NNT : 0000AIXM0000

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université
Le 22 novembre 2024

Célia LAURENT

Bases neurales des représentations spatiales d'environnements complexes :

Etudes électrophysiologiques du cortex rétrosplénial, de l'hippocampe et du cortex entorhinal médian

Discipline
Biologie Santé

Spécialité
Neurosciences

École doctorale
ED 62 – Sciences de la vie et de la Santé

Laboratoire
Centre de Recherche en Psychologie et Neurosciences

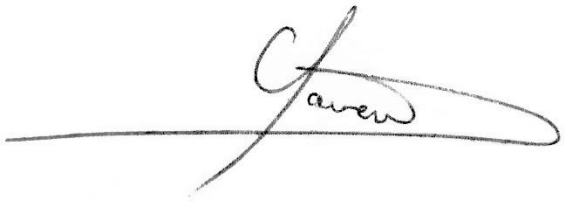
Composition du jury

Desdemona FRICKER DR - CNRS	Rapporteuse
Michael ZUGARO DR – CNRS	Rapporteur
Julie KOENIG MCU – Aix-Marseille Université	Examinatrice
Mathieu BERANECK DR - CNRS	Président du jury
Francesca SARGOLINI PR – Aix-Marseille Université	Directrice de thèse
Pierre-Yves JACOB CR - CNRS	Co-encadrant de thèse

Affidavit

Je soussigné, Célia Laurent, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique de Francesca Sargolini et Pierre-Yves Jacob, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Fait à Marseille, le 27/09/2024



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.

Liste de publications et participation aux conférences

1. Liste des publications réalisées dans le cadre du projet de thèse :

- **Laurent C,** Smith DM, Sargolini F, Jacob P-Y, Retrosplenial cortex encodes both local and global space in connected environments. *Soumis.*
Preprint : https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.08.22.609122v1

- Capitano F, **Laurent C**, Jacob P-Y, Sargolini F. Local expansion of grid cells in the continuous navigation task as a function on the delay. *En preparation*.

- El Mahmoudi N, **Laurent C**, Péricat D, Watabe I, Lapotre A, Jacob P.Y, Tighilet B, Sargolini F. Long-lasting spatial memory deficits and impaired hippocampal plasticity following unilateral vestibular loss. Prog Neurobiol. 2023 Apr:223:102403. doi: 10.1016/j.pneurobio.2023.102403. Epub 2023 Feb 21. PMID: 36821981

2. Participation aux conférences et écoles d'été au cours de la période de thèse :

- Workshop spatial cognition – Cornell University Nov. 2023. Présentation orale : « Retrosplenial cortex activity in multicompartment environments »

- SfN – Washington Nov. 2023. Présentation d'un poster : « Retrosplenial cortex activity in multicompartment environments »

- GDR Mémoire/NeuralNet – Marseille Oct. 2023. Présentation d'un poster : « Retrosplenial cortex activity in multicompartment environments »

- Hippocampal spring conference – Vérone Juin 2023. Présentation orale « Retrosplenial cortex activity in multicompartment environments »

- Neurofrance – Lyon Mai 2023. Présentation d'un poster : « Retrosplenial Cortex represents both global and local space »

- FENS – Paris Juillet 2022. Présentation d'un poster : « Retrosplenial Cortex represents both global and local space »

- GDR Mémoire – Cahors Oct. 2021. Présentation d'un poster : « Retrosplenial Cortex represents both global and local space »

Résumé

Dans son environnement naturel, un rongeur explore des lieux variés, riches en informations et s'y déplace. Ces environnements peuvent être complexes du fait de leur structure, comme des terriers composés de multiples galeries, de formes, de topologie et de reliefs divers. Mais la compartimentation d'un environnement en différents lieux peut également se faire par le comportement de l'animal. En effet, même en absence d'espace séparé physiquement, un animal divise son environnement par les comportements qu'il adopte en différents lieux. Mon travail de thèse montre que l'activité spatiale des cellules de direction, de grille et de lieu, intègre le type d'environnement dans lequel l'animal évolue ainsi que le comportement qu'il adopte en différents lieux.

Mon premier travail montre que dans des environnements composés de pièces connectées le cortex rétrosplénial intègre et génère des activités spatiales selon différents cadre de référence. Certains neurones ont une activité propre à chaque pièce, et pourrait fournir une représentation locale des pièces connectées entre elles (*i.e.* cadre de référence local). En parallèle, d'autres neurones maintiennent une activité stable entre toutes les pièces et pourraient fournir une représentation unique de toutes les pièces ensemble (*i.e.* un cadre de référence global). Ces activités spatiales ancrées selon différents cadres de référence pourraient être nécessaires à une navigation efficace dans des environnements connectés. Le cortex rétrosplénial contient ces deux types d'activités locales et globales simultanément et serait alors une structure clé de la navigation dans des environnements connectés.

Dans une deuxième expérience combinant des enregistrements électrophysiologiques avec un tâche comportementale de navigation dirigée vers un but, j'ai étudié les modifications d'activité des cellules de lieu de l'hippocampe et des cellules de grille du cortex entorhinal média. Dans une première version de cette tâche, les animaux devaient attendre 2 secondes au but pour obtenir une récompense. J'ai alors observé une augmentation de la distance entre les champs d'activité des cellules de grille localement au niveau du but ainsi qu'une activité secondaire des cellules de lieu au but. Ces résultats répliquent ceux de précédentes études publiées ou préliminaires du laboratoire. J'ai ensuite adapté la même tâche sans imposer de délai à l'animal lorsqu'il se trouvait au niveau du but et j'ai observé que l'expansion locale de l'activité spatiale des cellules de grille et l'activité secondaire des cellules de lieu étaient perdues (ou dans une moindre mesure). Ces résultats suggèrent que les activités au but des cellules de lieu et de grille seraient dépendantes des contraintes de la tâche comportementale et des stratégies de navigation utilisées par les animaux.

Mots clés : cortex rétrosplénial, cellules de direction de la tête, cellules multidirectionnelles, hippocampe, cellules de lieu, cortex entorhinal médian, cellules de grille, navigation.

Abstract

In its natural environment, a rodent explores various places rich in information and moves through them. These environments can be complex due to their structure, such as burrows composed of multiple tunnels, varying shapes, topology, and reliefs. However, the compartmentalization of an environment into different places can also occur through the animal's behavior. Indeed, even in the absence of physically separate spaces, an animal divides its environment by the behaviors it adopts in different locations. My thesis work demonstrates that the spatial activity of direction, grid, and place cells integrates the type of environment in which the animal operates, as well as the behavior it exhibits in different places.

My first study shows that in environments composed of connected rooms, the retrosplenial cortex integrates and generates spatial activities according to different reference frames. Some neurons exhibit activity specific to each room and may provide a local representation of the connected rooms (*i.e.,* a local reference frame). In parallel, other neurons maintain stable activity across all rooms and may provide a unique representation of all the rooms together (*i.e*., a global reference frame). These spatial activities anchored in different reference frames may be necessary for effective navigation in connected environments. The retrosplenial cortex contains both types of local and global activities simultaneously and would thus be a key structure for navigation in connected environments.

In a second experiment combining electrophysiological recordings with a goal-directed navigation task, I studied the changes in activity of hippocampal place cells and medial entorhinal grid cells. In an initial version of this task, animals had to wait 2 seconds at the goal to obtain a reward. I observed an increase in the distance between the activity fields of grid cells locally at the goal, as well as a secondary activity of place cells at the goal. These results replicate those of previous published or preliminary studies from the laboratory. I then adapted the same task without imposing a delay on the animal when it reached the goal, and I observed that the local expansion of the spatial activity of grid cells and the secondary activity of place cells were lost (or diminished). These results suggest that the activity of place and grid cells at the goal is dependent on the constraints of the behavioral task and the navigation strategies used by the animals.

Keywords: retrosplenial cortex, head direction cells, multidirectional cells, hippocampus, place cells, medial entorhinal cortex, grid cells, navigation.

Remerciements

Je tiens à remercier chaleureusement l'ensemble des membres du jury qui a accepté d'évaluer ce travail de thèse. Un remerciement particulier à Julie Koenig, qui a suivi l'évolution de mon travail lors des comités de suivi individuels et m'a toujours apporté des conseils avisés. Je vous souhaite à toutes et tous une bonne lecture.

J'ai reporté l'écriture des remerciements au dernier moment, probablement par peur qu'ils ne soient pas à la hauteur des quatre années passées dans le laboratoire. Pierre-Yves, Francesca, vous n'imaginez pas à quel point je me sens chanceuse d'avoir réalisé cette thèse à vos côtés. Francesca, je te remercie pour tes cours de master qui m'ont fait réaliser à quel point la cognition spatiale est passionnante et m'ont donné envie de travailler avec toi, mais également pour ta présence tout le long de ce projet, tu as toujours été d'excellent conseil, bienveillante et tellement fun ! Merci aussi d'être une source d'inspiration dans cette équipe très masculine…

Pierre-Yves, sache qu'il est très difficile d'être ta doctorante. Très difficile, de se sentir à la hauteur (déjà parce que tu mesures 1m90) mais surtout parce que tu m'as offert le meilleur encadrement dont j'aurais pu rêver. Merci d'avoir su transmettre ta passion, partagé tes connaissances mais aussi pour ta disponibilité, ta prévenance et ta bonne humeur. Je te remercie aussi de m'avoir permis de participer à des conférences de Vérone à Ithaca, ces voyages m'ont chaque fois motivée et ont confirmé mon envie de poursuivre la recherche (avec une mention spéciale pour Ithaca et un immense merci à David pour son accueil). J'ai profité chaque jour de ton expertise scientifique, ainsi que dans des domaines un peu moins académiques (tels que le champagne, la musique, Clapton ou les fonds d'écrans improbables…).

Merci également de m'avoir intégrée à cette équipe un peu « Space » qui se situe entre la bande d'amis que tout le monde voudrait avoir et les Avengers de la science. J'ai énormément appris à vos côtés, merci pour tout.
Vincent, merci pour ton humour, tes leçons de philosophie des sciences, ta curiosité et tes suggestions scientifiques toujours pertinentes. Etienne, pour tes visites lors des promenades quotidiennes, tes talents de guitariste et ton « humour de papa ». Franck et Bruno L., les « dealers » du laboratoire, très consciencieux et toujours disponibles. Bruno P. pour avoir instauré la tradition des déjeuners-kebabs dans l'équipe, nous faire profiter de ton expérience et ta convivialité, je retiendrai ton conseil pour l'écriture « KISS » !

Et puis tous ceux avec lesquels j'ai partagé mon bureau, Nada ma grande sœur du labo, merci de m'avoir transmis tes connaissances, de m'avoir fait confiance pour les premières manips de thèse, d'avoir affronté avec moi les défis d'un système d'électrophysiologie légèrement

vieillissant et puis d'être devenue mon amie, jusqu'à me laisser martyriser Oréo. Jean-Yvou et Ju, votre optimisme et votre dynamisme débordant me manquent terriblement, mais ce qui me rend nostalgique c'est surtout de ne plus vous voir chouchouter vos petits rats entre deux expériences, puis les soirées passées à déguster les plats succulents de Jean-Yves ou la bière maison de Julien. Fab, le scientifique que tout doctorant rêve de devenir (titulaire et brillant) ! Merci pour ta générosité, ta simplicité et ton amitié. Antoine, le plus marseillais des compiégnois, le plus déterminé sur les voies d'escalade, les chaussettes en place : la relève est là.

Un grand merci à Elodie, Jean-Luc et Jérôme qui prennent soin de nos animaux ainsi qu'à Nathalie, Isabelle, Agnès, Sabine, Kévin, Françoise, Didier et Danny sans qui le travail de recherche serait impossible. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler et échanger avec chacun et chacune d'entre vous. Un immense merci aux gestionnaires, Angélique, Vincent et Joëlle qui ont su faire face à Notilus et Goelett : vous avez ma gratitude éternelle. Merci également à la direction de ce labo tout neuf, pour votre accueil et votre sympathie. Julien, Jacques et Nadia merci d'être toujours attentionnés et de bonne humeur, Laurence d'animer le couloir de tes rires contagieux et Boris, le plus passionné d'escalade !

Et bien sûr les doctorants du labo. Nath et Régis, j'ai adoré être à vos côtés depuis nos années de licence, merci de m'avoir prêté une oreille attentive, toujours rassurants et présents. Gaëlle, Manon, Ali, Maxime, Lisa, Sonia, Rebecca, Guillem, Zoé, Lou, Raph et Daniela, merci pour tous les bons moments, les échanges et les éclats de rire.

