

## Les *spikelets* contribuent à la décharge des « cellules de lieu » de l'hippocampe lors de l'exploration spatiale

Jérôme Epsztein

INMED-Inserm U901,  
Parc scientifique de Luminy,  
163, route de Luminy,  
13273 Marseille Cedex 09, France.  
epsztein@inmed.univ-mrs.fr

### Les « cellules de lieu » de l'hippocampe

Connaître sa localisation spatiale dans son environnement est, pour un individu, une fonction essentielle à sa survie. Chez les mammifères, l'hippocampe, une structure cérébrale située au niveau de la face interne du lobe temporal, participe à ce processus. En effet, à chaque fois qu'un animal se trouve dans une région spécifique de son environnement, les neurones de l'hippocampe envoient des signaux sous forme de potentiels d'action d'où leur qualificatif de « cellules de lieu » [1, 2]. La connaissance des mécanismes du codage de l'information spatiale au niveau de l'hippocampe a rapidement progressé ces dernières années : le développement de techniques d'enregistrement extracellulaires permet de connaître l'activité de nombreuses cellules simultanément chez l'animal éveillé en mouvement. Cependant les mécanismes intracellulaires à l'origine de la décharge spécifique des « cellules de lieu » restent peu connus. Récemment, le développement de nouvelles techniques d'enregistrement intracellulaires chez le rat éveillé en mouvement [3, 4] nous a permis de décrire le rôle d'activités de petite amplitude, les *spikelets*, dans la décharge spécifique des cellules de lieu de l'hippocampe.

### Les *spikelets*, une activité intracellulaire mystérieuse

Les *spikelets* ont été pour la première fois enregistrés dans les neurones de l'hippocampe il y a près de 50 ans,

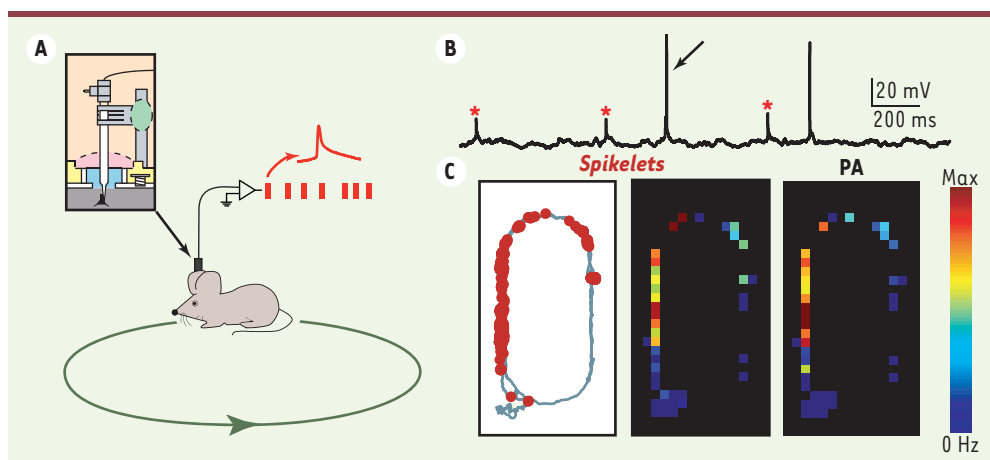
mais leur fonction reste encore mystérieuse [5]. Ces activités doivent leur nom à leur décours temporel rapide ressemblant à celui d'un potentiel d'action (*spike* en anglais) et à leur faible amplitude. Depuis leur observation initiale, les *spikelets* ont été enregistrés dans de nombreux neurones du système nerveux *in vivo* chez l'animal anesthésié et *in vitro*. Il a été initialement suggéré que les *spikelets* pourraient résulter de l'émission de potentiels d'action au niveau dendritique qui seraient enregistrés filtrés au niveau somatique [5]. Cependant, un certain nombre de données suggèrent qu'ils pourraient résulter de la transmission directe d'un potentiel d'action d'un neurone à un autre neurone *via* des jonctions de type communicantes ou jonctions *gap*. Ces jonctions assurent une continuité cytoplasmique entre les cellules permettant le passage direct des signaux électriques. Ainsi, contrairement aux connexions synaptiques où le message électrique doit être transformé en message chimique, ce qui induit un délai synaptique, la transmission du message électrique au niveau des jonctions communicantes est instantanée. La technique la plus directe permettant de tester le couplage électrique entre deux neurones consiste à réaliser des enregistrements intracellulaires simultanés de paires de neurones et à tester le passage direct du courant injecté dans un neurone à l'autre neurone [6, 7]. Ces expériences ont également montré que si deux neurones sont couplés électriquement, l'émission d'un potentiel d'action dans

