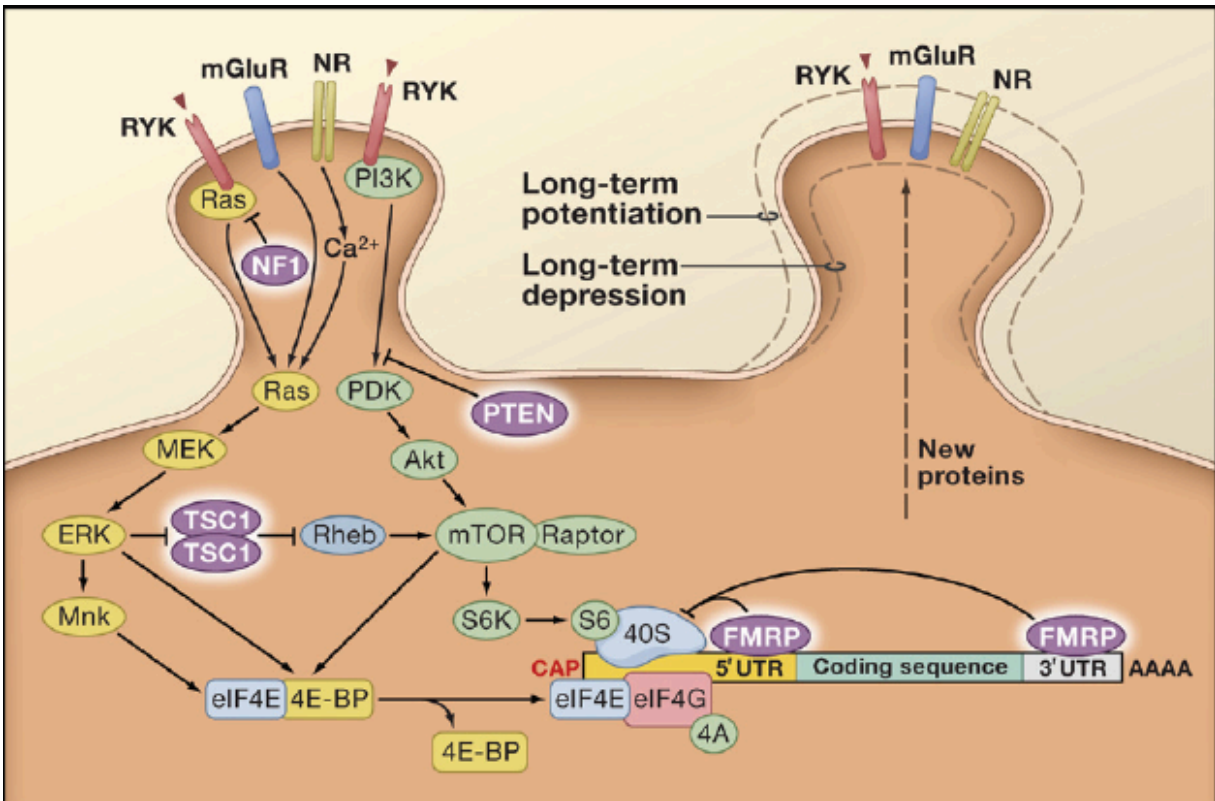


Figure 4. Voies de signalisation de la traduction. Les voies de signalisation Ras/ ERK et PI3K / mTOR couplent l'activité synaptique à la machinerie traductionnelle et jouent un rôle essentiel dans la PLT et la DLT dépendant de la synthèse des protéines. Ces voies de signalisation sont recrutées en aval de l'activation des récepteurs NMDA et les récepteurs de la neurotrophine Trk. La mutation de plusieurs régulateurs négatifs des voies ERK et mTOR, y compris NF1, PTEN, et TSC1 / 2, sont responsables de troubles génétiques avec une prévalence élevée de déficience cognitive et d'autisme. La FMRP réprime la traduction des ARNm cibles et la perte de l'expression du gène *Fmrp* conduit à une déficience cognitive et à l'autisme. Le complexe TSC1/TSC2 réprime la protéine mTOR via son action sur Rheb menant ultimement à une inhibition de la synthèse protéique. Adapté de (Kelleher and Bear 2008).

Chapitre 2. Objectifs du mémoire de maîtrise

Les interneurons jouent un rôle crucial dans la modulation des circuits neuronaux en filtrant les influx excitateurs arrivant aux CP. Cette modulation est absolument essentielle aux processus d'apprentissage et une perturbation de ce fragile équilibre peut engendrer des déficits cognitifs importants. Toutefois, on connaît encore trop peu le rôle de chacun des sous types d'interneurons dans les fonctions de l'hippocampe. On croit par ailleurs que les mécanismes modulant la transmission et la plasticité synaptique définissent le rôle de ces interneurons dans les fonctions de l'hippocampe (Perez, Morin et al. 2001, Lamsa, Heeroma et al. 2005). Plus encore, quels sont les mécanismes qui régulent la synthèse protéique dans ces interneurons et comment une perturbation de ces mécanismes peut-elle engendrer les déficits comportementaux observés?

Plusieurs modèles de souris pour des maladies neuro-développementales ont été élaborés et on permet de mieux comprendre comment opère cette machinerie complexe (voir section 4.1.1 de l'introduction). Plus de 90% des patients atteints de sclérose tubéreuse présenteront des troubles neuropsychiatriques incluant des comportements sociaux inadaptés, de l'épilepsie, des déficits d'apprentissage et des TSA (Davis, Peters et al. 2015). Ainsi, des modèles murins ont été élaborés afin de mieux comprendre l'origine de ces déficits. Ehninger et coll. ont démontré en 2008 que des souris *Tsc2*^{+/-} présentaient des altérations de la PLT dans la région CA1 de l'hippocampe menant à des déficits de discrimination dans le conditionnement à la peur par le contexte (Ehninger, Han et al. 2008). Ils ont également rapporté une hyperactivation de la protéine mTOR qui serait à l'origine des déficits de PLT observés dans l'hippocampe. En appliquant l'inhibiteur naturel de mTOR, la rapamcyine, ils ont été en mesure de restaurer la

PLT ainsi que les déficits de discrimination. Un autre modèle de souris, cette fois-ci ciblant le gène *Tsc1*, a été utilisé par Goorden et coll. en 2007. Ces souris *Tsc1*^{+/-} ont présenté des déficits d'apprentissage dans les tâches dépendantes de l'hippocampe, notamment la mémoire spatiale et le conditionnement à la peur par le contexte (Goorden, van Woerden et al. 2007).

Toutefois, ayant élaboré deux modèles dont la mutation se retrouve dans toutes les cellules de l'organisme, la contribution spécifique des interneurons dans ces déficits cognitifs restait encore méconnue. Quelle est la contribution de la dérégulation de la synthèse protéique au niveau des interneurons dans les mécanismes de plasticité synaptique et comment contribue-t-elle aux déficits neuraux observés chez les *Nkx2.1*^{C/+}; *TSC1*^{f/+}?

Pour répondre à ces questions, nous avons élaboré un nouveau modèle de souris transgénique. En utilisant le système Cre-Lox, nous avons généré des souris n'exprimant pas le gène *Tsc1* de manière conditionnelle dans les interneurons issus du MGE (Tricoire, Pelkey et al. 2011) exprimant le facteur de transcription *Nkx2.1* (*Nkx2.1*^{C/+}; *TSC1*^{f/+}). Nous avons d'abord voulu démontrer que les souris présentaient des déficits dans les tâches dépendantes de l'hippocampe, comme précédemment rapporté à l'aide du conditionnement à la peur par le contexte. Par la suite, nous avons voulu caractériser la transmission synaptique de base ainsi que les phénomènes de plasticité synaptique des cellules pyramidales à l'aide d'enregistrements en potentiel de champs sur tranches aiguës d'hippocampe.

Le présent mémoire a permis de mettre en lumière dans un nouveau modèle de souris *Tsc1*^{+/-} spécifique aux interneurons, le rôle de la dérégulation de la synthèse protéique au niveau des interneurons dans la plasticité synaptique aux CS. Ces données viennent confirmer que les interneurons sont indispensables pour la discrimination de la mémoire à long terme et

qu'une perturbation de la machinerie menant à la synthèse de protéines dans les interneurons et ultimement à la plasticité synaptique pourrait être à l'origine de ces déficits. Ces conclusions ouvrent de nouvelles pistes de réflexion quant aux processus de plasticité synaptique s'opérant dans les interneurons et aux rôles de ceux-ci dans l'apprentissage et la mémoire dépendante de l'hippocampe.

Chapitre 3. Les méthodes

1. Animaux

Les expériences ont été réalisées selon les normes du comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux (CDEA) de l'Université de Montréal. Les souris ont été hébergées en groupe de 2 à 4 animaux par cage et maintenues dans des conditions d'élevage standard (cycle jour/nuit de 12 heures, température contrôlée) ayant un accès libre à de l'eau et de la nourriture. Les expériences ont été réalisées durant la phase de jour du cycle.

Nous avons utilisé le système *Cre-lox* pour générer des souris avec une délétion hétérozygote du gène *Tsc1* spécifiquement dans les interneurons provenant de l'éminence ganglionnaire médiale (EMG) et exprimant le facteur de transcription Nkx2.1 (Fishell 2007). Ces interneurons correspondent principalement aux types d'interneurons néocorticaux et hippocampiques exprimant soit la somatostatine (SOM) ou la parvalbumine (PV) (Fishell 2007, Tricoire, Pelkey et al. 2011). Des souris Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+} (mutantes) ont été générées en croisant des souris transgéniques Nkx2.1^{Cre/+} exprimant l'enzyme Cre recombinase sous le contrôle du promoteur de Nkx2.1 (souris Nkx2.1^{Cre/+}, The Jackson Laboratory^{MD} stock 008661) et des souris dont les exons 17 et 18 du gène *Tsc1* sont flanqués de deux sites *lox p* (souris Tsc1^{f/f}, The Jackson Laboratory^{MD} stock 005680). Les souris Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+} ont été croisées afin de produire, dans la même portée, des souris témoins (Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}) et des souris mutantes hétérozygotes (Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}).

Les études de comportements ont été réalisées sur les mâles. Les expériences électrophysiologiques ont été réalisées sur les souris des deux sexes.

2. Conditionnement à la peur par le contexte

Avant les expériences de conditionnement, les souris ont été manipulées quotidiennement pour trois jours (1 minute par souris) afin de les acclimater à l'expérimentateur et à leur manipulation durant les expériences. Les souris utilisées étaient âgées entre 8 et 12 semaines. Les expériences ont été effectuées à l'aveugle quant au génotype des souris.

Le protocole de conditionnement à la peur par le contexte est basé sur Ruediger et collègues (Ruediger, Vittori et al. 2011) avec quelques modifications. Le protocole est représenté schématiquement à la Figure 6. Les souris ont été entraînées dans des chambres de conditionnement installées dans des cellules d'isolement étanches au son et à la lumière (Coulbourn Instruments). Les chambres contenaient un plancher grillagé en acier inoxydable, un éclairage D.E.L., une caméra et un système de ventilation produisant un bruit environnant de 60dB. Le contexte d'apprentissage était rectangulaire, contenant des murs transparents et nettoyés entre les essais avec de l'acide acétique 1%. Le contexte nouveau a été considéré comme différent du contexte d'apprentissage et était de forme triangulaire, contenant un plancher de plexiglas et des murs transparents et nettoyés avec de l'éthanol 70% entre les essais. Au moment du conditionnement, les souris ont pu explorer la chambre de conditionnement durant 2,5min avant de recevoir 5 décharges électriques de 0,8mA d'une durée de 1 seconde. Au jour test de mémoire à long terme 24h plus tard, les souris ont été placées de nouveau durant 2,5min dans le contexte d'apprentissage. Pour mesurer la capacité de discrimination, les souris ont été introduites dans le nouveau contexte 5h après le test de mémoire. Le temps passé immobile a chaque fois été quantifié à l'aide du logiciel FreezeFrame (Coulbourn Instruments). Le ratio de discrimination a été calculé comme étant le temps passé immobile selon l'équation suivante $(\text{contexte d'apprentissage})/(\text{contexte d'apprentissage} + \text{nouveau contexte})$

(Anagnostaras, Murphy et al. 2003). Un ratio de 1 signifie que les souris ont présenté une capacité de discrimination complète. Un ratio de 0,5 signifie qu'elles ont présenté une absence de discrimination.

3. Enregistrements électrophysiologiques

3.1 Préparation des tranches d'hippocampe in vitro:

Des tranches aiguës d'hippocampe ont été préparées à partir des souris mutantes $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ et des souris contrôles $Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}$ âgées entre 10-14 semaines. Les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'isoflurane puis le cerveau a été rapidement retiré et entreposé dans une solution physiologique de liquide cérébro-spinal artificiel (LCSA) mi-gelé mi-liquide oxygéné (95% d'O₂ et 5% de CO₂) contenant (en mM) : 120NaCl, 20 NaOHCO₃, 3,5 KCl, 2,5 CaCl₂, 1,3 MgSO₄, 1,25 NH₂PO₄ et 10 D-glucose, pH 7,4 à 295mosm/L. Après avoir séparé les deux hémisphères, les blocs de tissu ont été collés par leur base antérieure (coupe coronale) avec un angle de 45° sur une plateforme de coupe. Des coupes transversales d'hippocampe de 300µm ont été effectuées à l'aide d'un vibratome Leica VT1000S puis incubées 2h dans un bain-marie contenant du LCSA à une température de 32°C contenant du LCSA oxygéné de même composition. Chaque tranche a été subséquemment maintenue avec un filet puis incubée 20min dans la chambre d'enregistrement à 28°C et oxygénée (95% d'O₂ et 5% de CO₂) dans du LCSA de même composition.