Un grand merci à ma famille et mes amis, que j'ai bien trop peu vu ces derniers temps. Et évidemment Paul, merci pour tout, mais surtout pour tes gambas.

Table des matières

Affidavit **1**
Liste de publications et participation aux conférences **2**
Résumé **3**
Abstract **4**
Remerciements **5**
Table des matières **7**
Introduction **10**
1. De la perception de l'espace à la formation de référentiels spatiaux **12**
Utilisation des informations spatiales allothétiques et idiothétiques **12**
Stabilité et distance des repères spatiaux **17**
Géométrie entre les repères, géométrie structurelle et topologie **21**
Les référentiels spatiaux **27**
Les stratégies de navigation **30**
2. Corrélats neuronaux de la navigation spatiale **36**
Les cellules de lieu **39**
Les cellules de grille **52**
Les cellules de direction de la tête **61**
3. Influence de la tâche comportementale et de l'environnement sur l'activité des cellules spatiales **70**
Comportements de navigation dirigés vers un but **71**
Relation géométrique entre les repères **81**
Géométrie structurelle **82**
La topologie **88**
Les environnements connectés **92**
Des activités directionnelles hors du commun **103**
4. Le cortex rétrosplénial **110**
Neuroanatomie **111**
Rôles du cortex rétrosplénial **120**
Contributions expérimentales **137**
Etude 1 : Représentation d'environnements composés de pièces connectées **139**
Introduction **140**
Matériels et méthodes **142**

Résultats **152**
Discussion **172**

Etude 2 : Activité des cellules de grille et de lieu dans une tâche de navigation orientée vers un but 185

Introduction **187**
Matériels et méthodes **191**
Résultats **199**
Discussion **214**

Discussion Générale 220
Bibliographie 236
Annexes 253

Introduction

La capacité à s'orienter et se déplacer dans un environnement serait supportée par des représentations mentales de l'espace, ce qui permettrait aux animaux d'emprunter les chemins les plus directs et/ou les plus sûrs. La survie de nombreux animaux dépend de cette faculté à se localiser et naviguer dans l'espace (Gallistel, 1990). L'existence de cette représentation interne spatiale a été proposée par Tolman en 1948 sous le nom de carte cognitive. Tolman a conceptualisé la carte cognitive à partir de travaux montrant qu'un animal est capable d'emprunter des détours ou raccourcis qui sont les plus optimaux. Ces observations l'ont conduit à penser que les déplacements de l'animal ne pouvaient pas se réduire à une simple succession d'association stimulus- réponses, mais résultaient de la capacité de leur cerveau à utiliser une carte mentale de l'environnement. Cette carte intégrerait les différents éléments de l'environnement ainsi que leurs relations spatiales. De ce fait, cette carte permettrait d'inférer des raccourcis, des détours, ou tout itinéraire adapté à une situation donnée. De nombreuses études comportementales mettant en évidence une telle capacité des animaux ont conforté l'hypothèse de l'existence d'une carte cognitive de, mais c'est en 1971 qu'une découverte va propulser cette théorie sur le devant de la scène. Cette année-là, O'Keefe et Dostrovsky découvrent que des cellules pyramidales de l'hippocampe présentent une activité spécifique à une position de l'animal dans son environnement. O'Keefe et Nadel (1978) proposent ensuite une théorie selon laquelle l'hippocampe serait le support neuronal de la carte cognitive à travers la découverte de l'activité spatiale des cellules de lieu hippocampiques. Par la suite, d'autres neurones présentant des activités spatiales ont été identifiés dans d'autres régions cérébrales, formant un réseau cérébral qui sous-tendrait la cognition spatiale. Parmi ces cellules spatiales, 3 principales sont identifiées : les cellules de lieu de l'hippocampe, les cellules de direction de la tête distribuées dans de nombreuses aires cérébrales et qui s'activent lorsque la tête de l'animal pointe vers une direction précise (Taube, Muller et Ranck, 1990, Taube, 2007 -revue), puis les cellules de grille du cortex entorhinal médian qui présentent une activité à des positions régulières dans l'environnement (Fyhn *et al.*, 2004). Les travaux de ces dernières décennies mettent de plus en plus en évidence que les activités de ces cellules ne sont pas

figées dans un environnement donné mais reflèteraient les différentes caractéristiques spatiales qu'il peut contenir ainsi que les comportements qui y sont adoptés.

Au cours de ma thèse, je me suis intéressée à la contribution du cortex rétrosplénial, de l'hippocampe et du cortex entorhinal médian dans le codage des environnements complexes. Pour ce faire, une approche électrophysiologique a été utilisée chez des rats explorant des environnements composés de pièces connectées ou réalisant une tâche de navigation vers un but.

Dans une première partie, je décrirai les différentes informations pouvant être utilisées afin de s'orienter dans un environnement et à partir desquelles diverses stratégies de navigation peuvent être mises en place. Dans une seconde partie, j'exposerai les propriétés des cellules spatiales pouvant servir de support à la carte cognitive. Puis, dans une troisième partie, je décrirai les modulations d'activité de ces cellules en réponse à des changements environnementaux ou cognitifs. Enfin, je présenterai la neuroanatomie du cortex rétrosplénial comprenant une description de la structure et ses connexions avec différentes régions cérébrales, et je détaillerai les différentes fonctions dans lesquelles il est impliqué.

Je présenterai ensuite les résultats de deux expériences que j'ai réalisées au cours de ma thèse. La première s'intéresse au codage des environnements composés de pièces connectés en analysant l'activité des neurones du cortex rétrosplénial et de l'hippocampe chez des rats. La seconde expérience étudie les effets d'une tâche de navigation orientée vers un but sur l'activité des cellules du cortex entorhinal médian et de l'hippocampe.

Une discussion générale permettant d'interpréter ensemble les résultats de ces deux expériences clôturera ces travaux.

1. De la perception de l'espace à la formation de référentiels spatiaux

Comment naviguer dans son environnement ? Deux principaux types d'informations sont utilisés pour naviguer : les informations idiothétiques issues des mouvements propres du navigateur et les informations allothétiques issues du monde extérieur.

Utilisation des informations spatiales allothétiques et idiothétiques

1. Les informations idiothétiques

Les animaux peuvent déterminer leur position spatiale, leurs déplacements passés et futurs en s'appuyant sur les **informations idiothétiques** issues des mouvements propres du corps, qui permettent de percevoir les changements de position et de direction (Barlow, 1964). Dans l'obscurité par exemple, il est toujours possible de naviguer alors que les informations externes sont absentes (comme les informations visuelles). En 1907, Watson observe que des rongeurs sont capables de naviguer dans le labyrinthe de Hampton Court (**figure 1. A**), sans jamais toucher les murs, même s'ils sont à la fois aveugles, sourds, anosmiques et dépourvus de vibrisses. Plus tard, Mittelstaedt et Mittelstaedt (1980) testent la capacité des gerbilles à se repérer dans l'obscurité, sans repères externes. Les expérimentateurs placent le petit d'une gerbille dans une arène circulaire (à un emplacement inconnu de la mère). Lorsque la mère gerbille entre dans l'arène, elle adopte directement un comportement de recherche, avec des déplacements aléatoires jusqu'à ce qu'elle trouve son petit. La mère gerbille attrape son petit puis effectue, lors du retour, une trajectoire directe vers le nid afin de se mettre en sécurité (**figure 1. B**). Elle y parvient parfaitement, alors même que la position du nid et du petit varient à chaque essai.

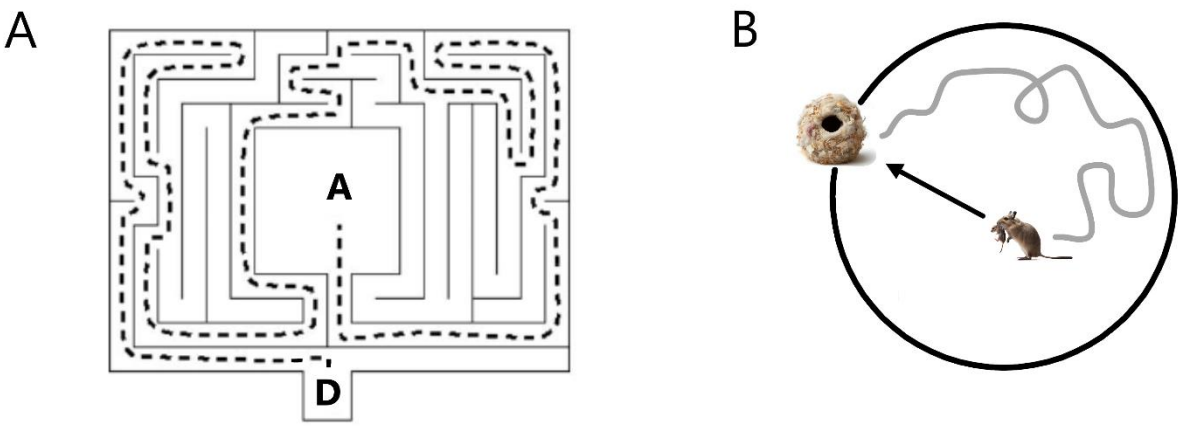


Figure 1. Navigation à partir des informations idiothétiques
A. Labyrinthe de Hampton Court utilisé par Watson (1907). « D » indique le point de départ de l'animal et « A » son point d'arriver, la ligne pointillée représente sa trajectoire.
B. La gerbille quitte son nid et explore aléatoirement l'arène circulaire (trajectoire grise) jusqu'à retrouver son petit, puis le ramène alors directement au nid (flèche noire). *Tâche de l'étude de Mittelstaedt et Mittelstaedt (1980).*

Cette stratégie, appelée « intégration de trajets », correspondrait à l'intégration des informations de mouvement depuis le point de départ et durant tout le trajet (je développerai en détail cette stratégie de navigation dans la partie « **Les stratégies de navigation** »). L'intégration de trajets dépend, entre autres, des informations vestibulaires : si l'arène subit une rotation pendant que la mère gerbille cherche son petit, celle-ci compense cette rotation et retourne vers la position initiale du nid. En revanche, lorsque la rotation est réalisée en dessous du seuil de détection vestibulaire, la gerbille ne compense pas et se dirige donc vers la nouvelle position du nid. L'implication du système vestibulaire est également démontrée par des études lésionnelles qui montrent des déficits, obligeant les animaux à utiliser d'autres types d'informations comme les repères externes (Stackman et Herbert, 2002 ; Wallace *et al.*, 2002 ; Allen *et al.*, 2007). Etienne (1992) place des hamsters dans une arène circulaire au centre de laquelle se trouve une plateforme contenant de la nourriture. Naturellement, un hamster ira chercher la nourriture puis retournera directement à son nid où il pourra la consommer en sécurité. Si la plateforme subit une rotation pendant qu'un animal s'y trouve (lorsqu'il récupère la nourriture), il empruntera une trajectoire de retour vers le nid moins précise que celle d'un animal qui n'a pas été déplacé passivement. Le système vestibulaire détecte les accélérations linéaires et angulaires dans le cas de déplacements actifs comme passifs (Day et Fitzpatrick, 2005). En conséquence, la différence de précision avec laquelle les

animaux retournent vers leur nid entre déplacements actifs et passifs n'est pas seulement due aux signaux vestibulaires. En effet, ils sont complétés par d'autres informations issues des déplacements des animaux : la proprioception, la copie d'efférence somatosensorielle et le flux optique.

Cependant, dans des conditions classiques de navigation, il est plutôt rare de naviguer uniquement à partir des informations idiothétiques. L'environnement est doté de multiples repères externes utiles à la navigation qui viennent compléter les informations idiothétiques.

