

# Protéines phosphatases et mémoire

Isabelle Mansuy

Les processus d'apprentissage et de mémorisation et les mécanismes qui les contrôlent sont complexes et multiples. Leur étude, initialement limitée à des observations cliniques chez l'homme et expérimentales chez l'animal, engage aujourd'hui les domaines de la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, la génétique, l'électrophysiologie, l'imagerie. C'est au milieu du siècle dernier que la recherche sur l'apprentissage et la mémoire a réellement pris toute son importance après que les structures cérébrales nécessaires à l'acquisition et à la mémorisation d'informations aient été identifiées. Cette découverte était en grande partie le résultat des travaux des Docteurs William Scoville et Brenda Milner, deux neurologues canadiens qui, en 1953, décrivent un cas clinique d'amnésie extrêmement intéressant. Il s'agissait d'un jeune homme nommé H. M. devenu épileptique à la suite d'un accident de bicyclette pendant son enfance, et opéré par les Docteurs Scoville et Millner. Afin de soulager cette épilepsie chronique, les neurologues avaient décidé d'exciser bilatéralement les lobes temporaux du cerveau de H. M. Leur hypothèse était qu'en éliminant le siège potentiel d'initiation des crises, il était possible de fortement limiter l'ampleur de l'activité épileptiforme et d'améliorer la vie du patient. Après son opération, H. M. fut effectivement soulagé de ses attaques épileptiques mais se révéla être atteint d'une profonde amnésie [1]. En effet, il n'était plus capable d'apprendre à reconnaître de nouvelles choses, de mémoriser de nouveaux visages ni de se souvenir de nouveaux endroits. Ses capacités d'apprentissage et de mémorisation dite de type explicite, c'est-à-dire celles qui nécessitent un effort conscient de rappel, étaient anéanties. Sa mémoire de type implicite, c'est-à-dire sa mémoire inconsciente lui permettant de se souvenir d'une activité motrice par exemple, ou de l'association d'événements, était cependant intacte. H. M. parvenait ainsi à apprendre comment écrire de droite à gauche par exemple, ou comment dessiner à l'envers en utilisant un miroir, sans pourtant se souvenir avoir effectué ces exercices, ni reconnaître les personnes qui les lui avaient proposés. En revanche, malgré ses difficultés de mémorisation, H. M. avait conservé ses souvenirs les plus anciens, c'est-à-dire ceux acquis avant l'opération, ainsi que ses capacités intellectuelles. Ces observations révélaient donc qu'une lésion des structures cérébrales temporales altère la

formation de la mémoire, tout en épargnant les souvenirs déjà mémorisés. Elles permirent par conséquent d'identifier les lobes temporaux comme support anatomique de la mémoire nouvellement formée [2]. Dans ces lobes, l'hippocampe en particulier, fut établi comme une structure centrale de l'apprentissage, alors que d'autres aires cérébrales, non touchées chez H. M., permettent plutôt de stocker les traces mnésiques une fois formées. Ces autres structures résident dans l'enveloppe corticale et comprennent le cortex sensoriel, visuel, etc. De nombreuses études ultérieures effectuées sur d'autres patients amnésiques ont largement corroboré ces observations et plus récemment, l'utilisation de méthodes d'imagerie modernes a apporté une confirmation visuelle sans équivoque [3, 4].

Bien que les structures anatomiques de la mémoire soient maintenant relativement bien circonscrites, les mécanismes qui permettent aux neurones de recevoir, d'analyser, de transcrire et de conserver les informations reçues sont encore mal connus. Une des propriétés les plus importantes des neurones et de leurs connexions (synapses), et considérée comme essentielle à ces fonctions, est leur plasticité. Ainsi, les neurones sont capables d'adapter leurs réponses à des changements survenus dans l'environnement, de renforcer ou affaiblir leur niveau de communication avec les neurones voisins de façon temporaire ou durable. Un échange efficace et soutenu favorise l'assimilation et la mémorisation d'informations, alors qu'une mauvaise communication conduit à leur dégradation, voire à leur perte. Cette plasticité synaptique serait la base cellulaire des processus d'apprentissage et de mémoire. La question qui se pose alors est de savoir quels constituants moléculaires dans les neurones confèrent cette propriété de plasticité, et comment ces constituants jouent leurs rôles.