3.2 Enregistrements de potentiels de champs

Les enregistrements de potentiel de champs excitateur postsynaptique (fEPSP) ont été réalisés sur tranches aiguës d'hippocampes comme précédemment décrits (Vasuta, Artinian et al. 2015) dans la *stratum radiatum* de la région CA1 de l'hippocampe. Les CS ont été stimulées (durée de 0,1ms ; 30 s^{-1}) avec deux électrodes de stimulation (Bipolaires concentriques = FHC) dans la *stratum radiatum* de la région CA1 puis les potentiels de champ ont été enregistrés avec une électrode en verre (résistance = 1–3 M Ω , WPI).

Les signaux électriques ont été amplifiés à l'aide d'un amplificateur extracellulaire différentiel (Microelectrode AC 14 Amplifier Model 1800, A-M Systems), filtrés à 2kHz, numérisés à l'aide d'un digitaliseur à 10kHz (Digidata 15 1440A) et analysés avec pClamp10 (Molecular Devices). L'intensité de la stimulation a été ajustée pour produire 40% du fEPSP maximal. La transmission synaptique de base a été mesurée en enregistrant les fEPSP en réponse à une stimulation progressive (20-180 μ A, palier de 20 μ A). La plasticité à court terme (facilitation) a été mesurée en calculant le rapport du deuxième fEPSP sur le premier à différents intervalles entre les paires de stimulations (20, 50, 80, 120, 150 ms).

La PLT-précoce a été induite aux synapses des CS à l'aide de l'électrode de stimulation positionnée dans la *stratum radiatum*. Un protocole de stimulation à haute fréquence (HFS; 1s, 100Hz) ainsi qu'un protocole de 4 stimulations en rafale d'ondes thêta (4XTBS) ont été utilisés. Chaque train de TBS consiste en 3 épisodes (à intervalle de 30s) de 5 rafales d'ondes thêta (à intervalle de 250ms) comprenant 4 stimulations de 100Hz (Perez, Morin et al. 2001). La PLT-tardive a été induite avec un protocole de 15XTBS avec une électrode de stimulation positionnée dans la *stratum radiatum*.

Les fEPSP ont été enregistrés à l'aide d'une électrode en verre bipolaire thêta remplie d'une solution de LCSA positionnée entre les deux électrodes de stimulation dans la *stratum radiatum* de la région CA1 de l'hippocampe (voir Figure 5).

4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Graph Pad 6.0. Des tests d'ANOVA (un et deux facteurs) pour les comparaisons entre les génotypes et des tests de T (non pairés) pour les comparaisons au sein d'un même génotype ont été utilisés pour toutes les analyses statistiques effectuées. Dans les figures, les données sont présentées sous forme de moyenne arithmétique et d'erreur standard de la moyenne (moyenne \pm SEM). Les astérisques représentent la signification statistique calculée par le test statistique spécifié (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$; ns, non significatif).

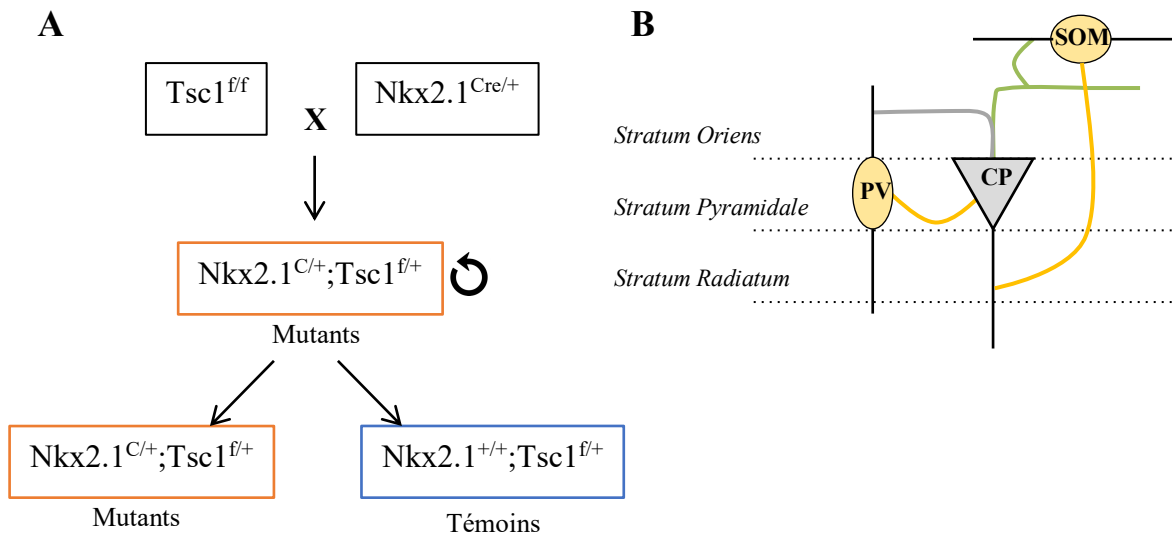


Figure 5. Schéma illustrant le protocole de croisement du modèle de souris Tsc1 ainsi que la localisation hippocampique des interneurones ciblés dans ce modèle (A) Schéma explicatif du protocole de croisement du modèle Tsc1. Des souris Tsc1^{fl/fl} ont été croisées avec des souris Nkx2.1^{Cre/+} puis les progénitures ont été entrecroisées afin de générer les souris mutantes Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{fl/+} (rouge) et les souris témoins Nkx2.1^{+/+}; Tsc1^{fl/+} (bleu). (B) Schéma représentant les interneurones exprimant Nkx2.1 ainsi que la parvalbumine (PV) ou la somatostatine (SOM). Les cellules pyramidales (CP) de la région CA1 de l'hippocampe sont aussi représentées.

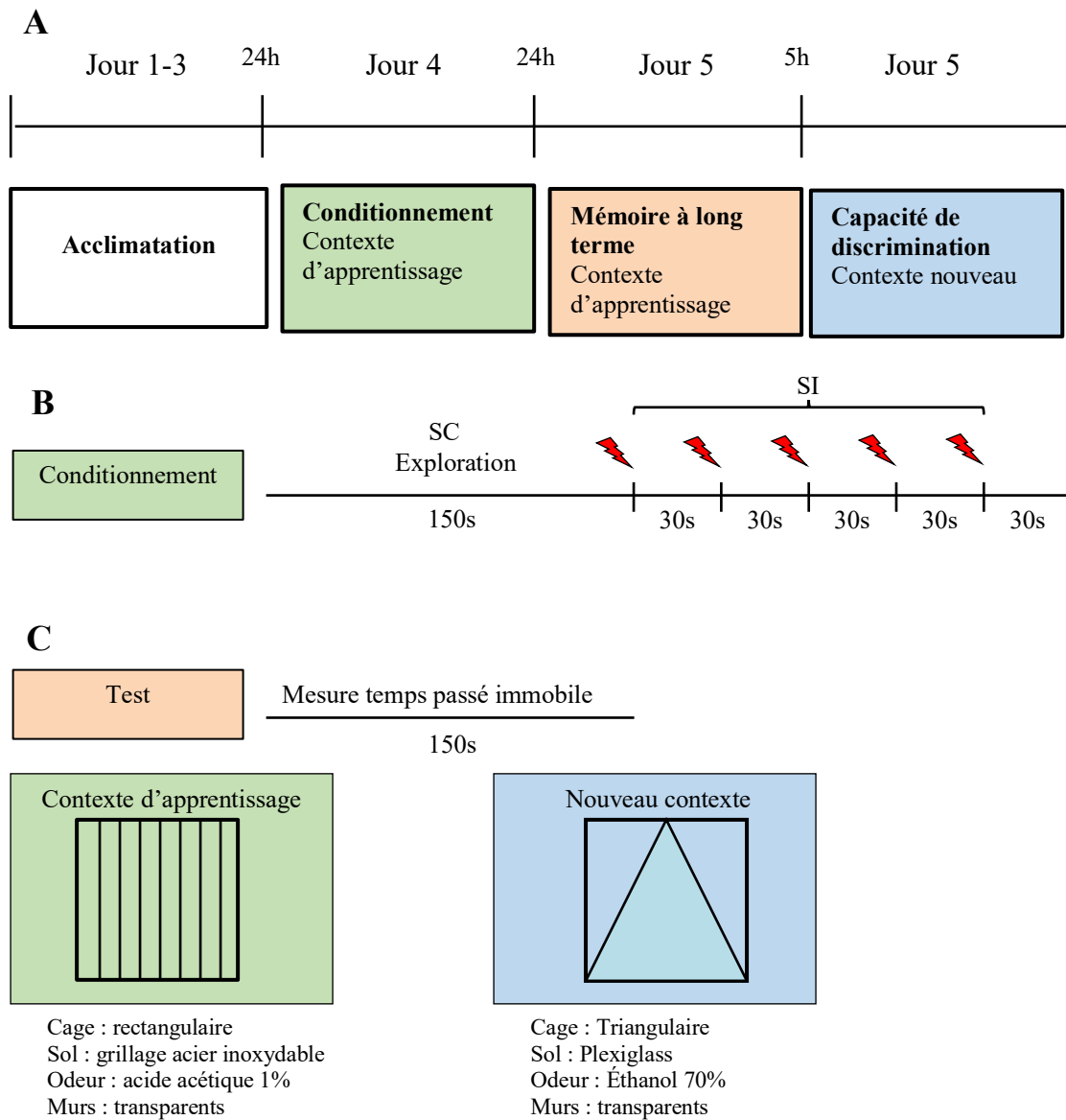


Figure 6. Schéma présentant le protocole de conditionnement contextuel par la peur. A.

La séquence dans le temps des étapes du protocole de conditionnement à la peur par le contexte.

B. Illustration présentant le protocole de conditionnement contextuel. Après une période

d'exploration (stimulus conditionnel [SC]) de 150 secondes, 5 décharges électriques de 0,8mA

sont données à intervalle de 30s (stimulus inconditionnel [SI]). **C.** Illustration du test de mémoire

contextuelle à long terme (Test) 24 heures après le conditionnement dans le contexte d'apprentissage (orange). Le nouveau contexte (bleu) a été utilisé pour le test de discrimination 5h après le test.

Chapitre 3. Les résultats

1. Les souris $Nkx2.1^{C/+};TSC1^{f/+}$ présentent un déficit de discrimination de mémoire contextuelle

Les souvenirs reliés à la peur guident les comportements adaptatifs dans des contextes associés à des évènements aversifs. L'hippocampe forme une représentation neuronale du contexte qui prédit ces évènements aversifs. Il est donc essentiel dans la discrimination de contextes pouvant contenir des éléments aversifs (O'Keefe and Dostrovsky 1971, Frankland, Cestari et al. 1998).

Il a été démontré que les interneurons exprimant la somatostatine ont un rôle important dans le conditionnement à la peur par le contexte. En effet, l'inactivation de ces interneurons ciblant les dendrites apicales des CP pendant l'intégration de stimuli aversifs a augmenté l'activité des CP et a empêché l'apprentissage (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014). Ehninger et coll. ont quant à eux rapportés un déficit de discrimination dans le conditionnement à la peur par le contexte dans le modèle de souris $Tsc2^{+/-}$ (Ehninger, Han et al. 2008). Ces souris, hétérozygotes pour le gène $Tsc2$ dans toutes les cellules de l'organisme, n'ont présenté aucune difficulté à apprendre la tâche de conditionnement. Le temps passé immobile (*freezing*) était similaire aux témoins durant le test de mémoire à long terme 24h plus tard. Cependant, elles n'ont pas été en mesure de discriminer deux contextes (apprentissage VS nouveau), montrant que la perte hétérozygote du gène $Tsc2$ semble engendrer des déficits cognitifs. Ainsi, on comprend qu'il semble y avoir un lien direct entre l'inhibition et l'apprentissage dépendant de l'hippocampe. Cependant, le modèle de souris $Tsc2^{+/-}$, ni aucun autre modèle, ne permettait d'étudier le rôle direct des interneurons dans ces déficits.

Nous avons donc voulu mesurer l'impact de la perte hétérozygote du gène *Tsc1* dans les interneurons sur la mémoire contextuelle à l'aide de l'épreuve du conditionnement à la peur par le contexte. D'abord, le comportement exploratoire ainsi que le niveau d'anxiété des souris ont été contrôlés en soumettant les souris au test du champ ouvert ne démontrant aucune différence avec les contrôles. Le test n'a démontré aucune différence significative entre les groupes, signifiant que le niveau d'anxiété et la capacité à se déplacer étaient similaires entre les groupes. (Données non présentées effectuées par Ilse Reibe stagiaire post doctorale).