2. Les informations allothétiques

Il est aussi possible de naviguer en reposant ses déplacements sur les différents repères externes captés *via* les récepteurs sensoriels visuel, olfactif, auditif et tactile : ce sont les **informations allothétiques**. Les repères visuels peuvent être utilisés pour guider le déplacement des rats adultes, comme constaté dans la tâche de la piscine de Morris. Instinctivement les rats cherchent à sortir de l'eau, ils vont donc nager à la recherche d'une plateforme immergée sous l'eau (donc invisible pour l'animal) sur laquelle ils se sentent à l'abri. Un rat immergé dans une piscine d'eau va essayer de s'échapper de cet environnement aversif. Comportementalement, cela se traduit par un rat nageant à la recherche d'un moyen de s'échapper, que l'expérimentateur lui fournit en plaçant une plateforme immergée sous l'eau (donc invisible pour l'animal). Une fois la plateforme trouvée, lors des essais suivants, les animaux seront capables de l'atteindre de plus en plus efficacement en utilisant des repères visuels situés autour de la piscine (Morris, 1981 ; **figure 2**). Dans cette expérience, les repères de la pièce expérimentale (une fenêtre, une porte, des étagères et une armoire) visibles depuis toutes les positions de la piscine peuvent être utilisés pour localiser la plateforme et s'y diriger directement. À partir de ces repères, l'animal va mémoriser les relations spatiales entre ces derniers et la plateforme (c'est-à-dire une représentation mentale de son espace), ce qui lui permettra de savoir où se trouve la plateforme quelle que soit sa position dans son espace.

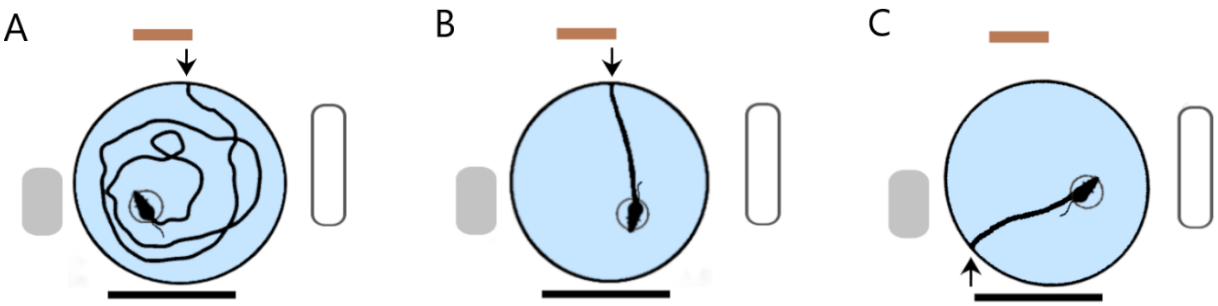


Figure 2. Tâche de la piscine de Morris (1981)
A. Avant l'apprentissage de la tâche, le rat cherche à s'échapper de la piscine (trajectoire représentée par le trait noir) jusqu'à ce qu'il trouve la plateforme (cercle gris).
B. L'animal a appris qu'une plateforme est immergée sous l'eau et s'y dirige directement.
C. Lorsque le point de départ est changé, l'animal effectue une trajectoire directe vers la plateforme, montrant qu'il utilise les repères visuels externes. Les flèches indiquent les points de départ. Quatre repères visuels sont placés autour de la piscine.

Au contraire, des rats atteints de sévères pertes de photorécepteurs (provoquant un déficit visuel empêchant toute utilisation de repères visuels) ne parvenaient pas à apprendre la tâche (O'Steen *et al.*, 1995). De même, des souris naviguant dans un couloir linéaire à l'intérieur d'un dispositif de réalité virtuelle apprennent les positions de récompense seulement si des repères visuels sont disponibles (Youngstrom *et al.*, 2012). Il semble que les repères visuels sont privilégiés par rapport aux autres types de repères externes (Zoladek et Roberts, 1978). Dans une tâche où un rat adulte doit repérer le trou relié à sa cage parmi cinq trous identiques, l'utilisation des repères visuels est préférée à celle des repères olfactifs, bien que ces derniers permettent de guider la navigation s'ils sont les seuls repères présents (Rossier et Schenk, 2003). D'autres travaux (Lavenex et Shenk 1995 ; 1998 ; Maaswinkel et Whishaw, 1999) démontrent aussi que les repères visuels sont prioritaires, mais en leur absence, les repères olfactifs permettent également de naviguer dans différentes tâches (labyrinthe radial, « cheese board », « homing »). De la même manière, les stimuli tactiles permettent aux souris d'identifier la position d'une récompense alors qu'elles sont plongées dans l'obscurité (Lande *et al.* 2023). Enfin, il semblerait que la présence de repères auditifs dans une arène circulaire permet aussi à des souris de naviguer jusqu'à une zone but associée à une récompense (Watanabe et Yoshida, 2007). Cependant l'utilisation seule des repères auditifs s'avère impossible dans certaines conditions expérimentales : malgré la présence de trois repères auditifs dans une tâche de piscine de Morris, les rats ne parviennent pas à trouver

efficacement la plateforme immergée alors qu'ils y parviennent avec trois repères visuels situés aux mêmes positions, et il leur est même impossible de naviguer vers un repère auditif situé à l'emplacement de la plateforme alors qu'un repère visuel le permet (Rossier *et al.*, 2000). Il est possible que dans ces conditions les repères auditifs soient difficiles à discriminer lorsqu'ils sont seuls car ils sont moins bien définis spatialement que les repères visuels. D'autant que dans cette expérience, la réflexion des sons n'était pas contrôlée, la directionnalité du signal auditif est possiblement déviée par l'eau de la piscine et ses parois. Néanmoins, lors d'une configuration multimodale (par exemple repères visuels et olfactifs), l'apprentissage de la tâche devient plus rapide (Lavanex et Shenk, 1995 ; Rossier *et al.*, 2000), montrant une intégration et une association des informations provenant de différentes modalités sensorielles. Les repères visuels apporteraient donc un point de référence stable permettant de placer les repères auditifs en relation avec les repères visuels. Ainsi, l'environnement est perçu de manière plus complète et plus précise, ce qui améliore les capacités de navigation.

En conclusion, bien que les repères visuels soient prédominants, tous les repères allothétiques peuvent être utilisés en synergie. La prédominance des repères visuels pourrait s'expliquer par la possibilité d'en localiser, utiliser plusieurs à la fois et à différentes distances ainsi que par leur très bonne définition spatiale. Au contraire, les repères olfactifs ou auditifs semblent moins pertinents pour la navigation car ils sont moins détectables à distance, difficiles à discriminer lorsqu'ils sont trop nombreux et plus diffus spatialement (gradient d'intensité sonore et olfactif, flux olfactif). Quant aux informations tactiles, elles sont indétectables à distance, les informations qu'elles fournissent sont donc discontinues mais très bien définies spatialement, ce qui donne à l'animal la capacité de mettre à jour sa position lorsqu'il est en train de toucher un repère.

3. Les informations allothétiques et idiothétiques

Dans un milieu naturel, un animal se trouve exposé à la fois aux informations idiothétiques et allothétiques qui sont intégrées et utilisées en parallèle, permettant toutes deux d'extraire les informations pertinentes à la navigation. Dans l'obscurité où les informations allothétiques ne sont pas disponibles, la navigation ne peut reposer que sur les informations idiothétiques.

Mais la plupart du temps, à la lumière, les repères allothétiques sont présents et manifestement utilisés car leur modification impacte les performances des animaux dans des tâches de navigation spatiale. Lorsque informations allothétiques et idiothétiques sont conflictuelles, l'utilisation de l'une ou de l'autre dépend du degré de conflit. Dans une expérience, des hamsters doivent récupérer de la nourriture dans une arène polarisée par un repère visuel puis retourner à leur nid. Lorsque le conflit entre le repère visuel et les informations de mouvement est faible, les hamsters s'appuient sur les informations visuelles. Ce n'est que lorsque le conflit augmente, avec une rotation importante du repère visuel, que les animaux s'appuient sur leurs informations de mouvement (Etienne *et al.*, 1990).

Mais « Il y a le bon repère et il y a le mauvais repère », alors qu'est-ce qu'un bon repère allothétique ? Toutes les informations allothétiques ne s'avèrent pas pertinentes pour naviguer. Les animaux doivent sélectionner, traiter puis stocker certains repères pour en extraire certains paramètres. Dans les sections suivantes, je décrirai les paramètres extraits des repères allothétiques, essentiels à la navigation.

Stabilité et distance des repères spatiaux

1. Stabilité des repères

Les repères externes utilisés pour naviguer doivent être **stables**. Toujours présent, un repère stable pourra être utilisé de manière fiable pour calculer les déplacements. Au contraire, un repère instable (par exemple une voiture) ne peut pas être utilisé comme un repère fiable pour se déplacer. Biegler et Morris (1993 et 1996) mettent en évidence que la stabilité des repères s'avère indispensable pour que des rats retrouvent de la nourriture cachée. De même, Prados *et al.* (1998) montrent que, lorsque les relations entre une plateforme immergée dans une piscine et les repères allothétiques sont stables, des rats apprennent plus rapidement et avec un plus haut taux de réussite à retrouver la plateforme.

2. Distance des repères

Les repères allothétiques stables peuvent se trouver à des distances variables de l'animal et de son environnement. **Les repères proximaux** sont définis comme étant ceux situés à l'intérieur de l'environnement dans lequel l'animal évolue, ce dernier ayant la possibilité de se déplacer jusqu'à eux et les toucher[1]. Les repères proximaux fournissent des informations de position précises mais leur angle de vue et direction varient en fonction des déplacements de l'animal, les rendant moins stables/fiables. **Les repères distaux** se trouvent en dehors de l'environnement dans lequel évolue l'animal, il ne peut donc s'en approcher. Les repères distaux demeurent très stables car leur distance, leurs relations angulaires et l'angle de vue au cours des déplacements de l'animal varient très peu voire pas du tout, offrant une information directionnelle fiable à l'observateur.

Dans une tâche de piscine de Morris, Chamizo *et al.* (2006) étudient l'impact de la distance entre des repères proximaux et un but à atteindre : les animaux sont plus performants lorsqu'un repère proximal est proche de la plateforme. Un repère proximal positionné à l'emplacement du but à atteindre constitue une « balise », il fournira des informations de direction et de position très précises tout au long de la navigation vers le but. Il suffit de se déplacer jusqu'à l'emplacement de la balise, ce type de navigation s'avère donc très simple, fiable et précis. Whishaw et Mittleman (1986) apprennent aux rongeurs à réaliser la tâche de la piscine de Morris, dont la plateforme est associée à une balise dans une pièce expérimentale contenant de nombreux repères distaux visibles par les animaux. Dans cette configuration, ils peuvent simplement diriger leurs déplacements vers la balise et/ou estimer le trajet à effectuer en s'appuyant sur les repères distaux. Ces rats apprennent la tâche plus rapidement que ceux n'ayant pas de repère de type « balise » associé à la plateforme, confirmant bien l'utilisation de ce repère proximal pour la navigation. Lorsque les animaux se déplacent vers la plateforme indicée, une séquence de différentes stratégies de navigation est observée : les animaux s'orientent d'abord vers le centre de la piscine, puis utilisent les repères distaux pour s'orienter vers la plateforme et enfin se dirigent vers le repère de la plateforme. Après

[1] Lorsqu'un animal explore un environnement, il passe plus de temps autour des objets et repères saillants. Il augmente aussi le nombre de contacts avec son museau et ses vibrisses sur ces objets et repères. Cette exploration des objets permet d'en extraire les propriétés (taille, forme, odeur, texture, couleur, etc). Si un repère est déplacé ou si un nouveau repère est disposé dans l'environnement, l'animal effectue plus de contacts sur ce dernier repère, signe qu'il détecte les changements (Poucet *et al.*, 1986 ; Ennaceur et Delacour, 1998 ; Skov-Rackette *et al.*, 2001).

l'apprentissage, les animaux réalisent un test au cours duquel la plateforme et la balise sont retirées. L'utilisation des repères distaux est alors démontrée puisque les rats naviguent toujours très bien jusqu'à l'emplacement de la plateforme. De plus, lorsque la plateforme est indicée mais disposée à un nouvel emplacement, les rats naviguent d'abord jusqu'à l'ancienne position de la plateforme (ils se fient donc prioritairement aux repères distaux pour naviguer) et, seulement ensuite, jusqu'à sa nouvelle position (ils suivent alors la balise située sur la plateforme). Bien que les animaux sachent s'appuyer le repère proximal pour diriger leurs déplacements, il semble finalement que les repères distaux sont préférentiellement utilisés dans cette tâche. Toutefois, même si ces rats utilisent bien les repères distaux, ils naviguent jusqu'à la plateforme moins précisément que des animaux ayant appris la tâche dans une configuration où seuls les repères distaux sont disponibles (Redhead *et al.*, 1997 ; **figure 3**). De plus, Hébert *et al.*, (2017) montrent que lorsque des souris ont à la fois accès à des repères proximaux et distaux pendant l'exploration d'un bras dans un labyrinthe en T, elles identifient bien le bras déjà exploré si seuls les repères distaux sont disponibles alors qu'elles n'y parviennent pas si seuls les repères proximaux sont disponibles (**figure 3** ; pour des résultats similaires voir Chamizo *et al.*, 1985).