Un modèle de plasticité synaptique, découvert en 1973 [5], a été abondamment exploité pour étudier ces composants moléculaires expérimentalement [6]. Ce modèle permet de reproduire, *in vitro* dans des tranches de cerveau maintenues en survivance par perfusion de liquide cébrospinal artificiel, ou *in vivo* chez l'animal anesthésié ou éveillé, des réponses neuronales considérées comme similaires à celles supposées être induites lors de la formation de la mémoire. Dans l'hippocampe ou le cortex, une stimulation électrique intense et

brève de fibres nerveuses conduit à une augmentation de la transmission synaptique, alors qu'une stimulation faible et prolongée bride la transmission synaptique et l'affaiblit. Cet effet distinct d'une stimulation appliquée aux mêmes fibres s'explique en grande partie par une différence de l'afflux de calcium dans les neurones provoqué par la stimulation. Ainsi, des doses élevées pénètrent dans l'espace intracellulaire après une forte stimulation alors que seules des doses minimales filtrent après une faible excitation. A l'intérieur des neurones, la quantité de calcium accumulée détermine la nature et l'ampleur du signal qui sera propagé, car des protéines intraneuronales distinctes sont activées selon leur sensibilité au calcium. Deux classes de protéines en particulier, les protéines phosphatases et les protéines kinases, répondent de manière différentielle. Parmi elles, la protéine kinase CaMKII (calcium/calmodulin-dependent kinase II), une molécule peu sensible au calcium, requiert de hauts niveaux de calcium pour être stimulée. A l'opposé, la protéine phosphatase calcineurine, plus sensible, est recrutée par de faibles niveaux de calcium ambiant. Ces deux types de protéines constituent des pivots essentiels à la plasticité synaptique et au stockage de la mémoire, et jouent un rôle opposé dans ces processus.

Grâce à des manipulations génétiques chez la souris, le mode de fonctionnement des protéines kinases et des protéines phosphatases CaMKII et calcineurine dans le contrôle de la transmission neuronale et de la plasticité synaptique, ainsi que dans les processus d'acquisition et de mémorisation ont été étudiés. Ces études ont dévoilé que la CaMKII agit comme régulateur positif des processus d'apprentissage et de mémoire alors que la calcineurine est un régulateur négatif. Lorsque la CaMKII est éliminée ou inactivée dans les cellules du cerveau par rupture ou altération expérimentale de son gène, les circuits neuronaux perdent leur plasticité et ne répondent plus correctement aux stimulations extérieures. Chez les souris mutantes qui résultent d'une telle manipulation, l'apprentissage et la mémoire sont profondément perturbés. Les animaux n'apprennent ni ne retiennent plus efficacement des informations spatiales comme, par exemple, la position d'une plate-forme échappatoire dans un labyrinthe d'eau, et ont des difficultés à reconnaître des associations de stimuli telles qu'un endroit dans lequel un choc électrique leur a été appliqué [7]. Ces résultats indiquent, par conséquent, que la CaMKII est indispensable à la transmission correcte et efficace des signaux électriques dont dépend le stockage de la mémoire. Il a été suggéré qu'elle remplisse ce rôle en agissant sur une multitude de partenaires substrats, comprenant notamment, des

récepteurs transmembranaires de neurotransmetteurs tels que les récepteurs au glutamate, des facteurs de transcription nucléaires et des protéines du cytosquelette. Bien que certains de ces substrats aient été identifiés et qu'un grand nombre de candidats aient été suggérés, la majorité d'entre eux reste à ce jour indéterminée.

Pareillement à une déficience en CaMKII, un excès de calcineurine dans le cerveau altère fortement la plasticité synaptique et les fonctions cognitives, comme il a été démontré chez des souris transgéniques [8, 9]. En revanche, lorsque la calcineurine est partiellement neutralisée, par exemple, par un inhibiteur spécifique produit artificiellement dans les neurones par le biais d'un transgène (un gène étranger inséré dans le génome par manipulation génétique), la plasticité synaptique et les fonctions cognitives sont largement facilitées [10]. Les circuits neuronaux répondent plus énergiquement et plus longtemps à une stimulation. En conséquence, les souris mutantes ont des capacités mnésiques largement améliorées; elles apprennent plus facilement à s'orienter et à reconnaître des objets, et conservent ces informations plus longtemps en mémoire. De manière similaire, lorsqu'une autre protéine phosphatase en aval de la calcineurine, la protéine phosphatase 1 (PP1), est bloquée avec le même procédé, des effets semblables sont observés [11].