Par la suite, les souris ont été soumises au protocole de conditionnement à la peur par le contexte. Les souris mutantes *Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}* ont présenté un pourcentage de temps passé immobile comparable aux témoins durant le conditionnement démontrant une capacité de perception intacte (témoins = $24,27 \pm 2,89\%$ et mutantes = $28,52 \pm 4,25\%$; Figure 6a).

Au cours du test de mémoire à long terme 24h plus tard aucune différence entre les groupes n'a été trouvée, démontrant une mémoire contextuelle intacte (témoins = $63,50 \pm 5,88\%$ et mutantes = $63,18 \pm 6,35\%$; Figure 6b).

Cependant, lorsqu'exposées à un nouveau contexte, les souris mutantes *Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}* ont passé plus de temps immobiles dans ce nouveau contexte que les souris témoins (témoins = $18,37 \pm 3,17\%$ et mutantes = $27,63 \pm 3,9\%$; test de t, $p < 0,05$; Figure 6c) en plus de présenter un ratio de discrimination significativement plus faible démontrant un déficit dans la discrimination de la mémoire contextuelle (témoins = $0,80 \pm 0,02$; mutantes = $0,71 \pm 0,01$; test de t, $p < 0,01$; figure 6d).

Ces résultats montrent que le modèle de souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ présentant une délétion conditionnelle du gène *Tsc1* dans les interneurons du MGE présente : une réponse non conditionnelle intacte, un apprentissage et une mémoire à long terme intacts, ainsi qu'un déficit de mémoire contextuelle.

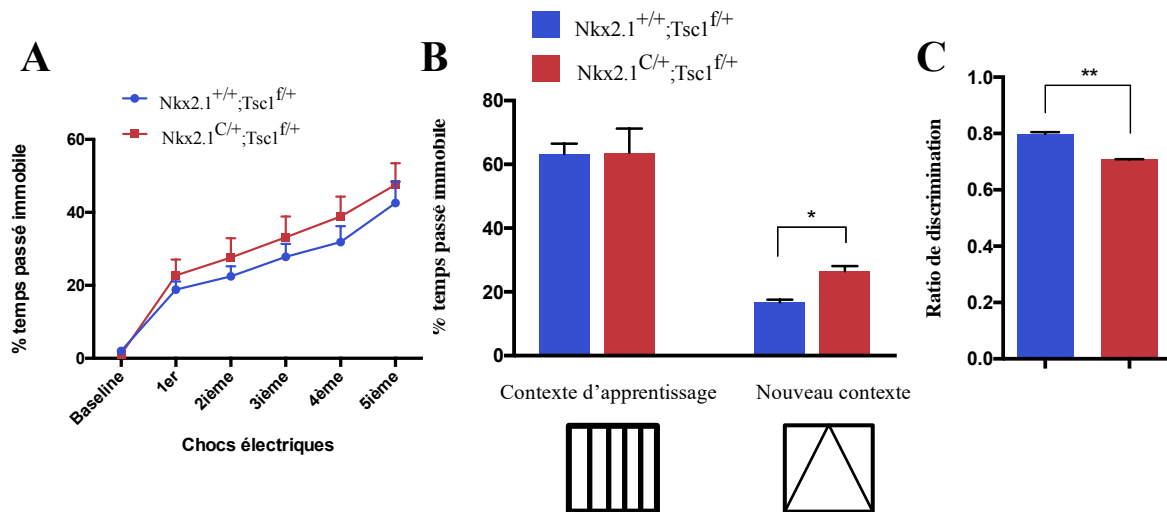


Figure 7. Les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ présentent un déficit de discrimination de contexte de mémoire contextuelle. (A) Le % du temps passé immobile dans le contexte d'apprentissage lors du conditionnement en fonction des 5 chocs délivrés aux pattes (souris mutantes $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ (bleu) et témoins $Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}$ (rouge)) **(B)** Histogramme représentant le % de temps passé immobile lors du test de mémoire à long terme dans le contexte d'apprentissage et le nouveau contexte 24h et 5h respectivement après le conditionnement où les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ ont passé plus de temps immobile dans le nouveau contexte (test de t, *, $p < 0,05$). **(C)** Histogramme représentant le ratio de discrimination entre le % de temps passé immobiles dans le contexte d'apprentissage par

rapport au nouveau contexte, qui est plus faible chez les souris mutantes (test de t, **, $p < 0,01$).

2. La transmission synaptique excitatrice est inchangée chez les $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$

L'inhibition joue un rôle important dans l'intégration postsynaptique, notamment au niveau des CS. Il a été démontré dans un modèle de souris $Tsc1^{+/-}$ que des neurones en culture issus de ces souris, présentent une augmentation de leur activité excitatrice spontanée (Bateup, Johnson et al. 2013), suggérant que la perte du gène $Tsc1$ cause une hyperexcitabilité de ces neurones. Le laboratoire Lacaille a démontré que les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ présentent une transmission inhibitrice altérée. En effet, les courants postsynaptiques inhibiteurs (IPSC) induit par stimulation optogénétique des interneurons exprimant $Nkx2.1$ sont réduits aux CP, signifiant qu'elles sont moins inhibées par les interneurons SOM et PV. En somme, cette mutation peut influencer les propriétés synaptiques aux CS et possiblement expliquer les déficits cognitifs observés.

2.1 La transmission synaptique de base est intacte chez les souris

$Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$

Ainsi, nous avons d'abord mesuré la transmission synaptique de base à l'aide d'enregistrements de potentiels de champs sur tranches aiguës d'hippocampe (fEPSP). En utilisant un protocole de stimulation d'intensité progressive (20 à 300mA déterminé en fonction de l'entrée et sortie des synapses des CS des CP), nous avons enregistré les fEPSP puis comparé les données normalisées au niveau de base entre les souris mutantes et

témoins. Les résultats ne démontrent aucune différence entre les deux groupes (Figure 7a) signifiant que la transmission synaptique de base est intacte chez les souris mutantes $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. Ces résultats sont aussi en accord avec ceux d'Ehninger et coll. dans leur modèle de souris $Tsc2^{+/-}$ où la transmission synaptique de base est intacte chez les souris mutantes (Ehninger, Han et al. 2008).

2.2 La plasticité synaptique à court terme est intacte chez les souris

$Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$

Nous avons caractérisé les phénomènes de plasticité synaptique à court terme. À l'aide d'un protocole de stimulation pairée, des enregistrements de fEPSP ont été réalisés et n'ont démontré aucune différence entre les souris mutantes et les contrôles (Figure 7b). Encore une fois, ces résultats sont en accord avec ce qui a précédemment été décrit dans un modèle de $Tsc2^{+/-}$ (Ehninger, Han et al. 2008). Ceci démontre que plusieurs aspects de la transmission synaptique sont intacts chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$.

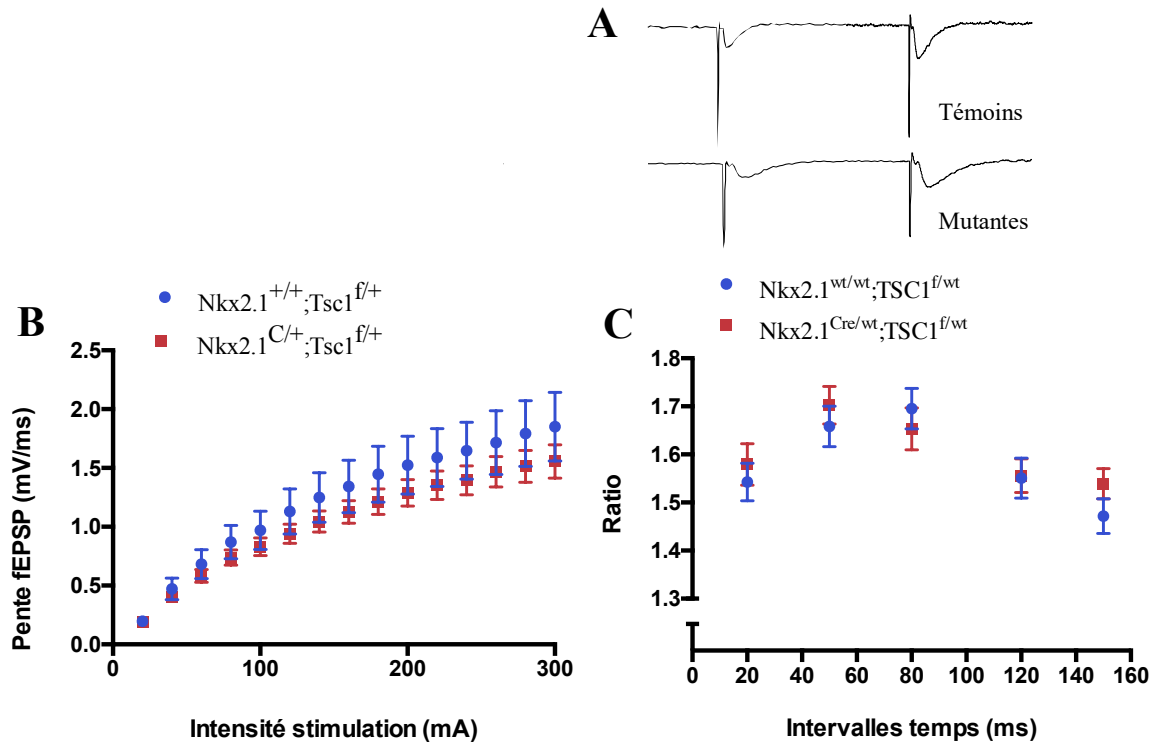


Figure 8. La transmission synaptique de base et la plasticité à court terme sont inchangées chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. (A) Traces représentatives. (B) Graphique illustrant la pente des fEPSP en fonction de l'intensité de stimulation appliquée (20-300mA). Aucune différence n'a été observée entre les souris témoins $Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}$ (bleu) et les souris mutantes $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ (rouge). (C) Graphique illustrant le ratio du deuxième fEPSP sur le premier fEPSP suite à un protocole de stimulation pairée (20, 50, 80, 120, 180ms). Aucune différence n'a été observée entre les deux groupes à tous les temps étudiés; ANOVA, $F_{(9,35)} = 01863$, $p = 0,2022$.

3. La PLT est inchangée chez les $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$

La plasticité synaptique dépendante de l'activité dans l'hippocampe comme la PLT joue un rôle majeur dans l'apprentissage et la mémoire (Bliss and Collingridge 1993). Afin de déterminer si les processus de plasticité synaptique sont altérés chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$, nous avons enregistré des potentiels de champs sur tranches aiguës d'hippocampe chez les souris témoins et mutantes. Ehninger et coll. ont également démontré une PLT modifiée dans leur modèle de souris $Tsc2^{+/-}$ (Ehninger, Han et al. 2008).

3.1 La PLT-précoce induite par le protocole 1XSHF est de plus faible magnitude chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$

La PLT-précoce a été induite à l'aide de deux protocoles différents; 1 stimulation à haute fréquence (1XSHF) et 4 stimulations thêta (4XTBS). Avec l'utilisation du protocole de 1XSHF, on observe une différence significative lorsque l'on compare l'intervalle des 10 dernières minutes d'enregistrements post-tétanisation entre les souris témoins et les mutantes (témoins = $126,81 \pm 0,06\%$ du fEPSP de base et mutantes = $112,05 \pm 0,03\%$ du fEPSP de base, test de t, $p < 0,05$) (Figure 8). Par ailleurs, les deux groupes présentent de la PLT après 1h d'enregistrement post-tétanisation lorsque l'on compare les 10 dernières minutes pré-tétanisation et les 10 dernières minutes post-tétanisation. Il n'y a donc pas de déficit dans l'induction de la PLT-précoce chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$, cependant la magnitude de cette dernière est significativement plus basse que les témoins avec l'utilisation du protocole 1XHFS.