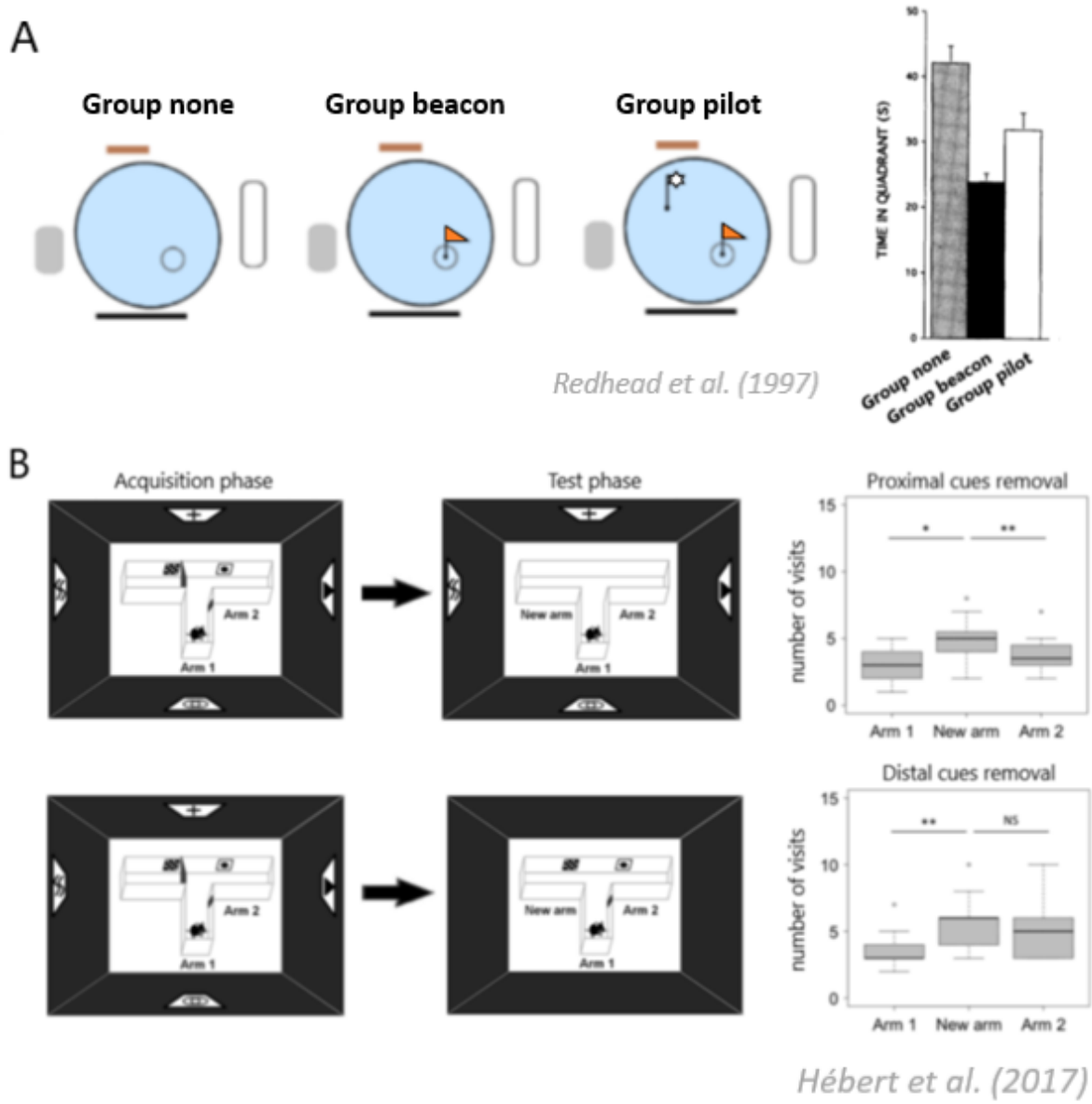


Figure 3. Repères distaux *vs* proximaux

A. Dans la tâche de piscine de Morris, après apprentissage de la tâche, la plateforme est retirée. Les animaux ayant appris la tâche avec la plateforme associée à une balise (« *group beacon* ») passent moins de temps dans le quadrant de la plateforme que les animaux ayant appris la tâche avec deux repères proximaux (l'un indiquant la plateforme et l'autre placé dans le quadrant opposé, « *group pilot* ») et que le groupe sans repère proximal (« *group none* »). *Figure issue de Redhead et al. (1997).*

B. Pendant la phase d'acquisition (à gauche), des repères distaux et proximaux sont perceptibles et un bras du labyrinthe en T est fermé. Une souris est placée dans le bras 1 et peut explorer les deux bras accessibles (le bras 1 et le bras 2) pendant 5 minutes. Elle retourne dans sa cage pendant 2h30 puis effectue la phase test (au milieu) durant laquelle elle peut explorer les trois bras du labyrinthe où sont retirés soit les repères proximaux soit les repères distaux. Lorsque les repères proximaux sont retirés, la souris identifie bien le nouveau bras mais pas lorsque les repères distaux sont retirés. *Figure issue de Hébert et al. (2017).*

Confirmant la distinction dans le traitement des repères proximaux et distaux, des études lésionnelles ont révélé que des structures différentes sont impliquées dans le traitement des repères de type balise (le noyaux caudé), proximaux (le striatum dorsal) et distaux (le cortex entorhinal, le cortex pariétal associatif, le fornix, l'hippocampe) (Save et poucet, 2000 ; Parron *et al.* 2004 ; Packard *et al.*, 1992 ; Rice *et al.*, 2015).

D'après ces études, naviguer sur la base des repères distaux fait l'objet d'un apprentissage plus long, puisqu'estimer sa position et la trajectoire à réaliser pour atteindre un but demande aux rats de former des relations spatiales entre les différents repères distaux mais aussi entre les repères distaux et eux-mêmes. Les repères proximaux et distaux peuvent être utilisés en parallèle car ils fournissent des informations complémentaires et contrôlent des aspects différents de la navigation. Les repères proximaux fournissent plutôt des informations de position : ils peuvent être suivis comme une balise ou permettent d'atteindre un but au voisinage du repère. Les repères distaux, quant à eux, fournissent des informations de direction. Ils peuvent être perçus comme plus stables que les repères proximaux car contrairement à ces derniers, leurs distances, leurs relations angulaires et leurs angles de vue restent constants, quelle que soit la position de l'animal. Ce sont certainement ces propriétés qui les rendent plus évidents à utiliser pour naviguer dans les tâches citées précédemment. Mais comment peut-on se localiser à partir de ces repères ?

Géométrie entre les repères, géométrie structurelle et topologie

1. Relation géométrique entre les repères

Un environnement se définit, entre autres, par ses repères et par les relations spatiales qui lient ces repères. Les animaux sont capables d'extraire une géométrie à partir de ces relations spatiales. Grâce à la géométrie, ils peuvent extraire leur position et celle d'un but, ce qui soutient *in fine* la capacité à naviguer. De ce fait, pour être utile, un repère distal ne peut être seul : c'est la relation spatiale entre ce dernier et d'autres éléments présents dans l'environnement (un repère distal ou proximal, les bords de l'arène, un angle…) qui permet d'extraire une géométrie dans l'environnement et de s'y repérer.

Benhamou et Poucet (1998) exposent que les animaux apprennent à naviguer vers une plateforme, dans le test de la piscine de Morris, en s'appuyant sur la configuration géométrique des objets disposés dans la piscine. En effet, ils localisent très bien la plateforme lorsque les objets sont agencés en triangle isocèle mais pas lorsqu'ils forment un triangle équilatéral (lorsque les distances et les angles sont identiques entre tous les repères) alors même que les trois objets sont différents. Ici aussi, les rats sont capables d'extraire les propriétés géométriques des repères et cette géométrie devient prioritaire sur l'identité des objets. Greene et Cook (1997) confirment que les animaux s'appuient sur la géométrie formée par les positions des objets bien que l'identité des objets soit aussi distinguée.

2. Géométrie structurelle

Dans certaines situations, il semble que la géométrie structurelle, c'est-à-dire la géométrie formée par les limites de l'environnement dans lequel évolue un animal, peut être utilisée comme un repère capable de guider la navigation, surpassant même l'utilisation des repères visuels classiques (comme un objet ou une « *cue card* »). Des rats, devant trouver de la nourriture enfouie sous le sol dans un des angles d'une arène rectangulaire, réussissent à identifier l'angle renforcé mais cherchent aussi à l'angle de la diagonale opposée, alors même que des repères visuels distincts permettent de différencier ces deux angles (Cheng, 1986 ; Margues et Gallistel, 1988 ; **figure 4.A**). Ces erreurs suggèrent que l'utilisation des caractéristiques géométriques prédominent sur les repères visuels. En effet, les deux angles opposés d'un rectangle sont équivalents d'un point de vue géométrique (ils sont tous deux constitués d'un grand mur à gauche et d'un petit mur à droite lorsque l'animal se trouve en face), ce qui les rend indifférenciables si aucun autre repère n'est utilisé. Des résultats similaires ont plus récemment été obtenus chez des souris placées dans deux arènes rectangulaires qui se distinguent par le motif d'un des petits murs (les autres sont blancs). Les animaux doivent récupérer une récompense enfouie dans l'angle gauche du mur se distinguant par un motif, dans la première arène, et dans l'angle droit du mur se distinguant par un second motif, dans la seconde arène. Les souris savent très bien différencier les deux arènes car elles réussissent à récupérer la récompense à la bonne position dans chaque arène. Mais dans chaque arène, elles vont aussi chercher la récompense à l'angle de la diagonale

opposée, s'appuyant prioritairement sur la géométrie structurelle de l'arène (Julian *et al.*, 2015 ; **figure 4.B**). Ces animaux sont donc capables d'extraire une géométrie à partir des angles et distances des murs de leur environnement.

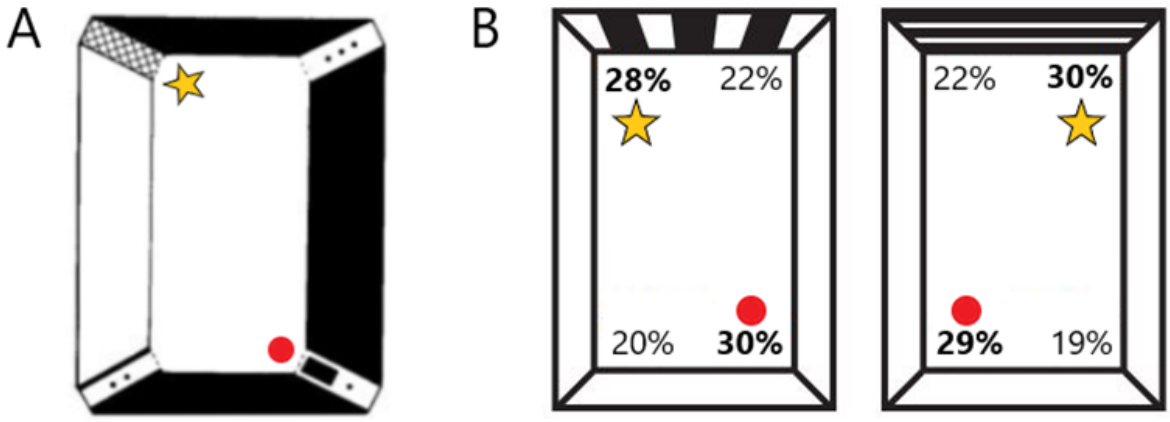


Figure 4. Géométrie *vs* repères visuels
A. Arène rectangulaire composée de trois murs noirs et un mur blanc. À chaque angle, se trouve un panel dont les textures, odeurs et aspects visuels varient. L'étoile représente l'emplacement de la nourriture et le cercle rouge l'angle opposé à la récompense. Les animaux cherchent de manière équivalente la nourriture enfouie dans le sol à ces deux emplacements, montrant que l'utilisation de la géométrie prédomine sur celle des repères externes. *Figure adaptée de Cheng et al. (1986).*
B. Arènes rectangulaires composées de trois murs blancs et un petit mur se distinguant des autres par un motif de rayures verticales (à gauche) ou horizontales (à droite). L'étoile représente l'emplacement de la récompense et le cercle rouge l'angle opposé à la récompense. Les pourcentages indiquent le premier angle que les souris choisissent pour récupérer la nourriture. Elles choisissent de manière équivalente l'angle de la récompense et l'angle diagonalement opposé, et significativement moins les deux autres angles. Elles préfèrent donc utiliser la géométrie plutôt que le repère visuel du mur. Ce résultat ne s'explique pas par une difficulté à utiliser le repère visuel car elles différentient très bien les deux arènes : en effet, elles cherchent la nourriture à la bonne position géométrique pour chaque arène. *Figure adaptée de Julian et al. (2015).*

Il est aussi possible d'observer simplement l'influence de la géométrie structurelle de l'environnement sur le comportement locomoteur des animaux : Uster *et al.* (1976) rapportent que la vitesse de déplacement des rats est plus grande dans les lignes droites d'un

couloir et plus faible à l'approche des angles et intersections, signe qu'ils intègrent les distances et angles de l'environnement, c'est-à-dire sa géométrie.