Ainsi, moins de calcineurine ou de PP1 dans le cerveau permet aux souris d'assimiler plus facilement de nouvelles informations que leurs congénères contrôles. Par exemple, dans une tâche de reconnaissance d'objets (voir figure 1a) pour laquelle de longues périodes de repos entre chaque exercice sont nécessaires pour un apprentissage efficace, les souris mutantes ont besoin de très peu de délai entre chaque session d'apprentissage pour atteindre des performances optimales. Elles apprennent plus rapidement et gardent un souvenir plus vivace des objets que les souris contrôles (voir figure 1b et 1c). Elles reconnaissent et se souviennent aussi plus facilement de repères spatiaux appris pour s'orienter dans un labyrinthe. Ces effets, très marqués chez les souris adultes, sont également fortement prononcés chez les souris âgées. Contrairement aux souris contrôles, elles ne présentent pas de déclin cognitif caractéristique du vieillissement mais ont des facultés cognitives préservées, équivalentes à celles des jeunes adultes.

La calcineurine et la PP1 représentent, par conséquent, des contraintes moléculaires qui ont un effet négatif sur les processus cognitifs et dont l'inhibition améliore ces processus. Elles freinent l'efficacité de l'acquisition et favorisent l'oubli. L'existence de ces contraintes expliquerait pourquoi l'apprentissage et la mé-

**Figure 1.**

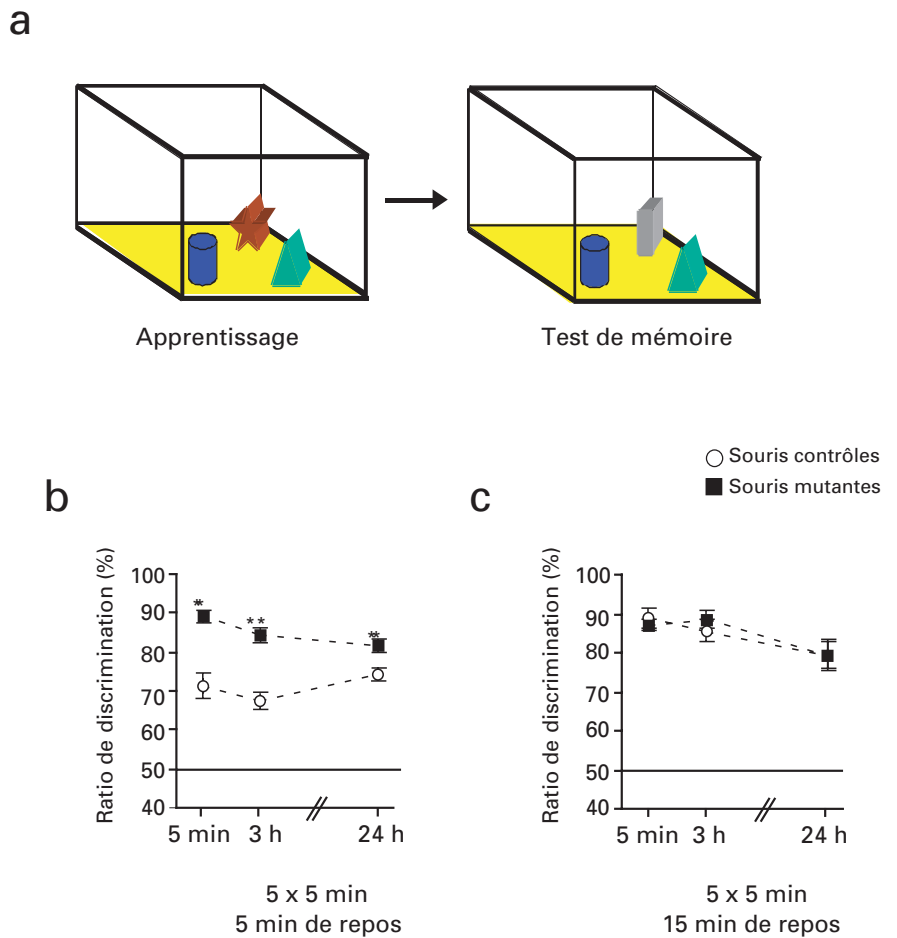
La reconnaissance de nouveaux objets est améliorée lorsque la PP1 est bloquée dans le cerveau.

a) La tâche de reconnaissance d'objets.