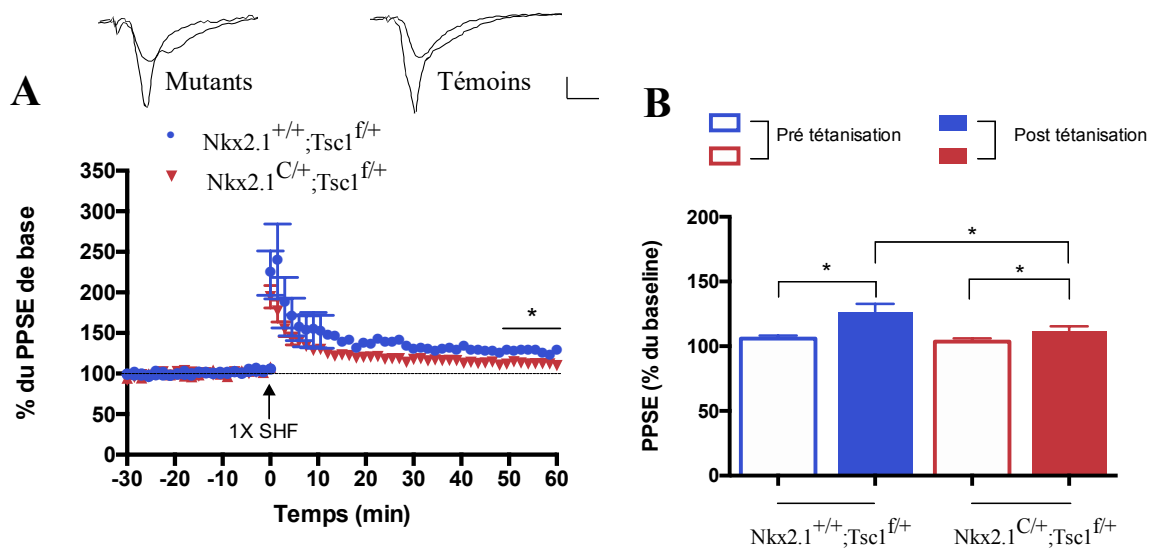


Figure 9. La PLT-précoce induite par le protocole 1XSHF est de plus faible magnitude chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. (A) Graphique illustrant la pente des fEPSP durant la phase du niveau de base (-30min à 0min) et après l'induction de la PLT (stimulation de 1-s, 100Hz) chez les souris témoins ($Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}$, bleu) et mutantes ($Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$, rouge). Les données sont groupées en bloc de 5min et montrent une différence significative entre les témoins et les mutants au terme des 10 dernières minutes d'enregistrements post-tétanisation (tranches témoins, n= 10 de 6 souris, tranches mutantes, n= 11 de 6 souris, ANOVA comparant les 10 dernières minutes d'enregistrement entre les deux groupes, $F_{(3,50)} = 7,206$, $p = 0,04$). Échelle de calibration : 5ms, 0,5mV. Traces représentatives illustrées. (B) Histogramme démontrant la pente des fEPSP en fonction du niveau de base (pré-tétanisation, 100%) et post téτανisation chez les souris témoins (bleu) et les mutantes (rouge); ANOVA, $F_{(3,50)} = 7,206$, $p = 0,0004$. Un test de comparaison multiple (Tukey) à montré une différence significative entre les 10 minutes pré et post téτανisation chez les témoins et les mutants, $p = 0,001$, $p = 0,04$ respectivement; *, $p < 0,05$.

3.2 La PLT-précoce induite par le protocole 4XTBS est inchangée chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$.

Afin de mieux comprendre la portée des résultats et de comprendre comment ceux-ci diffèrent de ce qu'Ehninger et coll. obtenus avec la stimulation à haute fréquence (SHF), un autre protocole a été utilisé pour induire la PLT-précoce aux CS. Ce protocole, de 4XTBS, induit une PLT-précoce similaire à celle induite par le protocole SHF (Hernandez, Navarro et al. 2005). Aucune différence significative n'a été observée entre les souris témoins et mutantes pour les mêmes intervalles de temps précédemment décrits (témoins = $119,40 \pm 4,76\%$ du fEPSP de base ; mutantes = $129,55 \pm 0,07\%$ du fEPSP de base).

Ces résultats démontrent qu'il n'y a pas d'altération dans l'induction de la PLT-précoce chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ et ce, malgré l'utilisation de deux protocoles différents (1XHFS et 4XTBS). Par ailleurs, la magnitude de la PLT induite chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ avec l'utilisation de la stimulation SHF est significativement plus basse que celle induite chez les souris témoins. En d'autres mots, la stimulation SHF semble produire une PLT de plus grande amplitude chez les souris témoins comparativement aux souris contrôles. Cependant, le protocole de stimulation TBS a induit une PLT similaire entre les deux groupes, soulevant un doute quant au rôle de la mutation du gène $Tsc1^{+/-}$ sur la magnitude de la PLT précoce.

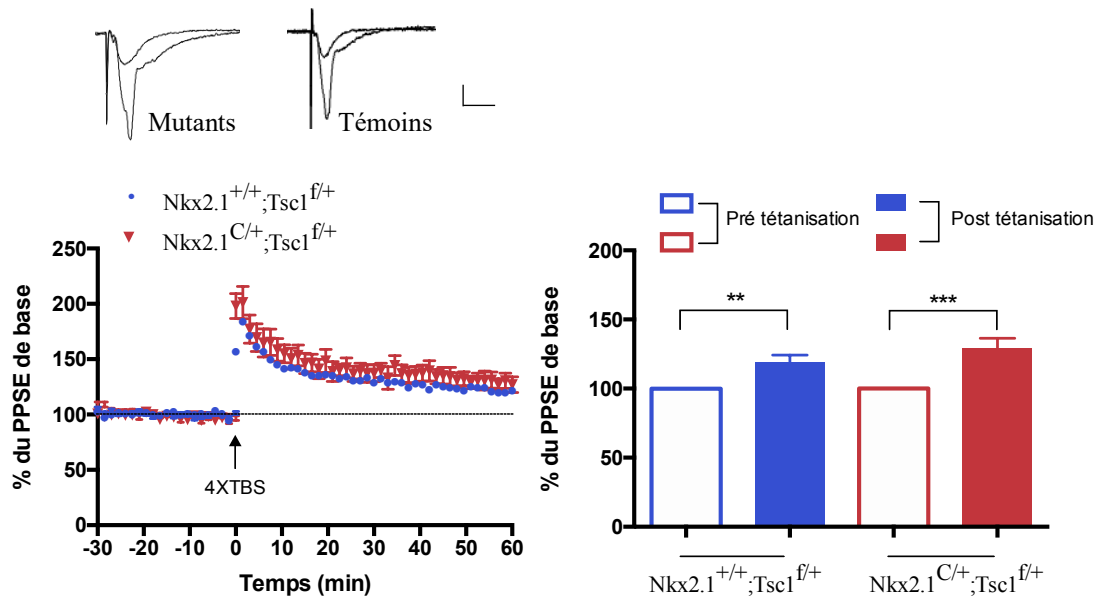


Figure 10. La PLT-précoce induite par le protocole 4XTBS est inchangée chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. (A) Graphique illustrant la pente des fEPSP durant le la phase d'acquisition du niveau de base (-30min à 0min) et après l'induction de la PLT (4 stimulations TBS) chez les souris témoins ($Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}$, bleu) et mutantes ($Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$, rouge). Les données sont groupées en bloc de 5min et ne montrent aucune une différence significative entre les témoins et les mutants au terme des 10 dernières minutes d'enregistrements post-tétanisation (tranches témoins, n= 12 de 7 souris, tranches mutantes, n= 12 de 6 souris, ANOVA, $F_{(3, 34)} = 12,00$, $p = 0,355$). Échelle de calibration : 5ms, 0,5mV. Traces représentatives illustrées. (B) Histogramme démontrant le % des fEPSP en fonction du niveau de base (pré-tétanisation, 100%) et post tétanisation chez les témoins (bleu) et les mutants (rouge) qui présentent tous deux de la potentialisation post tétanisation; ANOVA comparant les 10 dernières minutes du niveau de base aux 10 dernières minutes d'enregistrement; $F_{(3, 34)} = 12,00$, $p = 0,0003$, un test de comparaison

multiple (Tukey) à démontré une différence significative chez les deux groupes, $p = 0,02$ et $p = 0,0001$ respectivement; ** $p < 0,01$, *** , $p < 0,001$).

3.3 La phase tardive de la PLT est inchangée chez les souris

Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}.

La phase tardive de la PLT est dépendante de la synthèse protéique (Frey, Krug et al. 1988). De plus, dans le modèle de souris *Tsc2^{+/-}* étudié par Ehninger et coll., une PLT-tardive, qui s'est maintenue sur 4 heures, a été induite avec le protocole d'induction de PLT-précoce 1XSHF (Ehninger, Han et al. 2008). Ainsi, sachant qu'une mutation du complexe TSC1/2 induit une hyperactivation de la protéine mTOR ainsi qu'une augmentation de la synthèse protéique, nous avons voulu investiguer les effets de la mutation dans notre modèle de souris sur la PLT-tardive.

Un protocole de 15XTBS a été utilisé pour induire la PLT-tardive et des enregistrements de fEPSP ont été réalisés sur des tranches aiguës d'hippocampe de souris témoins (*Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}*) et mutantes (*Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}*). Les deux groupes ont présenté de la PLT-tardive (témoins = $128,99 \pm 0,08\%$ du fEPSP de base; Mutants = $138,12 \pm 0,05\%$ du fEPSP de base, test de t, **, $p < 0,01$, ***, $p < 0,001$) et aucune différence n'a été observée entre les deux groupes sur l'intervalle des 10 dernières minutes d'enregistrement post-tétanisation). Ces résultats démontrent qu'avec un protocole d'induction de 15XTBS, les deux groupes présentent sans différence significative de la PLT-tardive 3 heures après téτανisation.

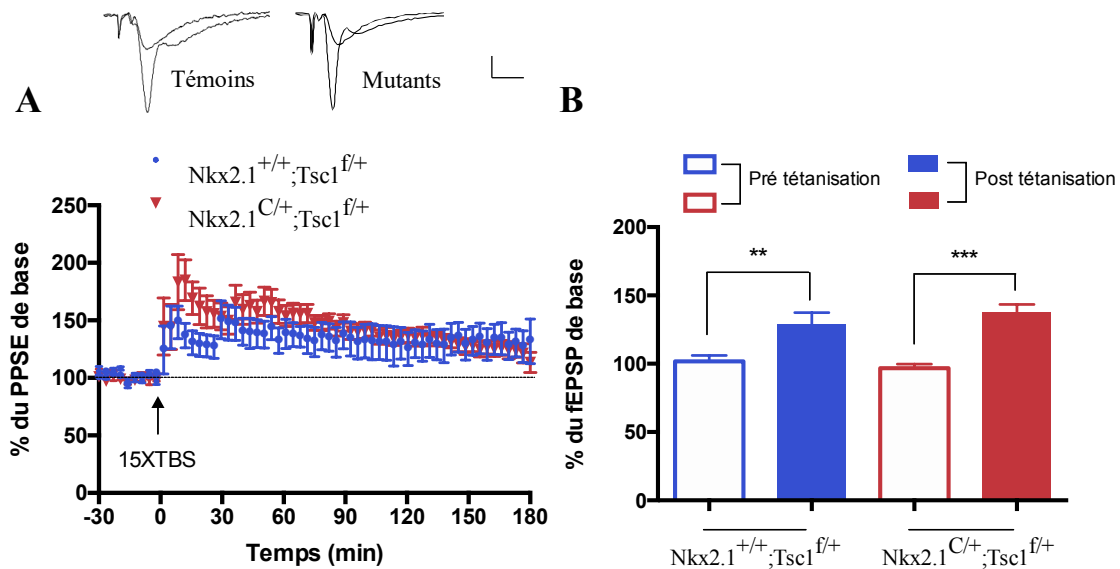


Figure 11. La PLT-tardive induite par le protocole 15XTBS est inchangée chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. (A) Graphique illustrant la pente des fEPSP enregistrée durant l'acquisition du niveau de base (-30min à 0min) et après l'induction de la PLT (15 stimulations TBS) chez les souris témoins ($Nkx2.1^{+/+};Tsc1^{f/+}$, bleu) et mutants ($Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$, rouge). Les données sont groupées en bloc de 5min et ne montrent aucune différence significative entre les témoins et les mutants au terme des 10 dernières minutes d'enregistrements post-tétanisation (tranches témoins, n= 6 de 4 souris, tranches mutantes, n= 10 de 5 souris, ANOVA, $F_{(3, 28)} = 16,89$, $p = 0,62$). Échelle de calibration : 5ms et 0,5mV. Traces représentatives illustrées. (B) Histogramme démontrant le % des pentes des fEPSP enregistrées en fonction du baseline pré-tétanisation et post téτανisation chez les contrôles (bleu) et les mutants (rouge) présentant tous deux une potentialisation post téτανisation; ANOVA, $F_{(3, 28)} = 16,89$, $p = 0,0003$, un test de comparaison multiple

(Tukey) à démontré une différence significative chez les deux groupes, $p = 0,02$ et $p = 0,0001$ respectivement, **, $p < 0,01$, ***, $p < 0,001$).

Chapitre 4. Discussion

4.1 Rappel des principaux objectifs et résultats

Les objectifs du présent mémoire étaient les suivants :

1. Évaluer la possibilité de l'existence d'un déficit de discrimination chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ à l'aide du conditionnement à la peur par le contexte.
2. Caractériser la transmission synaptique de base et les processus de plasticité à court terme chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$.
3. Caractériser la plasticité synaptique et plus précisément les phases précoces et tardives chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$.

La réalisation de ces objectifs vise à mieux comprendre le rôle des interneurones PV et SOM dans l'apprentissage dépendant de l'hippocampe. Nous avons tenté de mesurer l'impact de la dérégulation de la synthèse protéique dans ces interneurones et son rôle dans les déficits cognitifs dans un modèle de souris $Tsc1^{+/-}$.

En lien avec ces objectifs, les résultats indiquent :

1. D'une part, les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ présentent un apprentissage et une mémoire contextuelle à long terme intacte, mais un déficit de discrimination dans le conditionnement à la peur par le contexte.
2. D'autre part, la transmission synaptique de base et les processus facilitation sont inchangés.
3. Par ailleurs, la PLT-précoce induite est de plus faible magnitude chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ en utilisant un protocole de 1XHFS alors qu'elle est inchangée par rapport aux contrôles avec un protocole de 4XTBS.