3. La topologie

Lorsqu'il navigue dans son environnement, un rat doit rechercher de la nourriture, retrouver son nid, fuir rapidement en cas de danger, etc. Dans de grands environnements ou dans des environnements connectés, certains éléments semblent plus stratégiques à mémoriser que d'autres, notamment les points de connexion (comme un croisement de chemins, un couloir ou une porte) car ils permettent de relier plusieurs lieux. Pour désigner ces connexions reliant plusieurs lieux d'un même environnement, le terme de « topologie » sera retenu.

Il semble que les rats sont capables d'intégrer la topologie d'un environnement. Tolman et Honzik (1930) démontrent que si dans un environnement à trois voies (**figure 5. A**), la voie directe vers la récompense est bloquée, un rat est capable d'emprunter le détour le plus optimal (c'est-à-dire le plus court ou le seul menant à la récompense). Cette expérience indique bien que les rats ont extrait la longueur des différentes voies ainsi que leurs connexions. L'étude de Poucet et Hermann (2000) démontre que, dans un labyrinthe composé de voies surélevées ayant une certaine topologie (**figure 5. B**), les rats testés, d'une part, explorent plus les points de connexion que les voies elles-mêmes et, d'autre part, explorent plus les zones d'intersection menant à plusieurs voies que celles menant à une seule voie. Ces résultats suggèrent que les animaux prennent en compte les relations de connexion existantes entre les lieux qui composent leur environnement.

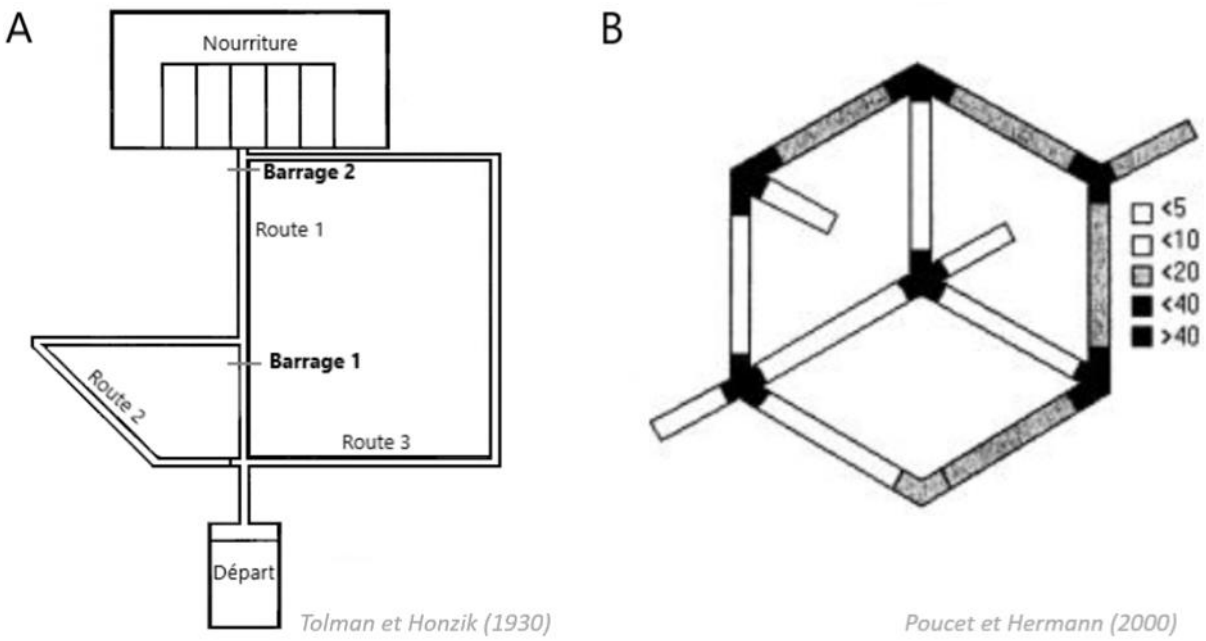


Figure 5. Intégration de la topologie

A. Les rats explorent l'environnement composé de trois voies librement (apprentissage latent). Puis ils doivent traverser l'environnement (à partir de la boite « Départ ») pour arriver à une zone où se trouve une récompense alimentaire (« Nourriture »). Les animaux empruntent le chemin le plus direct (« Route 1 »). Lorsqu'ils se retrouvent bloqués par des barrières (« Barrage 1 et 2 »), les animaux effectuent un demi-tour et choisissent le bras le plus direct pour atteindre la nourriture. Cette aptitude à choisir le bon chemin montre que les animaux ont intégré les informations de connexion et de distance de l'environnement. *Figure adaptée de l'étude de Tolman et Honzik (1930).*

B. Dispositif composé de multiples voies connectées. Les rats doivent explorer cet environnement, divisé en différentes zones, chacune étant colorée en fonction du temps passé (voir échelle en seconde). On constate que les animaux passent plus de temps dans les zones de croisement et ce, d'autant plus que le nombre de chemins possibles au croisement est important. *Figure issue de Poucet et Hermann (2000).*

Les rats détectent également les modifications de topologie d'un environnement constitué de plusieurs pièces. Les fermetures de porte provoquent une augmentation du nombre d'explorations et du temps passé autour de ces portes (Alvernhe *et al.*, 2012) confirmant bien que les rats détectent le changement de topologie spatiale de l'environnement (**figure 6. A**). Lorsque la fermeture d'une porte empêche le passage direct d'une pièce à une autre, la modification est considérée comme majeure puisque la topologie de l'environnement s'en trouve transformée, cette porte sera plus longuement explorée qu'une porte dont la fermeture ne modifie pas la topologie entre deux pièces (car une autre porte permet aussi le

passage entre ces deux pièces). Lors de l'ouverture d'une porte, le temps d'exploration reste le même, que cette ouverture modifie ou non la topologie. En revanche les animaux ne se comportent pas de la même manière :

- Lorsque l'ouverture n'affecte pas la topologie (**figure 6. B**), les animaux réalisent plus de franchissements de type « traversée directe », c'est-à-dire qu'ils traversent la porte et la pièce, se dirigeant directement vers la pièce suivante.

- Lorsque l'ouverture modifie la topologie (permettant un nouveau passage entre deux pièces), les animaux réalisent plus de passages de type « demi-tour », c'est-à-dire qu'ils ne traversent pas la pièce suivante mais reviennent sur leurs pas, franchissant de nouveau la porte.

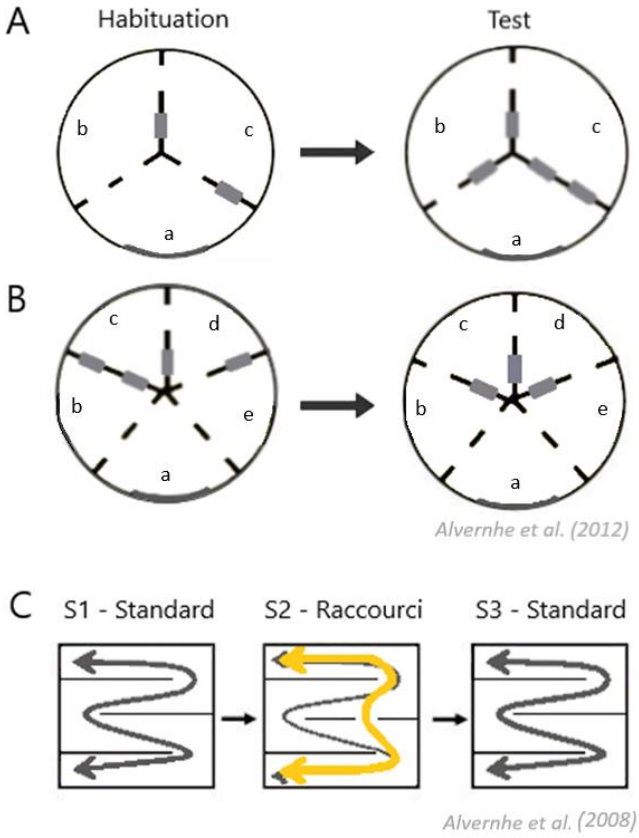


Figure 6. Détection de l'ouverture et fermeture de portes
A. Les rats sont d'abord habitués à l'environnement de gauche composé de trois pièces (Habituation). Puis dans une session test (arène de droite), deux portes sont fermées : l'une créant une modification de la topologie entre les pièces (porte de droite) et l'autre non (porte de gauche).
B. Deux portes sont ouvertes : l'une créant une nouvelle connexion entre les pièces b et c et l'autre ne créant pas de nouvelle connexion entre les pièces d et e. De plus, une autre porte

entre d et e est fermée, ne créant pas de modification de connexion entre les pièces. *Figure adaptée de Alvernhe et al. (2012).*
C. Labyrinthe que les animaux apprennent à traverser. Dans la session 2, un raccourci apparaît. *Figure adaptée de Alvernhe et al. (2008).*

Lorsqu'un raccourci est créé dans un environnement *via* une ouverture dans un mur (**figure 6. C**), les rats vont l'emprunter dès son apparition (dans 97% des cas) et, continuer à le suivre lors des trajets suivants (dans 90% des cas) (Alvernhe *et al.*, 2008). Ce résultat montre que les rats connaissent la connexion entre les différents espaces de leur environnement, et, dès l'apparition d'une nouvelle ouverture, ils mettent à jour la topologie de l'environnement tout en adaptant leur comportement.

L'animal intègre donc la topologie et adapte son comportement à travers les repères qui la composent (par exemple les portes). Ces repères peuvent être ancrés dans différents référentiels, l'un directement lié à l'animal et l'autre externe à celui-ci.

Les référentiels spatiaux

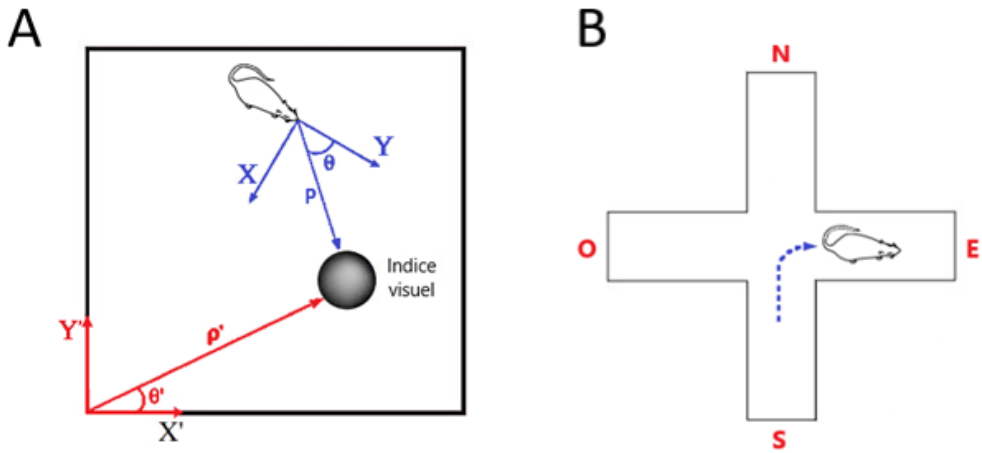
1. Référentiels égocentré et allocentré

Lorsque l'animal intègre ces informations idiothétiques et allothétiques, il doit être capable de former une représentation de son environnement afin de naviguer efficacement vers les différents lieux de son environnement depuis tous les points de départ et d'adopter le comportement adéquat. Traditionnellement, la représentation de l'espace est décrite *via* deux cadres de référence : le référentiel égocentré et le référentiel allocentré (Benhamou et Poucet, 1996). Bien qu'ils supportent des représentations différentes de l'environnement, ces deux référentiels peuvent être utilisés de manière complémentaire dans un même environnement (Burgess, 2006).