Une souris est placée en présence de trois objets nouveaux qu'elle apprend à reconnaître en les explorant pendant une ou plusieurs sessions d'apprentissage. Sa mémoire pour les objets est ensuite testée en plaçant l'animal à nouveau en présence de deux des objets familiers et d'un nouvel objet. Si elle se souvient des objets déjà rencontrés, la souris les explorera peu mais sera plus intéressée par le nouvel objet. Une exploration préférentielle de cet objet reflète par conséquent, sa mémoire pour les objets familiers.

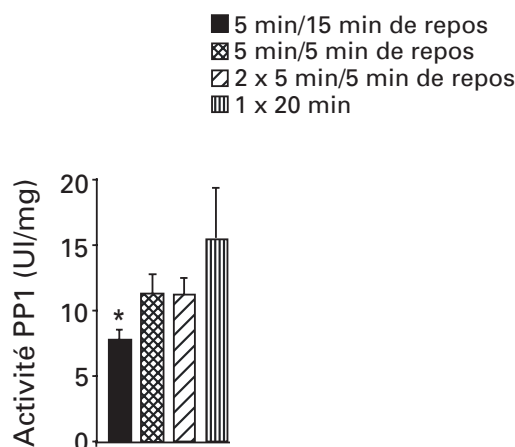
b) Des souris mutantes chez lesquelles la PP1 est inhibée dans le cerveau ont une mémoire largement meilleure 5 minutes, 3 heures ou 24 heures après un apprentissage condensé (5 sessions de 5 minutes espacées de 5 minutes) que chez les souris contrôles.

c) Un apprentissage entrecoupé de longues périodes de repos (15 minutes) permet aux souris contrôles d'atteindre des performances comparables à celles des souris mutantes.



**Figure 2.**

La PP1 est inhibée naturellement après un apprentissage espacé sur la tâche de reconnaissance d'objets. L'activité de la PP1 est mesurée dans le cerveau de souris contrôles après une ou deux sessions de 5 minutes en présence d'objets nouveaux suivies de 5 ou 15 minutes de repos ou après une seule session de 20 minutes sans repos.



moire ont les limites que nous leur connaissons. Pour l'apprentissage, la présence de la PP1 dans le cerveau semble ralentir l'efficacité des exercices de pratique et explique pourquoi des séances répétées et espacées dans le temps sont nécessaires à une mémorisation optimale. En effet, des mesures biochimiques ont démontré que les niveaux de PP1 sont relativement élevés dans le cerveau en temps normal et qu'un apprentissage soutenu et suffisamment distribué est indispensable pour la neutraliser et pour permettre une bonne mémorisation des infor-

mations (voir figure 2). Cette règle s'applique peut-être également à la calcineurine bien que cela n'ait pas été encore vérifié. Un entraînement précipité et massé conduisant à une assimilation superficielle des informations, par contre, reste sans effet sur la PP1. Pour ce qui concerne la mémoire, il semble que la PP1 agisse activement et de manière quasi permanente pour limiter la préservation des informations enregistrées et favoriser leur élimination des circuits neuronaux. Bien que cette propriété apparaisse contre-productive, elle permet, sans aucun doute, d'éviter que les circuits synaptiques ne saturant. Un tel équilibre est essentiel au maintien de l'état fonctionnel du cerveau. Seulement, un excès de PP1 ou un mauvais contrôle de son activité constituent des facteurs qui peuvent entraîner l'oubli. Dans un cerveau sain mais vieillissant en l'occurrence, le dérèglement de l'équilibre cellulaire dû à l'âge résulte en un renforcement de l'action de la PP1, ce qui pourrait être la cause de certains déficits cognitifs de la population sénescence. Cette altération, cependant, ne semble pas endommager les structures cérébrales de manière irréversible, car chez des souris mutantes âgées dans le cerveau desquelles la PP1 est inhibée, des fonctions cognitives normales ont pu être recouvrées [11].