un neurone induit dans tous les cas la genèse simultanée d'un *spikelet* dans l'autre neurone et inversement [6, 7].

Si le rôle des *spikelets* est encore méconnu, c'est sans doute en raison de l'amplitude de ces activités, trop faible pour être enregistrée par les techniques d'enregistrement extracellulaires classiquement utilisées pour enregistrer l'activité neuronale chez l'animal éveillé en comportement. Seuls des enregistrements intracellulaires de type *patch clamp* ont une sensibilité suffisante pour les enregistrer mais ils étaient encore récemment limités aux préparations *in vitro*. En effet, les enregistrements intracellulaires nécessitent l'utilisation d'une pipette en verre (ou pipette d'enregistrement) dont l'extrémité très fine (de l'ordre du micromètre) doit être mise en contact avec la membrane du neurone dont on souhaite enregistrer l'activité. Ces enregistrements nécessitent donc une grande stabilité mécanique de la pipette par rapport au neurone enregistré qui ne pouvait être obtenue jusqu'alors qu'avec des préparations *in vitro*.

### Rôle des *spikelets* dans la décharge des « cellules de lieu » de l'hippocampe

Récemment, une nouvelle technique permettant de réaliser des enregistrements intracellulaires lors des comportements du rat éveillé a été développée dans le laboratoire du Pr Michael Brecht [3, 4]. La clé de cette nouvelle technique consiste, après l'obtention d'un enregistrement intracellulaire, à stabiliser la pipette d'enregistrement en la fixant de façon rigide au crâne



**Figure 1. Modulation spatiale de la fréquence des spikelets dans l'hippocampe de rat lors d'un comportement d'exploration spatiale.** A. Dispositif expérimental permettant d'enregistrer les *spikelets* (en rouge) chez l'animal éveillé explorant un labyrinthe ovale. La pipette est fixée au crâne de l'animal via du ciment dentaire en deux points d'attache (en rose et vert) une fois que l'enregistrement a

été obtenu. B. Exemple d'enregistrement chez l'animal éveillé illustrant la grande incidence des *spikelets* (marqués par des étoiles rouges). Noter la différence d'amplitude entre les potentiels d'action (flèches) et les *spikelets*. C. Gauche : localisation de l'émission de tous les *spikelets* (points rouges) enregistrés dans une cellule pendant que le rat explore un labyrinthe ovale (les murs internes ne sont pas représentés ; le trajet de l'animal pendant cet enregistrement est représenté en gris) ; milieu, carte de fréquence des *spikelets* en fonction de la position spatiale de l'animal (les couleurs chaudes indiquent une fréquence plus élevée, fréquence maximum : 12,5 Hz) ; droite, carte de fréquence des potentiels d'action (PA) émis indépendamment des *spikelets* en fonction de la position spatiale de l'animal dans la même cellule (les couleurs chaudes indiquent une fréquence plus élevée, fréquence maximum : 10,8 Hz). Noter la similitude de la modulation spatiale de la fréquence des *spikelets* et des PA.