Un animal qui utilise le **référentiel égocentré,** se situe au centre du système de coordonnées et encode les repères de l'environnement par rapport à sa propre position. Au fur et à mesure de ses déplacements, les stimuli sensoriels et les buts changent de position par rapport à lui.

L'animal va ainsi mettre à jour, à tout instant, la distance et la direction de ces différents stimuli par rapport à sa position. Lorsque ce référentiel est utilisé, les repères proximaux s'avèrent donc les plus utiles car leur perception évolue en fonction des déplacements des animaux.

Au contraire, pendant que l'animal se déplace les repères distaux conservent une relation stable par rapport à lui. Ces repères externes stables peuvent servir à former un système de coordonnées fixe dans lequel sont codés les repères de l'environnement directement entre eux : le **référentiel allocentré.** Plus l'animal se familiarise à son environnement, plus il identifie des repères pertinents et stables lui permettant de s'extraire du référentiel égocentré.



Arleo et Rondi-Reig (2007)

Figure 7. Référentiels égocentré et allocentré
A. Le repère visuel fournit une information spatiale allothétique au rat. L'animal peut représenter la position spatiale de ce repère visuel dans un cadre de référence égocentré centré par rapport à lui-même (représenté en bleu), c'est-à-dire qu'il estime la position du repère par rapport à une distance ρ entre sa tête et le repère et un angle θ entre sa propre direction et celle du repère. Il peut aussi coder cette information spatiale dans un cadre de référence allocentré, centré sur l'angle inférieur gauche de l'arène (représenté en rouge), c'est-à-dire estimer la position du repère par rapport à la distance ρ' et l'angle θ'.
B. Dans cette situation, le rat doit tourner dans le bras situé à droite. L'animal peut utiliser les informations idiothétiques pour représenter son changement de direction dans un référentiel égocentré (c'est-à-dire « je tourne sur ma droite »). Ou alors, il peut se placer dans un référentiel allocentré par rapport à la direction du Nord (c'est-à-dire, « je tourne vers l'Est »). *Figure adaptée de Arleo et Rondi-Reig (2007).*

Le référentiel allocentré peut être sous-divisé en référentiel allocentré local et référentiel allocentré global (Benhamou, 1997). Le référentiel allocentré local représente seulement les

repères perçus depuis la position de l'animal dans l'environnement. Le référentiel allocentré global représente tous les repères de l'environnement dans lequel l'animal évolue, même s'ils ne sont pas perceptibles. Dans un environnement composé de plusieurs pièces, chaque pièce peut être représentée dans un référentiel local et l'unification de toute ces pièces constitue un référentiel global. La représentation de l'espace peut donc varier en termes d'échelle (par exemple, il est possible de se localiser dans une pièce chez soi en même temps que dans sa ville, sa région ou son pays).

2. Différentes échelles au sein d'un environnement

Le référentiel local permet aux animaux de discriminer différents lieux et/ou comportements au sein d'un même environnement. Un lieu peut être défini par ses frontières qui délimitent un espace dans lequel l'animal perçoit plusieurs repères simultanément (une pièce délimitée par ses murs par exemple) ou, à une échelle différente, un lieu peut être défini par le comportement (par exemple, dans son terrier, un animal n'adopte pas le même comportement dans son nid qu'à l'emplacement de sa nourriture). Pour une position donnée, un animal perçoit un ensemble de repères proximaux allothétiques stables (visuels, olfactifs, auditifs, tactiles) formant une « vue locale ». Au cours des mouvements et déplacements (mouvements des yeux, de la tête, du corps), l'animal intègre plusieurs vues locales qui forment alors une représentation locale (Poucet, 1993). La représentation locale se construit grâce à la stabilité des repères allothétiques proximaux qui, visibles dans plusieurs vues locales, peuvent être intégrés en une représentation unique qui comprend les repères, les relations géométriques de distance et de direction ainsi que les relations topologiques entre les différents éléments du lieu. Cette représentation locale pourra ensuite être réactivée à partir de n'importe laquelle des vues locales.

Le référentiel global permet de lier tous ces référentiels locaux en une seule représentation afin de naviguer entre eux. Ainsi, tous les lieux, que le référentiel global a liés, sont accessibles mentalement pour l'animal, même s'ils ne sont pas directement perceptibles depuis l'endroit où il se trouve. L'unification des différents lieux en une seule représentation est possible grâce à l'intégration des informations de topologie entre les lieux (c'est-à-dire les relations de voisinage entre des représentations locales ainsi que leurs connexions) et leur orientation. Ce

référentiel global permet une navigation plus flexible mais il requiert un plus grand stockage d'informations spatiales sur l'environnement et demande une exploration préalable. Dès lors, même si un animal ne connaît pas tous les lieux de son environnement, il peut inférer des nouvelles trajectoires ou trouver un raccourci grâce à sa connaissance des connexions et de l'orientation des différents lieux en référence à une direction générale (Poucet, 1993 ; Benhamou, 1997). Les repères distaux, visibles depuis toutes les positions, jouent un rôle clé dans le maintien d'une représentation stable de l'environnement, garantissant que tous les référentiels locaux sont correctement agencés

Les stratégies de navigation

Au quotidien, un rongeur se déplace pour atteindre différents buts ou simplement explorer son environnement. La stratégie de navigation employée peut fortement varier selon les repères disponibles (idiothétiques et/ou allothétiques), le référentiel dans lequel se situe l'animal (égocentré et/ou allocentré), la taille de l'environnement, la familiarité avec l'environnement, la présence d'obstacles à contourner ou de dangers à éviter. Un rat qui se déplace vers un but, a tendance à chercher le chemin le plus direct. Il a donc tout intérêt à adopter un comportement flexible pour s'adapter aux changements. L'animal reste alors efficace dans de multiples situations, et peut accomplir diverses tâches spatiales. Il optera pour les stratégies les plus efficaces en fonction des repères disponibles et de la tâche à accomplir, et si possible, il en mobilisera plusieurs en même temps. Dans des conditions de laboratoire, il est possible de manipuler les repères et de mettre en place des tâches spécifiques afin d'inciter les animaux à utiliser une stratégie particulière.

Il est alors possible de décrire les principales stratégies de navigation (de la moins flexible à la plus flexible ; Arleo et Rondi-Reig, 2007) :

La stratégie de navigation la plus simple est certainement **la stratégie de guidage**. Son utilisation est possible lorsque le but à atteindre (ou un repère associé à celui-ci) est perceptible partout dans tout l'environnement. L'animal doit simplement diriger ses déplacements vers le but pour l'atteindre (O'keefe et Nadel, 1978). Dans l'expérience de Collett *et al.* (1986), des gerbilles devaient suivre un repère qui indiquait la position du but.

C'est également la stratégie utilisée dans une version de la piscine de Morris, où la plateforme est indicée, sans aucun autre repère disponible (Rossier *et al.*, 2000 ; cité dans la partie « **Les informations allothétiques** »). Le but étant toujours visible, cette stratégie d'approche visuelle s'avère donc la plus simple sans nécessiter la formation d'une représentation de l'environnement. Dans ce cas, le but peut être atteint par une simple association stimulus-réponse. En contrepartie, cette stratégie n'est pas flexible puisqu'elle demeure dépendante de la présence de la cible pour atteindre le but (Gilbson et Shettleworth, 2003).

La stratégie de réponse se résume en une séquence motrice à réaliser vers un but. Elle demande l'apprentissage de cette séquence mais ne nécessite pas de former une représentation de l'espace. De ce fait cette stratégie n'est pas flexible puisque l'animal réussit à atteindre son but, seulement si les positions de son point de départ et de son but restent inchangées (Redish, 1999). Par exemple, un rat réalisant la tâche de piscine de Morris dans l'obscurité, en partant toujours du même point de départ, est obligé d'utiliser cette stratégie car il n'a que les informations idiothétiques pour naviguer (Save et Moghaddam, 1996).

La stratégie de route consiste à associer une réponse motrice à un stimulus. Au cours d'un trajet, lorsque l'animal rencontre certains repères il effectue une réponse motrice spécifique (elle peut être considérée comme un enchaînement des stratégies de guidage et de réponse). L'enchaînement de ces stimuli-réponses permet à l'animal d'atteindre son but. Cette stratégie manque aussi de flexibilité car si un repère est supprimé, l'animal ne peut plus poursuivre son chemin (Redish, 1999).

L'intégration des trajets permet à l'animal de connaître la position d'un point de référence (souvent son point de départ) par rapport à sa propre position. Cette stratégie nécessite que l'animal se place dans un référentiel égocentré dans lequel il intègre ses informations idiothétiques tout au long de son trajet pour mettre à jour la direction et la distance qui le séparent de son point de départ. Cette stratégie de navigation est modélisée par un vecteur partant de l'animal et pointant vers son point de départ. Ainsi, en suivant ce vecteur l'animal peut emprunter à tout moment le chemin le plus direct le ramenant à son point de départ (**Figure 8)**. Cette stratégie présente l'avantage de pouvoir être mise en œuvre dans un environnement doté d'un petit nombre de repères externes (voire aucun) ou dans un environnement nouveau pour l'animal. C'est d'ailleurs la stratégie qu'utilisent les gerbilles pour ramener leur petit jusqu'au nid alors qu'elles sont dans l'obscurité, dans l'expérience

citée précédemment de Mittelstaedt et Mittelstaedt (1980 ; citée dans la partie « **Les informations idiothétiques** »). Les animaux parviennent à estimer ce vecteur de retour grâce à l'intégration des informations idiothétiques qui fournissent les informations de déplacement, de direction et de vitesse. Cependant, plus le trajet s'allonge et se complexifie, moins l'estimation du trajet parcouru est fiable, en raison du manque de précision des informations idiothétiques qui peuvent introduire des erreurs dans la perception et l'estimation du trajet. De plus, les mouvements peuvent ne pas être parfaitement contrôlés, entrainant de petites déviations de la trajectoire. Au fur et à mesure du trajet d'un animal, apparaît une accumulation d'erreurs dans l'estimation du vecteur, et la position estimée s'éloigne de plus en plus de la position réelle de l'animal (Benhamou *et al.*, 1990 ; Gallistel, 1990 ; Etienne et Jeffery, 2004).

Sur de longues distances, les animaux doivent alors utiliser un repère externe (issu d'informations allothétiques) pour supprimer l'erreur et ainsi « recalibrer » le vecteur (Etienne *et al.*, 1996 ; Collett et Graham, 2004). Par exemple, en voyant un point de repère familier, le rat peut corriger sa position estimée pour l'aligner sur sa position réelle.