4. En dernier lieu, la PLT-tardive est inchangée par rapport aux témoins en utilisant un protocole de 15XTBS.

Ces résultats dévoilent la présence de déficits de discrimination dans un nouveau modèle de souris *Tsc1^{+/-}* qui cible spécifiquement les interneurons PV et SOM. La caractérisation de la transmission synaptique de base et de la plasticité synaptique a permis de démontrer la présence de différences au niveau de la PLT-précoce qui dépendent du protocole employé. On a observé une PLT-tardive intacte ainsi qu'un PLT-précoce intacte dans les expériences réalisées avec la stimulation 4 XTBS laissant des doutes sur la validité du déficit de PLT-précoce trouvé avec la stimulation SHF. Ces résultats nous permettent de faire un lien direct entre deux sous-catégories d'interneurones, les PV et les SOM et les déficits cognitifs dans un modèle de souris TSC. De plus, nos résultats abondent dans le sens de la théorie voulant qu'un débalancement de l'équilibre E/I soit à l'origine des troubles cognitifs retrouvés dans les TSA. Cela ouvre la porte à d'éventuels modèles animaux nous permettant de raffiner notre compréhension du rôle des interneurons dans les TSA notamment en générant un modèle $PV^{C/+}-Tsc1^{f/+}$ et $SOM^{C/+}-Tsc1^{f/+}$.

4.2. Caractérisation du modèle de souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$

La mutation exprimée par notre modèle de souris est une mutation responsable de la sclérose tubéreuse (TSC) et a été démontrée comme reproduisant certains déficits associés à cette maladie. De plus, les modèles de souris homozygotes $Tsc1^{-/-}$ ne sont pas viables et meurent in utéro, d'où la nécessité d'utiliser un modèle hétérozygote comme celui généré dans le présent mémoire (Kobayashi, Minowa et al. 2001). Ainsi, notre étude avait comme objectif de caractériser les altérations possibles à l'échelon synaptique et comportemental.

Il a été démontré que la mutation du gène $Tsc1$ engendre des malformations morphologiques des neurones de l'hippocampe, notamment de gros corps cellulaires dysplasiques (cellules géantes) et une migration ectopique (Meikle, Talos et al. 2007). Ce gène semble également être essentiel au développement et à la fonction des interneurons (Fu, Cawthon et al. 2012). Le laboratoire a mesuré le nombre d'interneurones exprimant la parvalbumine et la somatostatine dans la région CA1 de l'hippocampe par la technique d'immunofluorescence. Par ailleurs, le laboratoire a vérifié la taille du soma des interneurons à l'aide d'images d'immunofluorescence. Les résultats obtenus n'ont montré aucune différence entre les souris hétérozygotes et leurs témoins. On constate que la mutation $TSC1$ chez les hétérozygotes n'a affecté ni la survie ni la morphologie des interneurons (données non présentées).

Il a été démontré dans plusieurs modèles TSC que l'hyperactivation de mTOR est impliquée dans les phénotypes observés. Par immunofluorescence, le laboratoire a mesuré le niveau d'expression totale de la protéine S6 ainsi que le niveau d'expression de sa forme phosphorylée qui est un marqueur direct de l'activation de mTOR (Meyuhas 2008). En

normalisant les niveaux de la protéine S6 phosphorylée en fonction du niveau total, nous avons établi que ces niveaux étaient significativement plus élevés dans les interneurons exprimant la parvalbumine et la somatostatine des souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. Ces résultats reproduisent l'hyperactivation de mTOR observée dans les autres modèles TSC (données non présentées).

La nouveauté de notre modèle consiste en une mutation génétique du gène *Tsc1* spécifiquement dans les interneurons exprimant le facteur de transcription *Nkx2.1* donc ciblant seulement les interneurons issus de l'EMG. Ainsi, le laboratoire a caractérisé l'intégrité du circuit à l'aide d'enregistrement de courants miniatures spontanés postsynaptiques excitateurs et inhibiteurs (mCPSE/CPSI), qui témoignent de l'activité spontanée de base des CP et des interneurons du circuit. Les résultats n'ont démontré aucune différence entre les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ et les témoins. Par ailleurs, les courants postsynaptiques inhibiteurs (CPSI) évoqués par la stimulation optogénétique des interneurons SOM et PV sont significativement réduits chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ démontrant qu'ils envoient significativement moins d'influx inhibiteurs aux CP. Ainsi, bien que l'intégrité du circuit de base semble préservée, il y a une diminution de la transmission inhibitrice chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$.

Cette caractérisation nous a donc permis de décrire les principaux déficits de notre modèle et de comparer ces déficits à ce qui a précédemment été décrit.

4.3 Une plasticité synaptique inchangée

Nous avons démontré un déficit dans la PLT-précoce induite aux CS de la région CA1 par le protocole 1XSHF chez les souris mutantes $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. En effet, autant les mutants que les témoins ont présenté de la PLT-précoce, cependant la magnitude de celle-ci s'est avérée significativement plus faible chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$, témoignant d'une perturbation dans l'induction de celle-ci. Par ailleurs, la même expérience de PLT-précoce induite par un protocole de stimulation 4XTBS n'a révélée aucune différence significative.

4.3.1 La PLT-précoce

La mutation hétérozygote du gène *Tsc2* dans toutes les cellules ($Tsc2^{+/-}$) chez un modèle de rat a provoqué une altération de la PLT à la suite de l'utilisation d'un protocole de 10XTBS (von der Brélie, Waltereit et al. 2006). Bien que ces résultats aient été obtenus chez un modèle de rat, ils suggèrent qu'une perturbation du gène *Tsc2* et donc du complexe TSC1/2 pourrait engendrer une perturbation de la plasticité synaptique. Par ailleurs, cette perturbation peut résulter de multiples mécanismes par exemple, la transmission synaptique de base. Cette transmission met en scène plusieurs étapes, telles que la synthèse de neurotransmetteurs (NT), leur stockage dans des vésicules de sécrétion, la synchronisation de leur relâche dans la fente synaptique, la présence de récepteurs pouvant être activés par ces NT et les mécanismes de freins menant à l'arrêt de la transmission (Siegel 1999). Toutes ces étapes peuvent être la cible d'une perturbation et affecteraient les processus de PLT. On peut mesurer cette transmission par les expériences de stimulation progressive «*input-output*» réalisées sur des tranches aiguës d'hippocampe. Dans le modèle de rat, la transmission synaptique de base était inchangée, signifiant donc

qu'elle n'était pas la cause de l'altération de la PLT observée. Ainsi, nous avons reproduit ces expériences chez notre modèle $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ et les résultats n'ont démontré aucune différence significative, excluant cet élément comme potentielle explication. La mutation hétérozygote des gènes *Tsc1* et *Tsc2* dans toutes les cellules ou seulement dans les interneurons ne perturbe pas la transmission synaptique de base du circuit autant chez le rat que chez la souris (Wang, de Kok et al. 2015). Les mêmes expériences ont été réalisées dans un modèle de souris $Tsc2^{+/-}$ et n'ont révélé aucune différence significative par rapport aux témoins (Ehninger, Han et al. 2008). On observe les mêmes résultats dans des cultures de neurones dissociés ainsi que chez d'autres espèces comme la drosophile (Knox, Ge et al. 2007). Ainsi, la perturbation de ce complexe dans les interneurons PV et SOM ne semble pas être nécessaire à la transmission synaptique de base aux CS, mais intervient dans d'autres mécanismes importants pour la PLT.

Par ailleurs, la plasticité à court terme s'est avéré potentialisée dans le modèle de rat $Tsc2^{+/-}$. Cela signifie que la mutation du gène *Tsc2* dans toutes les cellules de l'organisme perturbe les mécanismes d'induction de la PLT à court terme, ces mécanismes reposent essentiellement sur l'entrée de Ca^{2+} . Or, ces déficits n'ont pas été observés chez la souris dans un modèle similaire (Ehninger, Han et al. 2008). Une perturbation des mécanismes d'entrée du Ca^{2+} pourrait avoir de graves conséquences sur la PLT car celle-ci est dépendante de cet ion. Ainsi, nous avons évalué la plasticité à court terme par un protocole de stimulation pairée «*paired pulse*» et les résultats n'ont démontré aucune différence entre les témoins et les mutants. Les mécanismes semblent donc différés quelque peu entre le rat et la souris en ce qui à trait à l'induction de la plasticité à court terme. De plus, que la mutation soit au niveau de l'organisme entier ou ciblée dans les interneurons

PV et SOM, elle ne semble pas affecter ces processus. Chez l'humain, les mutations génétiques à l'origine des TSA se retrouvent dans toutes les cellules du corps.

D'autres équipes se sont aussi intéressées à l'impact de la perte des gènes *Tsc1* ou *Tsc2* sur la PLT aux CS, mais dans des modèles où la mutation affecte l'ensemble des neurones du cerveau (von der Brélie, Waltereit et al. 2006, Ehninger, Han et al. 2008). Ainsi notre modèle introduit une nouveauté à savoir la mutation spécifique du gène *Tsc1* dans les interneurons dérivés de l'EMG, soit les SOM et PV. Fait intéressant, le laboratoire d'Ehninger et coll. ont démontré dans leur modèle de souris *Tsc2^{+/-}* qu'une PLT-tardive peut-être induite avec un protocole de PLT-précoce soit 1XSHF. Cette dernière se maintient dans le temps alors que la PLT s'estompe progressivement chez les témoins après 4h d'enregistrement. Or, nous observons un phénomène contraire dans notre modèle à savoir qu'il est plus difficile d'induire une PLT-précoce avec ce même protocole chez les mutants. Les résultats d'Ehninger et collègues abondent dans le sens de la théorie qui veut que les troubles cognitifs observés dans les TSA soient issus d'un déséquilibre de l'équilibre E/I de certains microcircuits. Ainsi, l'induction d'une PLT-tardive avec un protocole de PLT-précoce pourrait signifier que le circuit est hyperexcitable et que le seuil d'induction de la PLT-tardive est abaissé.

Il se peut que l'explication de la discordance entre les deux études se trouve au niveau du modèle utilisé en soi. Bien que les deux modèles présentent une hyperactivation de mTOR qui est d'ailleurs proposé par Ehninger comme mécanisme expliquant leurs résultats, ils sont en fait très différents. D'abord, le gène d'intérêt muté est différent, cependant comme mTOR agit sous la forme d'un complexe, leur rôle dans les processus cellulaires est intimement lié (Chong-Kopera, Inoki et al. 2006). Ainsi, il est très plausible

qu'en mutant le gène *Tsc2* dans toutes les cellules de l'organisme, le circuit soit différemment perturbé que lorsqu'on le mute seulement dans une sous-population de cellule. Il est connu que la mutation homozygote du gène *Tsc1* est létale (Kobayashi, Minowa et al. 2001). De plus, la mutation hétérozygote des gènes *Tsc1* et *Tsc2* engendre d'autres perturbations notamment une augmentation de la fréquence des crises d'épilepsie, une perte neuronale, leur migration ectopique et une réduction de la myélinisation (Meikle, Talos et al. 2007). Ainsi, on serait porté à croire que l'induction de cette PLT-tardive à l'aide du protocole 1XHFS n'est pas causé par une perturbation des interneurons PV et SOM et repose fort probablement en partie sur l'altération du circuit exciteur en majeure partie. Il est donc difficile de comparer ces deux modèles étant donné la nature même de leur conception.

Il est difficile d'expliquer pourquoi les deux protocoles (1XHFS et 4XTBS) n'engendrent pas des résultats similaires. Ces deux protocoles sont reconnus comme étant capables d'induire une PLT-précoce de magnitude similaire en se prolongeant dans le temps. (Grover, Kim et al. 2009). Ainsi, il est possible qu'une mutation du gène *Tsc1* spécifiquement dans les interneurons PV et SOM perturbe l'induction de la PLT-précoce en utilisant le protocole 1XHFS. On sait que différents interneurons sont activés au cours des différents patrons de décharges du cortex (Neske and Connors 2016). On connaît également le rôle de ces interneurons dans la production des oscillations thêta observées dans l'hippocampe (Mann and Mody 2010). Or, il n'existe aucune donnée sur l'activation différentielle des interneurons par les protocoles 1XHFS et 4XTBS et leur impact sur l'induction de la PLT-précoce. On sait que ces deux protocoles induisent la PLT via des cascades intracellulaires différentes (Zhu, Liu et al. 2015). En effet, l'application d'un

protocole de HFS 10 min après l'induction de PLT avec un protocole de TBS provoque une potentialisation encore plus élevée démontrant que les deux protocoles activent des voies différentes. Il est donc possible que l'hyperactivation de mTOR secondaire à la mutation du gène *Tsc1* n'affecte aucune des deux voies activées par ces protocoles.

4.3.2 La PLT-tardive

Les expériences de PLT-tardive induite par un protocole de 15XTBS n'ont démontré aucune différence significative entre les mutants et les témoins.

Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Ehninger et collègues dans leur modèle de souris *Tsc2^{+/-}*. Dans ce dernier, un simple protocole de PLT-précoce de 1XHFS est suffisant pour induire une PLT-tardive suggérant que l'hyperactivité de mTOR engendre une facilitation de l'induction de la PLT-tardive (Ehninger, Han et al. 2008). C'est en exposant les souris à la rapamycine, l'inhibiteur naturel de la protéine mTOR, qu'ils ont démontré qu'il est possible de ramener la PLT à des niveaux normaux se comparant aux témoins. Cela démontre que les déficits sont bien mTOR-dépendant. Dans notre modèle, nous avons ciblé la mutation exclusivement dans les interneurons PV et SOM. Bien qu'une hyperactivation de mTOR ait été démontrée chez les souris *Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}* (données non présentées), il semblerait que ce ne soit pas l'hyperactivation de mTOR dans les interneurons PV et SOM qui soit responsable des déficits observés par Ehninger et collègues. De plus, ces derniers ont utilisé un modèle TSC2 et non TSC1 ce qui pourrait également être une source d'explication des différences observées, bien que ces deux protéines opèrent en complexe. De plus, la mutation induite dans le modèle TSC2 se retrouve dans toutes les cellules de l'organisme incluant les

cellules excitatrices. En causant une hyperactivation de mTOR dans toutes les cellules de l'organisme, on peut ~~penser~~ présumer que l'on induit une augmentation de la synthèse de protéines synaptiques, étape primordiale pour la PLT, pouvant expliquer qu'un simple protocole de PLT-précoce induit une PLT-tardive.

4.2 Un dysfonctionnement de l'hippocampe

La difficulté à discriminer deux contextes est une composante clé du dysfonctionnement de l'hippocampe de notre modèle de souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$. Par ailleurs, ces souris sont parfaitement en mesure d'apprendre et d'exécuter la phase de conditionnement démontrée par le % de temps passé immobile. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par le groupe témoins. Elles sont également capables de se souvenir du contexte d'entraînement dans lequel elles ont initialement reçu les 5 chocs. En effet, elles y ont passé un % de temps immobile qui est comparable aux témoins. Il n'y a donc que la discrimination qui diffère entre les deux groupes, tâche qui relève de l'hippocampe.

Afin de s'assurer que les déficits observés chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ sont effectivement issus de la mutation du gène *Tsc1* dans les interneurons PV et SOM, certains témoins ont été effectués (données non présentées effectuées par Ilse Reibe, stagiaire postdoctorale). Un trouble de locomotion peut altérer le déplacement des souris lors des périodes d'exploration, faussant à la hausse le % de temps passé immobile. Ainsi, 12 souris témoins et 12 souris mutantes ont été testées à l'aide du «*open field test*». Ce dispositif nous permet d'étudier les mouvements de la souris sur une plateforme entièrement vide entourée d'une bordure. La distance totale parcourue a été comparée entre les deux groupes et aucune différence significative n'a été trouvée indiquant que les déficits ne peuvent être

expliqués par un trouble de la locomotion (données non présentées et effectuées par Ilse Reibe, stagiaire postdoctorale). L'anxiété est également un élément important à considérer. Ce dernier peut provoquer des comportements de peur tels que le «*freezing*» qui est spécifiquement ce que nous mesurons lors du conditionnement à la peur par le contexte. C'est pourquoi il était important de quantifier le niveau d'anxiété chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ à l'aide encore une fois du «*open field test*», avant de démarrer les expériences de conditionnement. Un animal anxieux aura tendance à passer moins de temps au centre de la plateforme de test et plus de temps près de la bordure. Le centre d'un espace ouvert est anxiogène pour les rongeurs puisque ceux-ci se retrouvent en position de vulnérabilité face aux prédateurs. Ainsi, le temps passé au centre et en périphérie a été comparé entre les groupes et aucune différence significative n'a été trouvée (données non présentées et effectuées par Ilse Reibe, stagiaire postdoctorale). Par ailleurs, on ne peut écarter totalement la possibilité que la mutation induite dans notre modèle engendre des altérations neuro-développementales qui pourraient être à l'origine des déficits observés chez les souris mutantes adultes. Cependant, compte tenu des divers témoins réalisés et présentés dans la section «caractérisation du modèle», on peut croire que la viabilité et le développement des interneurons se sont faits normalement.

Si les phénomènes de PLT aux CS des CP de l'hippocampe ne peuvent expliquer le dysfonctionnement de l'hippocampe observé dans notre modèle de souris, l'altération du circuit inhibiteur peut être une piste d'explication. En effet, notre laboratoire a démontré que la transmission synaptique inhibitrice est perturbée dans le modèle. En stimulant les interneurons PV et SOM chez les souris $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}$ avec l'optogénétique, les CPSI évoqués dans les CP sont réduits comparativement aux souris témoins (données non

présentées). À noter que la diminution de l'inhibition n'a pas provoqué de facilitation de PLT selon les protocoles utilisés ce qui est en accord avec la notion que l'apprentissage et la mémoire à long terme chez les souris *Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{f/+}* sont intacts. Ainsi, la mutation du gène *Tsc1* dans les interneurons PV et SOM semblent diminuer la modulation inhibitrice qu'ils exercent sur les CP de l'hippocampe. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse qui propose qu'un déséquilibre dans l'équilibre E/I de certains circuits serait la base des troubles cognitifs observés dans les TSA (Kana, Uddin et al. 2014).

Par ailleurs, nous savons que les interneurons SOM et PV sont deux sous-populations ayant des rôles et fonctions très différents. Les PV ont une fréquence de décharge très rapide et exercent une inhibition péri-somatique. Ils sont donc impliqués dans la synchronisation du patron de décharge des CP. On peut les voir comme étant les chefs d'orchestre de la réponse excitatrice des CP. Les SOM ont une fréquence de décharge beaucoup plus petite et on a besoin d'être fortement stimulés pour être activés. Leur inhibition se concentre davantage au niveau des dendrites et ils exercent donc un contrôle sur l'intégration des stimuli. Ces interneurons dictent l'activation des CP en filtrant les influx qui leur arrivent (Pelkey, Chittajallu et al. 2017). Ainsi, l'un dicte si la CP s'active ou non et l'autre synchronise cette activation pour former un patron synchronisé, deux rôles bien différents. En manipulant ces deux types d'interneurons à la fois, plusieurs effets phénotypiques peuvent donc se produire et ceux-ci peuvent être difficiles à isoler. En rétrospective, en raison de ces différences marquées, notre modèle de souris n'est pas optimal pour étudier en détail les mécanismes fins régulant les déficits comportementaux observés. Par ailleurs, notre modèle serait davantage adapté à des études sur d'autres maladies telles que l'épilepsie, où le concept de déséquilibre E/I s'apprête parfaitement.

Il serait donc plus que pertinent de raffiner le modèle en générant de nouvelles souris SOM-TSC1 ou PV-TSC1, permettant de mieux décrire le rôle de chacune de ces deux sous-populations d'interneurones dans les déficits cognitifs observés dans la sclérose tubéreuse. Il se pourrait donc que les déficits de discrimination observés soient secondaires à l'atteinte d'un des deux types d'interneurones en particulier. Pour ce faire, il faudrait d'abord mieux comprendre la division du travail entre les divers types d'interneurones et ceci serait réalisable en générant des modèles plus raffinés.

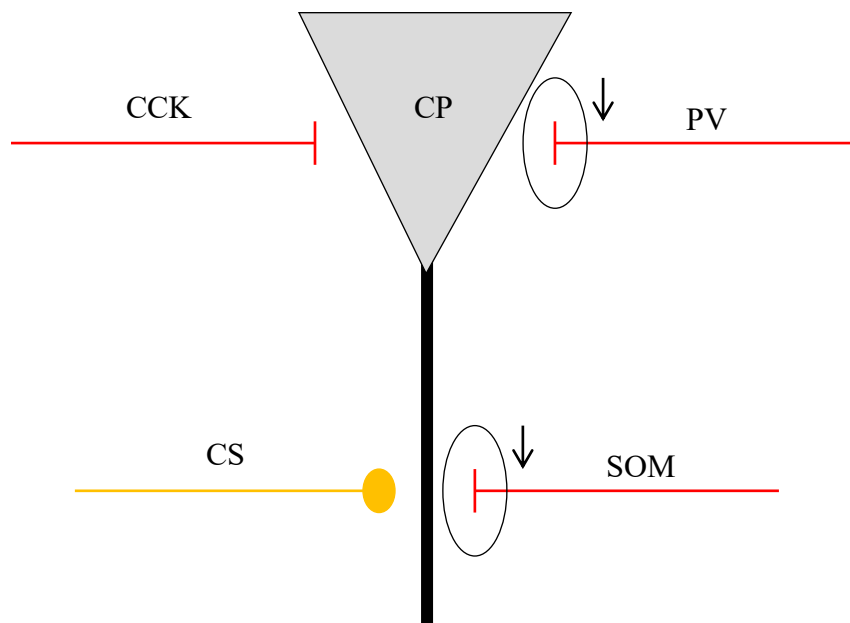


Figure 12. Figure synthèse. Altération des synapses inhibitrices des interneurones PV et SOM sur les CP dans un modèle de souris d'autisme $Nkx2.1^{C/+};Tsc1^{fl/+}$. La mutation du gène *Tsc1* engendre une altération des synapses inhibitrices provenant des interneurones PV et SOM aux corps cellulaires et aux dendrites apicales respectivement des CP de la région CA1 de l'hippocampe. CP : cellules pyramidales; CS : collatérales de Schaffer;

CCK : interneurones exprimant la cholécystokinine; PV : interneurones exprimant la parvalbumine et SOM : interneurones exprimant la somatostatine.

Chapitre 5. Conclusion et perspectives

L'inhibition joue un rôle important dans l'apprentissage de nouvelles connaissances (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014). Cette inhibition est un processus complexe qui met en œuvre une importante sélection d'interneurones ayant tous des rôles propres à leur morphologie et à leur emplacement stratégique dans le circuit. Ces rôles sont en partie régulés par les mécanismes de contrôle de la synthèse protéique et de la plasticité synaptique. Nous avons démontré dans un modèle de souris n'exprimant pas le gène *Tsc1* dans les interneurones dérivés du MGE, que ces souris présentent non seulement des déficits dans une tâche dépendante de l'hippocampe comme démontré dans le présent mémoire, mais qu'il y a une perturbation de la transmission inhibitrice aux CP de la région CA1 comme démontré par le laboratoire Lacaille. Nous savons que la sclérose tubéreuse est une des causes monogéniques les plus importantes de TSA. Ainsi, les résultats obtenus suggèrent un lien entre ces déficits cognitifs et certains interneurones clés, comme les PV et les SOM. Nous pensons donc que ces interneurones pourraient avoir un rôle spécifique dans les déficits retrouvés dans la TSC.

Toutefois, ces deux familles présentent d'importantes différences tant au niveau de leur localisation, leur activation et leur morphologie, faisant en sorte qu'elles ont des rôles très différents dans la modulation du circuit (voir Figure 12) (ajouter Mcbain interneurones). La suite logique de ce projet serait donc de générer deux nouveaux modèles, un ciblant la mutation du gène *Tsc1* seulement dans les PV et l'autre dans les

SOM et les comparer au présent modèle afin de mieux comprendre le rôle de chacun dans ces processus cognitifs dépendants de l'hippocampe. Il serait également intéressant d'étudier la DLT NMDA et mGluR dépendante aux collatérales de Schaffer à l'aide d'un protocole d'induction au DHPG. Cela nous permettrait de mesurer l'impact de la perturbation du circuit inhibiteur sur l'induction de la DLT sachant maintenant que la PLT est intacte dans notre modèle de souris. Ces expériences nous permettraient également de valider l'hypothèse selon laquelle un débalancement de l'équilibre E/I serait responsable des troubles cognitifs observés dans les TSA. Ayant déjà décrit une perturbation de la transmission inhibitrice aux CP, une altération des phénomènes de DLT abonderait dans le sens de cette hypothèse.

Bibliographie

Alberini, C. M. and J. E. Ledoux (2013). "Memory reconsolidation." Curr Biol **23**(17): R746-750.

Anagnostaras, S. G., G. G. Murphy, S. E. Hamilton, S. L. Mitchell, N. P. Rahnema, N. M. Nathanson and A. J. Silva (2003). "Selective cognitive dysfunction in acetylcholine M1 muscarinic receptor mutant mice." Nat Neurosci **6**(1): 51-58.

Andersen, P. (2007). The hippocampus book. Oxford ; Toronto, Oxford University Press.

Andersen, P. and Oxford University Press. (2007). The hippocampus book. New York ; Oxford, Oxford University Press.

Artola, A. and W. Singer (1993). "Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation." Trends Neurosci **16**(11): 480-487.

Baimbridge, K. G. and J. J. Miller (1982). "Immunohistochemical localization of calcium-binding protein in the cerebellum, hippocampal formation and olfactory bulb of the rat." Brain Res **245**(2): 223-229.

Ballester, R., D. Marchuk, M. Boguski, A. Saulino, R. Letcher, M. Wigler and F. Collins (1990). "The NF1 locus encodes a protein functionally related to mammalian GAP and yeast IRA proteins." Cell **63**(4): 851-859.

Bannister, N. J. and A. U. Larkman (1995). "Dendritic morphology of CA1 pyramidal neurones from the rat hippocampus: II. Spine distributions." J Comp Neurol **360**(1): 161-171.