de l'animal (Figure 1A). En utilisant cette technique, nous avons pu enregistrer les neurones de l'hippocampe chez le rat éveillé lors d'un comportement d'exploration spatiale [8]. Nous avons dans un premier temps été surpris de la grande incidence des *spikelets* dans les neurones enregistrés (Figure 1B). En effet, nous avons observé ces événements dans les deux tiers des neurones enregistrés, et leur fréquence moyenne était de l'ordre de 5 Hz alors qu'ils sont rarement enregistrés spontanément *in vitro*. Ces événements pouvaient être observés isolément ou sous la forme de bouffées à haute fréquence (environ 150 Hz). Nous nous sommes ensuite demandé si ces *spikelets* pouvaient contribuer à faire décharger les cellules de l'hippocampe. Le modèle classique postule que la communication chimique est principalement responsable de la décharge des neurones de l'hippocampe. Au niveau des synapses excitatrices, la libération du neurotransmetteur glutamate entraîne une dépolarisation transitoire du neurone post-synaptique appelée potentiel post-synaptique excitateur (PPSE). Ces PPSE s'addi-

tionnent au niveau du corps cellulaire du neurone et, lorsque le potentiel de membrane atteint une valeur seuil, le neurone émet un potentiel d'action sur le mode tout ou rien. Mais l'amplitude des PPSE est très faible *in vivo*, et l'addition d'un très grand nombre d'entre eux est requise pour induire la décharge d'un neurone. Nous avons observé que les *spikelets* avaient une amplitude beaucoup plus grande que les PPSE et qu'un seul *spikelet* pouvait permettre d'atteindre le potentiel-seuil de membrane et faire décharger le neurone. Nos résultats montrent que la contribution des *spikelets* à la décharge neuronale est beaucoup plus importante qu'on ne le pensait, puisqu'environ un tiers des potentiels d'action enregistrés chez l'animal éveillé en mouvement sont générés de cette façon [8]. Pour finir, nous avons voulu savoir si la fréquence des *spikelets* était modulée par la position de l'animal dans son environnement. Dans un environnement donné, nous avons observé qu'environ un tiers des cellules de l'hippocampe émettaient des potentiels d'action en un lieu précis de l'environnement appelé

champ spatial (ce sont les fameuses « cellules de lieu ») alors que les autres cellules restaient silencieuses quelle que soit la position de l'animal dans l'environnement. Nous avons observé que les *spikelets* étaient enregistrés de façon préférentielle dans les « cellules de lieu » par rapport aux cellules silencieuses. De plus, la fréquence des *spikelets* augmentait de façon sélective lorsque l'animal était dans certaines portions de son environnement (Figure 1C). De façon intéressante, nous avons constaté que les régions où la fréquence des *spikelets* était augmentée correspondaient au champ spatial de la cellule enregistrée (Figure 1C). Ces résultats suggèrent que les *spikelets* contribuent à la décharge spécifique des « cellules de lieu » de l'hippocampe en fonction de la position de l'animal dans son environnement.

### Conclusions

Un neurone reçoit des milliers de messages synaptiques en provenance d'autres neurones alors qu'il n'est couplé électriquement qu'à quelques neurones très proches. Nos résultats suggèrent que ces

quelques cellules participent fortement à sa décharge. Ainsi, la transmission électrique pourrait avoir une plus grande importance dans le codage de l'information qu'on ne le pensait précédemment. Ces résultats suggèrent aussi que les cellules de lieu ne seraient pas isolées mais pourraient former de petits groupes, ou assemblées cellulaires, dont l'activité serait synchronisée par les jonctions *gap*. Ceci pourrait avoir des conséquences importantes quant au codage de l'information dans l'hippocampe car l'activité synchrone de plusieurs neurones est beaucoup mieux transmise au niveau de structures cibles. ♦

### Spikelets contribute to place cell firing during spatial exploration

## REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé dans le laboratoire du Pr Michael Brecht au Bernstein Center for Computational Neurosciences, Humboldt University, Berlin, en collaboration avec Albert K. Lee et Edith Chorev. Ce travail a été soutenu par une bourse de Human Frontier Science Program Organization (Long-term Fellowship). Je remercie Julien Artinian pour ses commentaires sur le manuscrit.*