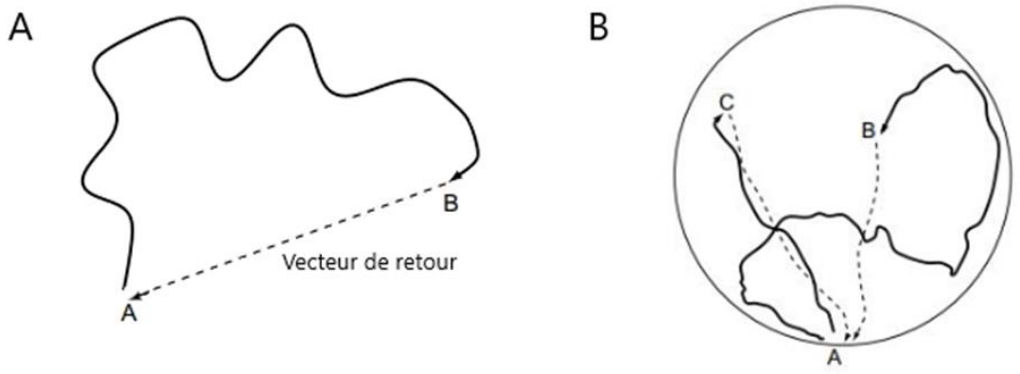


Figure 8. Intégration de trajets
A. Exemple d'un trajet (flèche continue) du point de départ A au but B. Lorsque l'animal arrive au but (point B), il peut retourner directement à son point de départ (point A). Il y parvient grâce à l'intégration des informations de déplacement, de direction et de vitesse (c'est-à-dire l'intégration de son trajet) qui génère un vecteur de retour (flèche pointillée).
B. Exemple de deux trajectoires de deux hamsters dans une arène circulaire placée dans l'obscurité. Les animaux quittent leur nid (point A) et suivent un appât jusqu'à une certaine position (points B ou C, trajet représenté par les flèches continues). Puis les deux animaux retournent à leur nid en suivant une trajectoire directe (les flèches pointillées). *Figure adaptée de Arleo et Rondi-Reig (2007).*

Dans des environnements complexes, plus proches des conditions naturelles, tels que (au hasard) les environnements constitués de plusieurs pièces connectées, ces stratégies seules ne suffisent pas à expliquer tous les comportements des animaux. En effet, la **stratégie de guidage**, qui nécessite la visibilité du but, ne pourra pas être utilisée efficacement si le but est positionné derrière le mur d'une pièce par exemple. Dans ce cas, pour atteindre son but il faut d'abord que l'animal explore aléatoirement l'environnement jusqu'à atteindre la pièce où se trouve ce but, il peut alors l'apercevoir et s'y diriger. De même, les **stratégies de réponse et de route** peuvent s'avérer difficiles à mettre en œuvre dans de grands environnements, où les séquences à mémoriser risquent d'être très longues et donc coûteuses. Et la tâche se complique d'autant plus lorsque l'animal doit apprendre de nombreuses séquences de navigation depuis plusieurs points de départ. Quant à **l'intégration des trajets**, dans un environnement contenant des murs, elle peut s'avérer inefficace. Dans le cas où le vecteur (pointant vers le point de départ) est coupé par la présence d'un mur, l'animal peut se trouver bloqué dans son déplacement car l'information permettant de contourner le mur *via* un détour n'est pas intégrée à cette stratégie.

Dans des environnements complexes, ces stratégies s'avèrent finalement utiles dans des situations assez restreintes dans la mesure où les animaux manquent d'informations cruciales pour pouvoir naviguer correctement. De ce fait, sans stratégie supplémentaire les animaux se verraient contraints d'explorer de manière aléatoire leur environnement jusqu'à atteindre, par hasard, leur but. Il apparaît donc essentiel d'adopter une stratégie dans laquelle sont intégrés les différents éléments de l'environnement ainsi que les connexions entre les lieux. Grâce à ces informations ils auraient la capacité d'évaluer les emplacements et directions des buts ainsi que les déplacements possibles pour les atteindre. Il est probable que ces informations soient bel et bien exploitées étant donné que les rats démontrent une grande capacité à naviguer dans des environnements complexes, tels que des réseaux de galeries pourvus de multiples espaces connectés.

En 1948, Tolman observe que des rats sont capables d'emprunter des détours et trouver des raccourcis dans leur environnement afin d'atteindre leur but. O'Keefe et Nadel reprennent en 1978 le concept de **la carte cognitive** proposé par Tolman. Cette carte cognitive serait le support d'une représentation mentale allocentrée de l'environnement, dans laquelle l'animal utilise les relations spatiales entre les repères externes pour s'orienter. Cette carte est

constituée de plusieurs représentations de lieux qui conserveraient leurs relations spatiales en termes de distance et de direction. Dans un environnement complexe la carte cognitive peut donc contenir toutes les pièces ainsi que leurs points de connexion. La carte cognitive se forme au fil de l'exploration pendant que l'animal mémorise l'environnement, et semble donc uniquement possible dans des environnements connus. Mais une fois établie, elle permet une très grande flexibilité dans la navigation de l'animal. Ainsi, depuis n'importe quel point de départ, l'animal peut naviguer jusqu'à son but et inférer de nouveaux chemins, même si des modifications apparaissent dans l'environnement (Tolman *et al.*, 1946 ; Tolman, 1948 ; Alvernhe *et al.,* 2008). L'utilisation d'une navigation fondée sur la carte cognitive comble les limites des stratégies précédentes, et semble donc pertinente pour naviguer efficacement dans des environnements connectés.

Bien que les stratégies précédentes soient moins flexibles que la carte cognitive, elles présentent l'avantage d'être moins coûteuses cognitivement donc plus rapides à mettre en place, et peuvent tout de même permettre de naviguer efficacement dans certaines situations (Arleo et Rondi-Reig, 2007). Dans un environnement relativement riche, toutes les stratégies peuvent être employées et sont complémentaires les unes des autres. Whishaw et Mittleman (1986) montrent l'utilisation parallèle de plusieurs stratégies dans la piscine de Morris (cité précédemment dans la partie « **La distance des repères** »). Pour rappel, des rats parviennent, sans difficulté, à passer d'une stratégie de guidage *via* le suivi d'une balise placée sur la plateforme, à une stratégie s'appuyant sur les repères distaux placés autour de la piscine, c'est-à-dire en utilisant la carte cognitive. En effet, après l'apprentissage de la tâche, lorsque la plateforme et la balise sont déplacées, les animaux nagent d'abord vers l'ancien emplacement de la plateforme, ce qui indique qu'ils utilisent les repères distaux et donc la carte cognitive. Puis, constatant l'absence de la plateforme, ils nagent directement jusqu'à la balise, signalant qu'ils utilisent aussi la stratégie de guidage. Il semble donc que les rats forment des représentations de leur environnement même lorsque la tâche ne l'exige pas initialement. Ce phénomène est également constaté dans la tâche classique de la piscine de Morris (1981). Lorsque les rats apprennent à nager jusqu'à la plateforme depuis un seul point de départ ils pourraient se contenter de reproduire la séquence motrice sans former de carte cognitive (**cf. figure 2)**. Mais il semble qu'ils le fassent car lorsqu'ils sont introduits dans la piscine depuis un nouveau point de départ, ils naviguent directement vers la plateforme dès

le premier essai. Ce phénomène « d'apprentissage latent » a été décrit par Tolman en 1946. Il constate que dans une situation où l'animal n'accomplit pas de tâche particulière mais explore simplement son environnement, il forme déjà une carte mentale de son environnement. En effet, dès lors qu'il doit naviguer il y parvient et s'il doit adapter son comportement il y parvient également.

2. Corrélats neuronaux de la navigation spatiale

Une carte cognitive hippocampo-centrée

L'hippocampe fut la première structure identifiée comme potentiel support neuronal de la carte cognitive. En premier lieu, ce sont les effets de lésions hippocampiques qui ont mis en évidence son implication dans la navigation spatiale.

Des déficits sont visibles sur la simple observation du comportement exploratoire des animaux dans un environnement familier (Cohen, 1970 ; Save *et al.*, 1992a, 1992b). Des animaux contrôles réduisent leur temps d'exploration d'un environnement au fur à mesure qu'il devient familier, et au contraire, explorent plus longuement les lieux où un changement spatial apparait (comme le changement de place d'un objet ou d'un repère visuel, une nouvelle portion de l'environnement devenant accessible, etc.). Les animaux hippocampo-lésés ne modifient pas leur comportement exploratoire à la suite des modifications spatiales de l'environnement, indiquant ainsi qu'ils ne les détectent pas. En revanche, ces mêmes animaux détectent très bien les modifications non-spatiales comme « l'identité » des repères, puisqu'ils explorent plus longuement un objet remplacé par un autre. Clark *et al.* (2005) comparent le comportement d'exploration de rats ayant subis une lésion neurotoxique de l'hippocampe avec celui des rats contrôles : durant les premiers jours, les deux groupes développent des comportements similaires, mais tandis que le groupe contrôle diminue son activité exploratoire au cours du temps et finit par passer plus de temps dans une zone que les rats adoptent comme « *home base* », les animaux lésés continuent d'explorer l'environnement comme au premier jour (**figure 9**). La lésion de l'hippocampe n'empêche donc pas les animaux d'explorer de manière normale leur environnement, mais perturbe le processus d'habituation ainsi que la détection de tout changement spatial. Ces études confirment le fait que l'hippocampe est nécessaire pour créer une carte mentale qui se façonnerait durant les premières explorations d'un environnement.

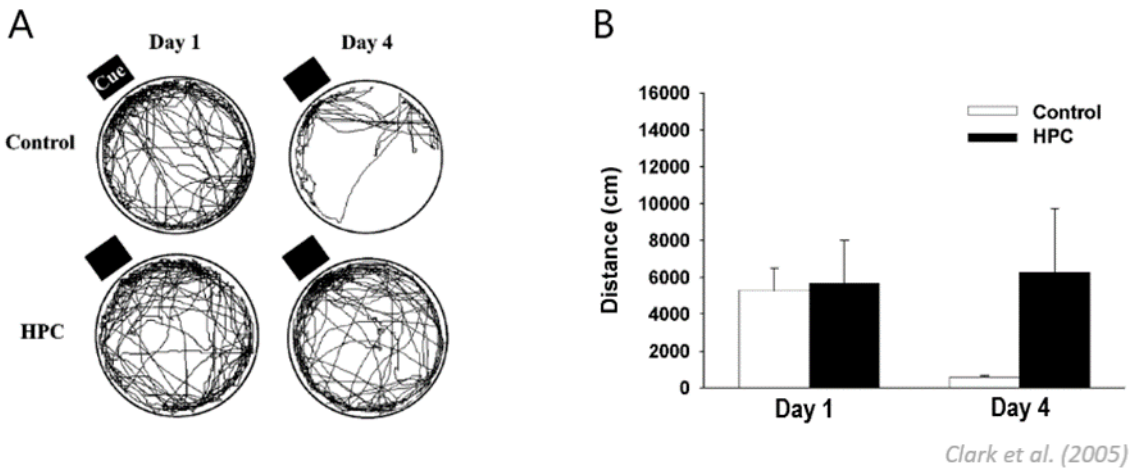


Figure 9. Le comportement d'habituation est hippocampo-dépendant
A. Trajectoires de rats contrôles (« *Control* ») et de rats hippocampo-lésés (HPC), au jour 1 (à gauche) et au jour 4 (à droite). Le carré noir représente l'emplacement du repère visuel.
B. Distance (moyenne ± S.E.M.) parcourue par les animaux. *Figures issues de Clark et al. (2005).*

O'Keefe *et al.* (1975) montrent aussi qu'une lésion du fornix (voie afférente et efférente de l'hippocampe) empêche les rats de naviguer jusqu'à un but, où ils ont accès à une récompense hydrique, lorsqu'ils doivent adopter une stratégie allocentrée. En revanche, quand le but est indicé (demandant une stratégie de guidage), les animaux lésés parviennent à atteindre ce but (résultats similaires : O'Keefe et Conway, 1980 ; Hollup *et al.*, 2001). De même, en 2007, Hok *et al.* développent une tâche de navigation vers un but dans laquelle des rats doivent atteindre une zone (indicée ou non) dans une arène circulaire dotée d'un repère visuel polarisant, placé sur la paroi. Une fois la zone-but atteinte, les animaux doivent attendre deux secondes avant de recevoir une récompense, distribuée à une position aléatoire dans l'arène. Les animaux explorent alors l'arène jusqu'à ce qu'ils trouvent cette récompense. Après l'avoir récupérée, ils peuvent retourner dans la zone-but pour obtenir une seconde récompense. Les animaux réalisent très bien la tâche, dans les deux versions de la tâche, avec ou sans but est indicé. Dans la version indicée, l'animal n'a pas besoin d'utiliser une représentation mentale de l'espace puisqu'il doit simplement se diriger vers le repère posé au sol (stratégie de guidage). En revanche, dans la version non indicée, l'animal doit inférer la position de la zone but en utilisant le repère visuel sur la paroi. Dans ce cas, les auteurs émettent l'hypothèse que l'utilisation d'une carte mentale devient nécessaire pour réaliser correctement la tâche. Cette proposition se trouve confirmée par les effets de lésion hippocampiques qui dégradent les

performances des animaux avec un déficit plus important dans la version non indicée (Burton *et al.*, 2009).