Bateup, H. S., C. A. Johnson, C. L. Deneffrio, J. L. Saulnier, K. Kornacker and B. L. Sabatini (2013). "Excitatory/inhibitory synaptic imbalance leads to hippocampal hyperexcitability in mouse models of tuberous sclerosis." Neuron **78**(3): 510-522.

Baudry, M., G. Zhu, Y. Liu, Y. Wang, V. Briz and X. Bi (2015). "Multiple cellular cascades participate in long-term potentiation and in hippocampus-dependent learning." Brain Res **1621**: 73-81.

Bear, M. F. and R. C. Malenka (1994). "Synaptic plasticity: LTP and LTD." Curr Opin Neurobiol **4**(3): 389-399.

Benke, T. A., A. Luthi, J. T. Isaac and G. L. Collingridge (1998). "Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity." Nature **393**(6687): 793-797.

Blackstad, T. W. (1956). "Commissural connections of the hippocampal region in the rat, with special reference to their mode of termination." J Comp Neurol **105**(3): 417-537.

Blasco-Ibanez, J. M. and T. F. Freund (1995). "Synaptic input of horizontal interneurons in stratum oriens of the hippocampal CA1 subfield: structural basis of feed-back activation." Eur J Neurosci **7**(10): 2170-2180.

Bliss, T. V. and G. L. Collingridge (1993). "A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus." Nature **361**(6407): 31-39.

Bliss, T. V. and T. Lomo (1973). "Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path." J Physiol **232**(2): 331-356.

Bolton, P. F., R. J. Park, J. N. Higgins, P. D. Griffiths and A. Pickles (2002). "Neuro-epileptic determinants of autism spectrum disorders in tuberous sclerosis complex." Brain **125**(Pt 6): 1247-1255.

Brannan, C. I., A. S. Perkins, K. S. Vogel, N. Ratner, M. L. Nordlund, S. W. Reid, A. M. Buchberg, N. A. Jenkins, L. F. Parada and N. G. Copeland (1994). "Targeted disruption of the neurofibromatosis type-1 gene leads to developmental abnormalities in heart and various neural crest-derived tissues." Genes Dev **8**(9): 1019-1029.

Buhl, E. H., S. R. Cobb, K. Halasy and P. Somogyi (1995). "Properties of unitary IPSPs evoked by anatomically identified basket cells in the rat hippocampus." Eur J Neurosci **7**(9): 1989-2004.

Butt, S. J., M. Fuccillo, S. Nery, S. Noctor, A. Kriegstein, J. G. Corbin and G. Fishell (2005). "The temporal and spatial origins of cortical interneurons predict their physiological subtype." Neuron **48**(4): 591-604.

Buzsaki, G. (2002). "Theta oscillations in the hippocampus." Neuron **33**(3): 325-340.

Castillo, P. E. (2012). "Presynaptic LTP and LTD of excitatory and inhibitory synapses." Cold Spring Harb Perspect Biol **4**(2).

Cellot, G. and E. Cherubini (2014). "GABAergic signaling as therapeutic target for autism spectrum disorders." Front Pediatr **2**: 70.

Chong-Kopera, H., K. Inoki, Y. Li, T. Zhu, F. R. Garcia-Gonzalo, J. L. Rosa and K. L. Guan (2006). "TSC1 stabilizes TSC2 by inhibiting the interaction between TSC2 and the HERC1 ubiquitin ligase." J Biol Chem **281**(13): 8313-8316.

Collingridge, G. L., J. T. Isaac and Y. T. Wang (2004). "Receptor trafficking and synaptic plasticity." Nat Rev Neurosci **5**(12): 952-962.

Colonnier, M. (1968). "Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study." Brain Res **9**(2): 268-287.

Cooke, S. F. and T. V. Bliss (2006). "Plasticity in the human central nervous system." Brain **129**(Pt 7): 1659-1673.

Cui, Y., R. M. Costa, G. G. Murphy, Y. Elgersma, Y. Zhu, D. H. Gutmann, L. F. Parada, I. Mody and A. J. Silva (2008). "Neurofibromin regulation of ERK signaling modulates GABA release and learning." Cell **135**(3): 549-560.

Daitz, H. M. and T. P. Powell (1954). "Studies of the connexions of the fornix system." J Neurol Neurosurg Psychiatry **17**(1): 75-82.

Dan, H. C., M. Sun, L. Yang, R. I. Feldman, X. M. Sui, C. C. Ou, M. Nellist, R. S. Yeung, D. J. Halley, S. V. Nicosia, W. J. Pledger and J. Q. Cheng (2002). "Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates tuberous sclerosis tumor suppressor complex by phosphorylation of tuberin." J Biol Chem **277**(38): 35364-35370.

Davies, C. H., S. J. Starkey, M. F. Pozza and G. L. Collingridge (1991). "GABA autoreceptors regulate the induction of LTP." Nature **349**(6310): 609-611.

Davis, H. P. and L. R. Squire (1984). "Protein synthesis and memory: a review." Psychol Bull **96**(3): 518-559.

Davis, P. E., J. M. Peters, D. A. Krueger and M. Sahin (2015). "Tuberous Sclerosis: A New Frontier in Targeted Treatment of Autism." Neurotherapeutics **12**(3): 572-583.

Davis, S., S. P. Butcher and R. G. Morris (1992). "The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro." J Neurosci **12**(1): 21-34.

de Carlos, J. A., L. Lopez-Mascaraque and F. Valverde (1996). "Dynamics of cell migration from the lateral ganglionic eminence in the rat." J Neurosci **16**(19): 6146-6156.

Dichter, G. S. (2012). "Functional magnetic resonance imaging of autism spectrum disorders." Dialogues Clin Neurosci **14**(3): 319-351.

Dudai, Y. (2004). "The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram?" Annu Rev Psychol **55**: 51-86.

Dudek, S. M. and M. F. Bear (1992). "Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade." Proc Natl Acad Sci U S A **89**(10): 4363-4367.

Ehninger, D., S. Han, C. Shilyansky, Y. Zhou, W. Li, D. J. Kwiatkowski, V. Ramesh and A. J. Silva (2008). "Reversal of learning deficits in a Tsc2^{+/-} mouse model of tuberous sclerosis." Nat Med **14**(8): 843-848.

Fakhoury, M. (2015). "Autistic spectrum disorders: A review of clinical features, theories and diagnosis." Int J Dev Neurosci **43**: 70-77.

Ferraguti, F. and R. Shigemoto (2006). "Metabotropic glutamate receptors." Cell Tissue Res **326**(2): 483-504.

Fishell, G. (2007). "Perspectives on the developmental origins of cortical interneuron diversity." Novartis Found Symp **288**: 21-35; discussion 35-44, 96-28.

Frankland, P. W., V. Cestari, R. K. Filipkowski, R. J. McDonald and A. J. Silva (1998). "The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning." Behav Neurosci **112**(4): 863-874.

Freund, T. F. and G. Buzsaki (1996). "Interneurons of the hippocampus." Hippocampus **6**(4): 347-470.

Frey, U., M. Krug, K. G. Reymann and H. Matthies (1988). "Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro." Brain Res **452**(1-2): 57-65.

Fu, C., B. Cawthon, W. Clinkscales, A. Bruce, P. Winzenburger and K. C. Ess (2012). "GABAergic interneuron development and function is modulated by the Tsc1 gene." Cereb Cortex **22**(9): 2111-2119.

Garami, A., F. J. Zwartkruis, T. Nobukuni, M. Joaquin, M. Rocco, H. Stocker, S. C. Kozma, E. Hafen, J. L. Bos and G. Thomas (2003). "Insulin activation of Rheb, a mediator of mTOR/S6K/4E-BP signaling, is inhibited by TSC1 and 2." Mol Cell **11**(6): 1457-1466.

Gkogkas, C., N. Sonenberg and M. Costa-Mattioli (2010). "Translational control mechanisms in long-lasting synaptic plasticity and memory." J Biol Chem **285**(42): 31913-31917.

Gkogkas, C. G., A. Khoutorsky, I. Ran, E. Rampakakis, T. Nevarko, D. B. Weatherill, C. Vasuta, S. Yee, M. Truitt, P. Dallaire, F. Major, P. Lasko, D. Ruggero, K. Nader, J. C. Lacaille and N. Sonenberg (2013). "Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control." Nature **493**(7432): 371-377.

Gladding, C. M., S. M. Fitzjohn and E. Molnar (2009). "Metabotropic glutamate receptor-mediated long-term depression: molecular mechanisms." Pharmacol Rev **61**(4): 395-412.

Goorden, S. M., G. M. van Woerden, L. van der Weerd, J. P. Cheadle and Y. Elgersma (2007). "Cognitive deficits in Tsc1^{+/-} mice in the absence of cerebral lesions and seizures." Ann Neurol **62**(6): 648-655.

Gray, E. G. (1959). "Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study." J Anat **93**: 420-433.

Grover, L. M., E. Kim, J. D. Cooke and W. R. Holmes (2009). "LTP in hippocampal area CA1 is induced by burst stimulation over a broad frequency range centered around delta." Learn Mem **16**(1): 69-81.

Gulyas, A. I., R. Miles, A. Sik, K. Toth, N. Tamamaki and T. F. Freund (1993). "Hippocampal pyramidal cells excite inhibitory neurons through a single release site." Nature **366**(6456): 683-687.

Halasy, K., E. H. Buhl, Z. Lorinczi, G. Tamas and P. Somogyi (1996). "Synaptic target selectivity and input of GABAergic basket and bistratified interneurons in the CA1 area of the rat hippocampus." Hippocampus **6**(3): 306-329.

Hayashi, Y., S. H. Shi, J. A. Esteban, A. Piccini, J. C. Poncer and R. Malinow (2000). "Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction." Science **287**(5461): 2262-2267.

Hebb, D. O. (1949). The organization of behavior : a neuropsychological theory. New York, Wiley.

Hernandez, R. V., M. M. Navarro, W. A. Rodriguez, J. L. Martinez, Jr. and R. G. LeBaron (2005). "Differences in the magnitude of long-term potentiation produced by theta burst and high frequency stimulation protocols matched in stimulus number." Brain Res Brain Res Protoc **15**(1): 6-13.

Holz, M. K., B. A. Ballif, S. P. Gygi and J. Blenis (2005). "mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events." Cell **123**(4): 569-580.

Huber, K. M., M. S. Kayser and M. F. Bear (2000). "Role for rapid dendritic protein synthesis in hippocampal mGluR-dependent long-term depression." Science **288**(5469): 1254-1257.

Huber, K. M., J. C. Roder and M. F. Bear (2001). "Chemical induction of mGluR5- and protein synthesis--dependent long-term depression in hippocampal area CA1." J Neurophysiol **86**(1): 321-325.

Kana, R. K., L. Q. Uddin, T. Kenet, D. Chugani and R. A. Muller (2014). "Brain connectivity in autism." Front Hum Neurosci **8**: 349.

Kandel, E. R. (2001). "The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses." Biosci Rep **21**(5): 565-611.

Kandel, E. R., J. H. Schwartz, T. M. Jessell, S. A. Siegelbaum and A. J. Hudspeth (2013). Principles of neural science. New York, McGraw-Hill Medical.

Kanner, L. (1943). "Autistic disturbances of affective contact." Nerv Child.

Keinanen, K., W. Wisden, B. Sommer, P. Werner, A. Herb, T. A. Verdoorn, B. Sakmann and P. H. Seeburg (1990). "A family of AMPA-selective glutamate receptors." Science **249**(4968): 556-560.

Kelleher, R. J., 3rd and M. F. Bear (2008). "The autistic neuron: troubled translation?" Cell **135**(3): 401-406.

Kelleher, R. J., 3rd, A. Govindarajan and S. Tonegawa (2004). "Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity." Neuron **44**(1): 59-73.

Kepecs, A. and G. Fishell (2014). "Interneuron cell types are fit to function." Nature **505**(7483): 318-326.

Kim, D. H., D. D. Sarbassov, S. M. Ali, J. E. King, R. R. Latek, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst and D. M. Sabatini (2002). "mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery." Cell **110**(2): 163-175.

Kitamura, T., S. K. Ogawa, D. S. Roy, T. Okuyama, M. D. Morrissey, L. M. Smith, R. L. Redondo and S. Tonegawa (2017). "Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory." Science **356**(6333): 73-78.

Klann, E. and T. E. Dever (2004). "Biochemical mechanisms for translational regulation in synaptic plasticity." Nat Rev Neurosci **5**(12): 931-942.

Klauck, S. M. (2006). "Genetics of autism spectrum disorder." Eur J Hum Genet **14**(6): 714-720.

Knox, S., H. Ge, B. D. Dimitroff, Y. Ren, K. A. Howe, A. M. Arsham, M. C. Easterday, T. P. Neufeld, M. B. O'Connor and S. B. Selleck (2007). "Mechanisms of TSC-mediated control of synapse assembly and axon guidance." PLoS One **2**(4): e375.

Kobayashi, T., O. Minowa, Y. Sugitani, S. Takai, H. Mitani, E. Kobayashi, T. Noda and O. Hino (2001). "A germ-line Tsc1 mutation causes tumor development and embryonic lethality that are similar, but not identical to, those caused by Tsc2 mutation in mice." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(15): 8762-8767.