Bien que l'intervention de la calcineurine et de la PP1 ait été fermement démontrée, les mécanismes par lesquelles ces protéines phosphatases opèrent restent largement méconnus. Il s'avère que, tout comme pour la CaMKII, une large gamme de molécules présentes dans les membranes neuronales, l'espace intracytoplasmique ou le noyau cellulaire sont influencées par ces protéines phosphatases. La vaste majorité de ces molécules sont, en outre, elles-mêmes des cibles de protéines kinases telles que la CaMKII, ou d'autres kinases comme la PKA ou la MAPK. Des études récentes ont ainsi révélé l'identité de trois de ces cibles qui sont activées lors de l'apprentissage. L'une correspond à une portion de l'un des récepteurs du glutamate, la sous-unité GluR1 du récepteur AMPA [12]. Lorsqu'elle est active, la sous-unité GluR1 favorise la transmission des signaux entre les neurones. Une autre de ces cibles est un facteur de transcription nucléaire, le cAMP-responsive element binding (CREB), connu comme déclencheur de la synthèse de nouvelles protéines lors de la formation de la mémoire à long terme [13]. La troisième enfin est la CaMKII elle-même, dont le rôle dans la perpétuation des messages biochimiques pendant l'appren-

tissage et la mémorisation a été largement démontré [14]. Ces trois molécules ainsi que de nombreuses autres qui les accompagnent, sont maintenues dans un état quiescent dans les neurones au repos. Elles sont actionnées pendant l'acquisition d'informations, d'une part directement par le signal synaptique lui-même, d'autre part par le biais de l'inhibition des protéines phosphatases qui normalement les paralysent.

En résumé, les nombreux travaux effectués dans le domaine de la neurobiologie cognitive visant à décoder, au niveau moléculaire, les processus d'apprentissage et de formation de la mémoire ces vingt dernières années, ont commencé à révéler certaines facettes des mécanismes de ces processus [15-17]. Beaucoup de travail reste cependant encore à faire. Les approches modernes combinant des disciplines et des techniques diverses apportent désormais de nouveaux outils qui devraient révolutionner le domaine et permettre, dans un futur proche, de mieux comprendre ces mécanismes afin d'identifier les causes de leurs dysfonctionnements.

## Références

- Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1957;20:11-21.
- Corkin S, Amaral DG, Gonzalez RG, et al. M.'s medial temporal lobe lesion: findings from magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 1997; 17:3964-79.
- Momjian S, Seghier M, Seeck M, et al. Mapping of the neuronal networks of human cortical brain functions. *Adv Tech Stand Neurosurg* 2003;28:91-142.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Desfrade C, Jaffard R. Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 1999;400:671-5.
- Bliss TV, Gardner-Medwin AR. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 1973;232: 357-74.
- Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993;361:31-9.
- Rongo C. A fresh look at the role of CaMKII in hippocampal synaptic plasticity and memory. *Bioessays* 2002;24:223-33.
- Winder DG, Mansuy IM, Osman M, et al. Genetic and pharmacological evidence for a novel, intermediate phase of long-term potentiation suppressed by calcineurin. *Cell* 1998;92:25-37.
- Mansuy IM, Mayford M, Jacob B, et al. Restricted and regulated overexpression reveals calcineurin as a key component in the transition from short-term to long-term memory. *Cell* 1998;92:39-49.
- Malleret G, Haditsch U, Genoux D et al. Inducible and reversible enhancement of learning, memory, and long-term potentiation by genetic inhibition of calcineurin. *Cell* 2001;104:675-86.
- Genoux D, Haditsch U, Knobloch M, et al. Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory. *Nature* 2002;418: 970-5.
- Sheng M, Kim MJ. Postsynaptic signaling and plasticity mechanisms. *Science* 2002;298:776-80.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, et al. CREB and memory. *Annu Rev Neurosci* 1998;21:127-48.
- Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 2002;3: 175-90.
- Huang EP, Stevens CF. The matter of mind: molecular control of memory. *Essays Biochem* 1998;33: 165-78.
- Weeber EJ, Sweatt JD. Molecular neurobiology of human cognition. *Neuron* 2002;33:845-8.
- Silva AJ. Molecular and cellular cognitive studies of the role of synaptic plasticity in memory. *J Neurobiol* 2003;54:224-37.