## CONFLIT D'INTÉRÊTS

*Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.*

## RÉFÉRENCES

1. O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 1971 ; 34 : 171-5.
2. O'Keefe J, Nadel L. *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford : Oxford University Press, 1978 : 570 p.
3. Lee AK, Manns ID, Sakmann B, Brecht M. Whole-cell recordings in freely moving rats. *Neuron* 2006 ; 51 : 399-407.
4. Lee AK, Epsztein J, Brecht M. Head-anchored whole-cell recordings in freely moving rats. *Nat Protoc* 2009 ; 4 : 385-92.
5. Spencer WA, Kandel ER. Electrophysiology of hippocampal neurons. IV. Fast prepotentials. *J Neurophysiol* 1961 ; 24 : 272-85.
6. MacVicar BA, Dudek FE. Electrotonic coupling between pyramidal cells: a direct demonstration in rat hippocampal slices. *Science* 1981 ; 213 : 782-5.
7. Mercer A, Bannister AP, Thomson AM. Electrical coupling between pyramidal cells in adult cortical regions. *Brain Cell Biol* 2006 ; 35 : 13-27.
8. Epsztein J, Lee AK, Chorev E, Brecht M. Impact of spikelets on hippocampal CA1 pyramidal cell activity during spatial exploration. *Science* 2010 ; 327 : 474-7.

## NOUVELLE

### Reprogrammation nucléaire et pluripotence L'étrange cas des cellules souches d'épiblaste

Alice Jouneau

INRA, UMR 1198, Biologie du développement et reproduction, bâtiment 230, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France.  
[alice.jouneau@jouy.inra.fr](mailto:alice.jouneau@jouy.inra.fr)

### Épiblaste précoce et épiblaste tardif, deux sources de cellules souches pluripotentes

La pluripotence est définie par la capacité d'une cellule à se différencier dans les trois lignages primaires issus de la gastrulation, le mésoderme, l'endoderme et l'ectoderme [12]. Dans l'embryon, la pluripotence est un état transitoire qui se met en place au stade blastocyste lorsque le trophoblaste, premier tissu extra-embryonnaire, se différencie de la masse cellulaire interne (ICM) qui contient les cellules pluripotentes de l'épiblaste. Cet épiblaste se sépare alors d'un autre lignage extra-embryonnaire, l'endoderme primitif, et prend une structure épithéliale. La pluripotence de l'épiblaste prend fin avec la gastrulation [13, 14] (→).

(→) Voir l'article d'Emmanuelle Kieffer et al., page 848 de ce numéro

Cette courte fenêtre temporelle se situe chez la souris entre les jours 3 et 7 *post-coïtum* et est marquée également par l'implantation de l'embryon dans l'utérus maternel à 4,5 jours. De cette structure transitoire qu'est l'épiblaste peuvent être dérivées des cellules souches qui elles, maintiennent indéfiniment la pluripotence. Les cellules souches embryonnaires (ES) sont issues de l'épiblaste précoce de l'ICM et les cellules ÉpiSC de l'épiblaste plus tardif, prégastrulation (Figure 1). Pendant le développement de l'ICM en épiblaste, la pluripotence cellulaire doit être maintenue malgré l'influence contraire de nombreux signaux de différenciation venus de l'épiblaste lui-même et des tissus extra-embryonnaires qui l'entourent après l'implantation. Les modifications épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN ou les

modifications d'histones (par méthylation, phosphorylation ou acétylation), jouent un rôle majeur dans ce processus, comme le montre la létalité embryonnaire à cette période en l'absence de différents modificateurs épigénétiques [1]. Entre autres, la méthylation *de novo* de l'ADN a lieu pendant cette période péri-implantatoire et aboutit à un épiblaste globalement hyperméthylé par rapport aux tissus extra-embryonnaires. Or, la méthylation de l'ADN est le plus souvent associée à la répression de l'expression génique. Les cellules ES et ÉpiSC doivent refléter ces différences épigénétiques même si chacune diffère de son tissu d'origine en raison de leur nature même de lignée cultivée et immortelle. Elles présentent effectivement entre elles des différences notables du niveau d'expression de gènes ainsi que de leur profil