Kosaka, T., H. Katsumaru, K. Hama, J. Y. Wu and C. W. Heizmann (1987). "GABAergic neurons containing the Ca²⁺-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus and dentate gyrus." Brain Res **419**(1-2): 119-130.

Kullmann, D. M. (2011). "Interneuron networks in the hippocampus." Curr Opin Neurobiol **21**(5): 709-716.

Kullmann, D. M. and K. P. Lamsa (2007). "Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons." Nat Rev Neurosci **8**(9): 687-699.

Kwiatkowski, D. J. and B. D. Manning (2005). "Tuberous sclerosis: a GAP at the crossroads of multiple signaling pathways." Hum Mol Genet **14 Spec No. 2**: R251-258.

Lamsa, K., J. H. Heeroma and D. M. Kullmann (2005). "Hebbian LTP in feed-forward inhibitory interneurons and the temporal fidelity of input discrimination." Nat Neurosci **8**(7): 916-924.

Lavdas, A. A., M. Grigoriou, V. Pachnis and J. G. Parnavelas (1999). "The medial ganglionic eminence gives rise to a population of early neurons in the developing cerebral cortex." J Neurosci **19**(18): 7881-7888.

Lever, C., T. Wills, F. Cacucci, N. Burgess and J. O'Keefe (2002). "Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry." Nature **416**(6876): 90-94.

Lockhart, F. I. M. C. a. R. S. (1972). "Levels of processing: A Framework for Memory Research." Journal of verbal learning and verbal behavior **11**: 671-684.

Lovett-Barron, M., P. Kaifosh, M. A. Kheirbek, N. Danielson, J. D. Zaremba, T. R. Reardon, G. F. Turi, R. Hen, B. V. Zeman and A. Losonczy (2014). "Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning." Science **343**(6173): 857-863.

Lujan, R., Z. Nusser, J. D. Roberts, R. Shigemoto and P. Somogyi (1996). "Perisynaptic location of metabotropic glutamate receptors mGluR1 and mGluR5 on dendrites and dendritic spines in the rat hippocampus." Eur J Neurosci **8**(7): 1488-1500.

Luscher, C. and R. C. Malenka (2012). "NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD)." Cold Spring Harb Perspect Biol **4**(6).

Lynch, M. A. (2004). "Long-term potentiation and memory." Physiol Rev **84**(1): 87-136.

Mann, E. O. and I. Mody (2010). "Control of hippocampal gamma oscillation frequency by tonic inhibition and excitation of interneurons." Nat Neurosci **13**(2): 205-212.

Maren, S., S. G. Anagnostaras and M. S. Fanselow (1998). "The startled seahorse: is the hippocampus necessary for contextual fear conditioning?" Trends Cogn Sci **2**(2): 39-42.

McNaughton, C. H., J. Moon, M. S. Strawderman, K. N. Maclean, J. Evans and B. J. Strupp (2008). "Evidence for social anxiety and impaired social cognition in a mouse model of fragile X syndrome." Behav Neurosci **122**(2): 293-300.

Meikle, L., D. M. Talos, H. Onda, K. Pollizzi, A. Rotenberg, M. Sahin, F. E. Jensen and D. J. Kwiatkowski (2007). "A mouse model of tuberous sclerosis: neuronal loss of Tsc1 causes dysplastic and ectopic neurons, reduced myelination, seizure activity, and limited survival." J Neurosci **27**(21): 5546-5558.

Meyuhas, O. (2008). "Physiological roles of ribosomal protein S6: one of its kind." Int Rev Cell Mol Biol **268**: 1-37.

Miles, R. and J. C. Poncer (1996). "Paired recordings from neurones." Curr Opin Neurobiol **6**(3): 387-394.

Miles, R., K. Toth, A. I. Gulyas, N. Hajos and T. F. Freund (1996). "Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus." Neuron **16**(4): 815-823.

Milner, B., L. R. Squire and E. R. Kandel (1998). "Cognitive neuroscience and the study of memory." Neuron **20**(3): 445-468.

Morris, R. G. (1989). "Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5." J Neurosci **9**(9): 3040-3057.

Muhle, R., S. V. Trentacoste and I. Rapin (2004). "The genetics of autism." Pediatrics **113**(5): e472-486.

Mulkey, R. M. and R. C. Malenka (1992). "Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus." Neuron **9**(5): 967-975.

Neske, G. T. and B. W. Connors (2016). "Distinct Roles of SOM and VIP Interneurons during Cortical Up States." Front Neural Circuits **10**: 52.

Nguyen, P. V., T. Abel and E. R. Kandel (1994). "Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP." Science **265**(5175): 1104-1107.

Niswender, C. M. and P. J. Conn (2010). "Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease." Annu Rev Pharmacol Toxicol **50**: 295-322.

North, K. (2000). "Neurofibromatosis type 1." Am J Med Genet **97**(2): 119-127.

O'Keefe, J. (1976). "Place units in the hippocampus of the freely moving rat." Exp Neurol **51**(1): 78-109.

O'Keefe, J. and J. Dostrovsky (1971). "The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat." Brain Res **34**(1): 171-175.

Olsson, A., K. I. Nearing and E. A. Phelps (2007). "Learning fears by observing others: the neural systems of social fear transmission." Soc Cogn Affect Neurosci **2**(1): 3-11.

Ormond, J. and M. A. Woodin (2009). "Disinhibition mediates a form of hippocampal long-term potentiation in area CA1." PLoS One **4**(9): e7224.

Pasquier, D. A. and F. Reinoso-Suarez (1976). "Direct projections from hypothalamus to hippocampus in the rat demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase." Brain Res **108**(1): 165-169.

Patten, A. R., S. Y. Yau, C. J. Fontaine, A. Meconi, R. C. Wortman and B. R. Christie (2015). "The Benefits of Exercise on Structural and Functional Plasticity in the Rodent Hippocampus of Different Disease Models." Brain Plast **1**(1): 97-127.

Pavlov, I. P. (1951). "[Conditioned reflex]." Feldsher Akush **10**: 3-10; contd.

Pelkey, K. A., R. Chittajallu, M. T. Craig, L. Tricoire, J. C. Wester and C. J. McBain (2017). "Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons." Physiol Rev **97**(4): 1619-1747.

Pelletier, J. G. and J. C. Lacaille (2008). "Long-term synaptic plasticity in hippocampal feedback inhibitory networks." Prog Brain Res **169**: 241-250.

Perez, Y., F. Morin and J. C. Lacaille (2001). "A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(16): 9401-9406.

Persico, A. M. and V. Napolioni (2013). "Autism genetics." Behav Brain Res **251**: 95-112.

Poo, M. M., M. Pignatelli, T. J. Ryan, S. Tonegawa, T. Bonhoeffer, K. C. Martin, A. Rudenko, L. H. Tsai, R. W. Tsien, G. Fishell, C. Mullins, J. T. Goncalves, M. Shtrahman, S. T. Johnston, F. H. Gage, Y. Dan, J. Long, G. Buzsaki and C. Stevens (2016). "What is memory? The present state of the engram." BMC Biol **14**: 40.

Provenzano, G., G. Zunino, S. Genovesi, P. Sgado and Y. Bozzi (2012). "Mutant mouse models of autism spectrum disorders." Dis Markers **33**(5): 225-239.

Ramón y Cajal, S. (1909). Histologie du système nerveux de l'homme & des vertébrés. Paris,, Maloine.

Rubenstein, J. L. and M. M. Merzenich (2003). "Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems." Genes Brain Behav **2**(5): 255-267.

Ruediger, S., C. Vittori, E. Bednarek, C. Genoud, P. Strata, B. Sacchetti and P. Caroni (2011). "Learning-related feedforward inhibitory connectivity growth required for memory precision." Nature **473**(7348): 514-518.

Sajikumar, S. and J. U. Frey (2003). "Anisomycin inhibits the late maintenance of long-term depression in rat hippocampal slices in vitro." Neurosci Lett **338**(2): 147-150.

Saxton, R. A. and D. M. Sabatini (2017). "mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease." Cell **169**(2): 361-371.

Schwartzkroin, P. A. and L. H. Mathers (1978). "Physiological and morphological identification of a nonpyramidal hippocampal cell type." Brain Res **157**(1): 1-10.

Scoville, W. B. and B. Milner (1957). "Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions." J Neurol Neurosurg Psychiatry **20**(1): 11-21.

Semon, R. W. (1921). "The mneme."

Siegel, G. J. (1999). Basic neurochemistry : molecular, cellular and medical aspects. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers.

Sik, A., M. Penttonen, A. Ylinen and G. Buzsaki (1995). "Hippocampal CA1 interneurons: an in vivo intracellular labeling study." J Neurosci **15**(10): 6651-6665.

Silva, A. J., P. W. Frankland, Z. Marowitz, E. Friedman, G. S. Laszlo, D. Cioffi, T. Jacks and R. Bourchouladze (1997). "A mouse model for the learning and memory deficits associated with neurofibromatosis type I." Nat Genet **15**(3): 281-284.

Somogyi, P. and T. Klausberger (2005). "Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus." J Physiol **562**(Pt 1): 9-26.

Squire, L. R. and E. R. Kandel (2002). La mémoire : de l'esprit aux molécules. Bruxelles, De Boeck Université.

Staubli, U. and J. Scafidi (1997). "Studies on long-term depression in area CA1 of the anesthetized and freely moving rat." J Neurosci **17**(12): 4820-4828.

Stevens, C. F. and Y. Wang (1994). "Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity." Nature **371**(6499): 704-707.

Strange, B. A., M. P. Witter, E. S. Lein and E. I. Moser (2014). "Functional organization of the hippocampal longitudinal axis." Nat Rev Neurosci **15**(10): 655-669.

Sweatt, J. D. (2010). Mechanisms of memory. London, Academic, : 1 texte électronique.

Tavazoie, S. F., V. A. Alvarez, D. A. Ridenour, D. J. Kwiatkowski and B. L. Sabatini (2005). "Regulation of neuronal morphology and function by the tumor suppressors Tsc1 and Tsc2." Nat Neurosci **8**(12): 1727-1734.

Tricoire, L., K. A. Pelkey, B. E. Erkkila, B. W. Jeffries, X. Yuan and C. J. McBain (2011). "A blueprint for the spatiotemporal origins of mouse hippocampal interneuron diversity." J Neurosci **31**(30): 10948-10970.

Tsien, J. Z., P. T. Huerta and S. Tonegawa (1996). "The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory." Cell **87**(7): 1327-1338.

Valcanis, H. and S. S. Tan (2003). "Layer specification of transplanted interneurons in developing mouse neocortex." J Neurosci **23**(12): 5113-5122.

van Groen, T. and J. M. Wyss (1990). "Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections." J Comp Neurol **302**(3): 515-528.

Vasuta, C., J. Artinian, I. Laplante, S. Hebert-Seropian, K. Elayoubi and J. C. Lacaille (2015). "Metaplastic Regulation of CA1 Schaffer Collateral Pathway Plasticity by Hebbian MGluR1a-Mediated Plasticity at Excitatory Synapses onto Somatostatin-Expressing Interneurons." eNeuro **2**(4).

von der Brélie, C., R. Waltereit, L. Zhang, H. Beck and T. Kirschstein (2006). "Impaired synaptic plasticity in a rat model of tuberous sclerosis." Eur J Neurosci **23**(3): 686-692.

Wang, T., L. de Kok, R. Willemsen, Y. Elgersma and J. G. Borst (2015). "In vivo synaptic transmission and morphology in mouse models of Tuberous sclerosis, Fragile X syndrome, Neurofibromatosis type 1, and Costello syndrome." Front Cell Neurosci **9**: 234.

White, L. E., Jr. (1959). "Ipsilateral afferents to the hippocampal formation in the albino rat. I. Cingulum projections." J Comp Neurol **113**: 1-41.

Whitlock, J. R., A. J. Heynen, M. G. Shuler and M. F. Bear (2006). "Learning induces long-term potentiation in the hippocampus." Science **313**(5790): 1093-1097.

Whittington, M. A. and R. D. Traub (2003). "Interneuron diversity series: inhibitory interneurons and network oscillations in vitro." Trends Neurosci **26**(12): 676-682.

Wigstrom, H. and B. Gustafsson (1983). "Facilitated induction of hippocampal long-lasting potentiation during blockade of inhibition." Nature **301**(5901): 603-604.

Winson, J. (1978). "Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat." Science **201**(4351): 160-163.

Wiznitzer, M. (2004). "Autism and tuberous sclerosis." J Child Neurol **19**(9): 675-679.

Wonders, C. P. and S. A. Anderson (2006). "The origin and specification of cortical interneurons." Nat Rev Neurosci **7**(9): 687-696.

Zhu, G., Y. Liu, Y. Wang, X. Bi and M. Baudry (2015). "Different patterns of electrical activity lead to long-term potentiation by activating different intracellular pathways." J Neurosci **35**(2): 621-633.

Zucker, R. S. and W. G. Regehr (2002). "Short-term synaptic plasticity." Annu Rev Physiol **64**: 355-405.