Des résultats similaires sont constatés après une ablation de l'hippocampe, ou de ses lésions bilatérales, qui rendent l'apprentissage de la tâche de piscine de Morris impossible (Morris *et al.*, 1982 ; Sutherland *et al.*, 1983 ; Morris *et al.*, 1990 ; Bannerman *et al.*, 1999) : lorsque la plateforme est enlevée, les rats nagent de façon aléatoire tandis que les rats contrôles cherchent à rejoindre la plateforme à son emplacement correct. En revanche, lorsque les repères externes ne sont pas pertinents pour réaliser la tâche de piscine de Morris, mais qu'une simple réponse motrice (stratégie de réponse) permet d'atteindre la plateforme, les animaux y parviennent, même avec des lésions du fornix (De Bruin *et al.*, 2001). Dans le premier chapitre de cette thèse, il a été montré *via* les travaux de Cheng *et al.* (1986) et Julian *et al.* (2015) que les rats sont capables d'utiliser la géométrie de l'environnement (la longueur des murs dans un environnement rectangulaire) pour retrouver un but. Or, McGregor *et al.* (2004) démontrent que cette capacité à intégrer les informations de géométrie structurelle est hippocampo-dépendante (**figure 10**).

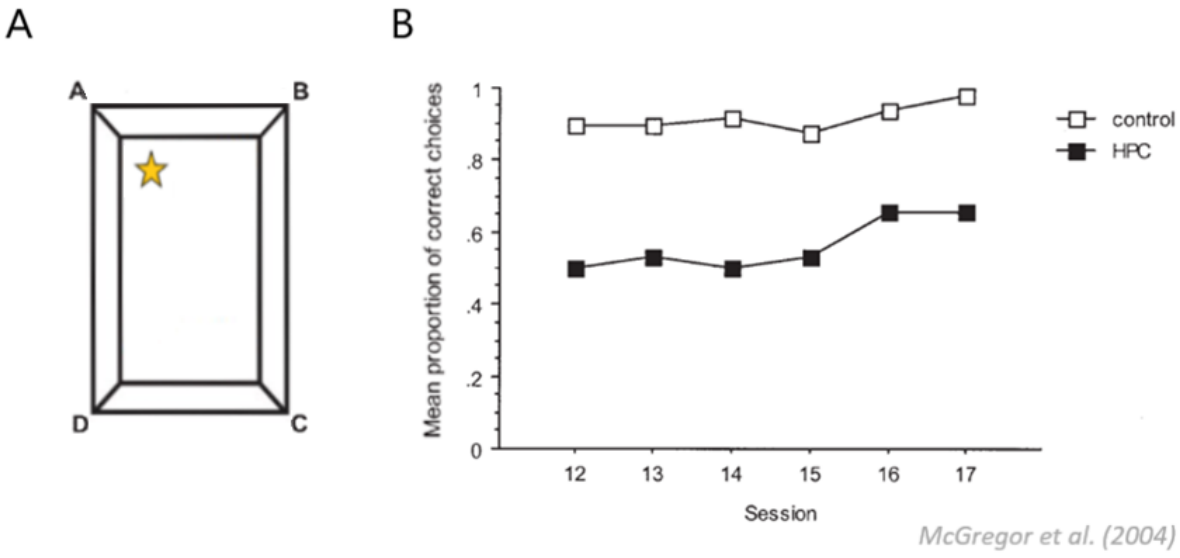


Figure 10. L'intégration des informations de géométrie structurelle est hippocampo-dépendante
A. Environnement rectangulaire dont le coin A est récompensé. Une réponse correcte correspond à naviguer vers le coin A ou C (équivalents d'un point de vue géométrique). Si l'animal se dirige vers le coin B ou D, sa réponse est considérée comme incorrecte.
B. Proportion moyenne de choix corrects pour les deux groupes lors des sessions. *Figure adaptée de McGregor et al. (2004).*

Ainsi, toutes ces études indiquent qu'une tâche de navigation reposant sur une stratégie de guidage ou de réponse ne s'avère pas hippocampo-dépendante, mais dès lors que l'utilisation d'une stratégie allothétique est nécessaire, qu'elle soit basée sur des repères visuels ou sur la géométrie structurelle de l'environnement, l'hippocampe devient indispensable, soutenant en conséquence la théorie d'une carte cognitive supportée par cette structure.

Les découvertes sur les corrélats spatiaux de l'activité électrophysiologique des neurones hippocampiques convergent également avec une implication fonctionnelle de l'hippocampe dans la navigation spatiale.

Les cellules de lieu

La découverte majeure, qui a érigé l'hippocampe comme le support de la carte cognitive, est celle des cellules de lieu, en 1971 par O'Keefe et Dostrovsky. Ces cellules de l'hippocampe émettent des potentiels d'action lorsque l'animal se trouve à une position spécifique de son environnement. Cette activité spatiale des cellules est appelée champ d'activité ou champ de lieu (**Figure 11**), et chaque cellule présente un champ d'activité différent des autres. En dehors de son champ d'activité, une cellule de lieu reste silencieuse. D'après les descriptions des auteurs, l'activité spatiale de ces cellules peut être recueillie chez le rat lors de divers comportements tels que la locomotion, la prise de nourriture ou d'eau, la stimulation tactile, visuelle, olfactive, auditive. Chaque cellule de lieu a donc un champ d'activité qui lui est propre, et un ensemble de cellules de lieu va donc pouvoir représenter toutes les positions possibles d'un environnement (Hampson *et al.*, 1996).

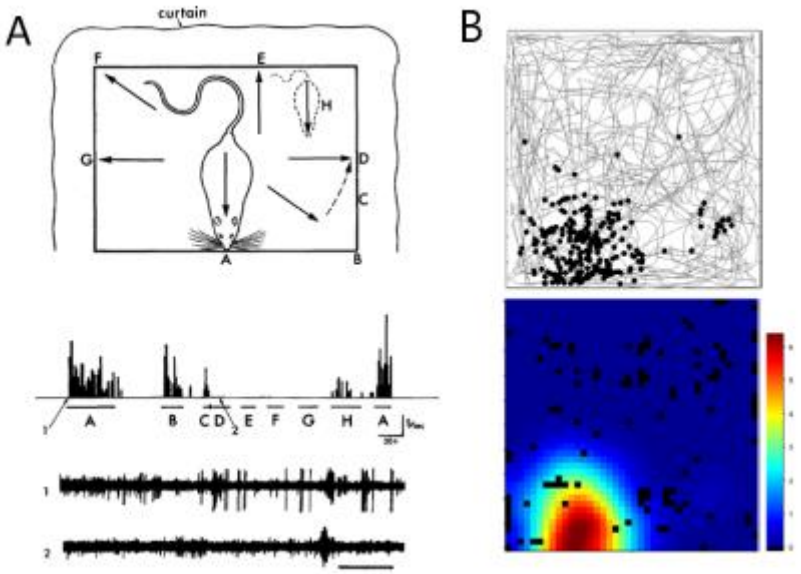


Figure 11. Les cellules de lieu
A. Première cellule de lieu décrite par O'Keefe et Dostrovsky en 1971. Les flèches et les lettres indiquent les positions auxquelles l'animal était maintenu sur une plateforme. Le taux de décharge d'une cellule est illustré par les histogrammes de fréquence au milieu de la figure. Les lettres correspondent aux positions de l'animal et les lignes indiquent les périodes de contention. Les lignes du bas montrent les pics d'activité de la cellule à la position (1) et l'absence de réponse en D (2). La cellule ne répond sélectivement qu'à quelques positions. O'Keefe et Dostrovsky ont rapporté 8 unités sur 76 cellules hippocampiques enregistrées qui répondaient uniquement ou de façon maximale lorsque le rat était situé dans une zone particulière de l'arène et orienté dans une direction particulière. Barre d'étalonnage : 400 ms.
B. Champ d'activité tel qu'il est généralement représenté aujourd'hui. En haut : la trajectoire du rat en gris ; les emplacements des potentiels d'action d'une cellule sont superposés par les points noirs. En bas : carte de fréquence, codée en couleur ; le rouge foncé correspond à la fréquence maximale ; le bleu à une fréquence nulle. Les régions non visitées sont en noir.
Figure adaptée de Moser et al. (2017).

Ainsi, à l'échelle de la population, la combinaison des activités des cellules de lieu permet de coder l'entièreté d'un environnement. Il est alors possible de retracer assez précisément le trajet effectué par un animal sur la base d'une petite quantité de cellules de lieu (Wilson et McNaughton, 1993 ; Jensen et Lisman, 2000). Enfin, il a été montré que les cellules de lieu sont des cellules pyramidales (40 à 70% des cellules hippocampiques) situées dans les régions du gyrus dentelé, les cornes d'Amon 1 et 3 (CA1 et CA3 ; Jung *et al.*, 1994 ; Poucet *et al.*, 1994 ; Kjelstrup *et al.*, 2008).

Une telle activité spécifique à la position n'est possible que si l'animal parvient à extraire des informations de son environnement. O'Keefe et Nadel (1978) étayent alors l'hypothèse selon laquelle les cellules de lieu seraient le support neuronal d'une carte cognitive, fournissant une représentation allocentrée de l'environnement, comme l'avait proposé Tolman en 1948. Suivant l'hypothèse selon laquelle la carte cognitive se met en place dès la première exploration d'un environnement, les cellules de lieu sont présentes dès les premières minutes d'exposition à un nouvel environnement (Muller et Kubie, 1987 ; O'Keefe et Nadel, 1978 ; Bostock *et al.*, 1991). Aussi, lorsqu'une cellule de lieu devient active pour une position donnée, l'emplacement de son champ d'activité reste stable (Muller et Kubie, 1987 ; Thompson et Best, 1990). Les cellules de lieu fournissent donc une représentation stable de l'environnement, indépendante de la direction de l'animal et du temps passé dans le champ d'activité (Poucet *et al.*, 2003 ; pour des résultats contradictoires voir aussi Muller *et al.,* 1994 ; Jeantet et Cho, 2012 ; Mankin *et al.*, 2012, 2015).

De plus, l'activité des cellules de lieu semble bien contrôlée par les informations allothétiques de l'environnement : une rotation d'un ensemble de repères visuels placés autour de l'arène entraîne une rotation équivalente des champs d'activité (O'Keefe et Conway, 1978). Les repères visuels distaux sont donc utilisés pour ancrer l'activité des cellules de lieu. Ce contrôle visuel est également observé en présence d'un seul repère proximal : en 1987, Muller et Kubie ont enregistré des cellules de lieu dans une arène circulaire dans laquelle le seul repère visuel disponible consistait en une feuille cartonnée fixée à la paroi de l'arène. Dans cette situation, la rotation du repère entraîne aussi une rotation équivalente des champs d'activité des cellules de lieu (**Figure 12.A).** De même, Cressant *et al.* (1997) parviennent à des résultats similaires en opérant une rotation d'objets placés au sol (**Figure 12.B**).

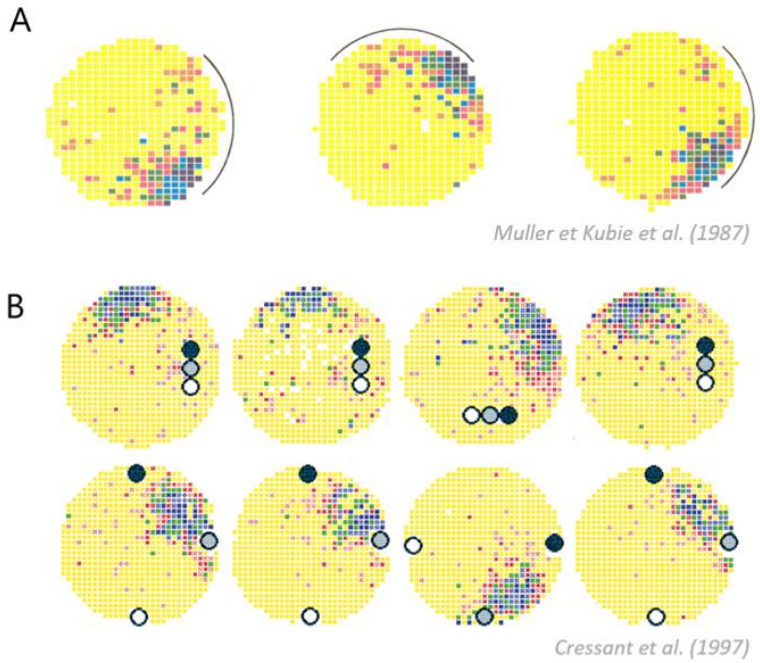


Figure 12. Réactions des cellules de lieu aux changements environnementaux
A. Effets de la rotation de l'arène avec le repère visuel (représentée par le trait noir) sur la position d'un champ d'activité. À la fin de la 1ère session (gauche), le rat est retiré de l'arène qui est tournée avec son repère visuel de 90° dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. Lorsque l'animal est replacé dans l'arène, le champ d'activité suit la même rotation de 90°. Lors de la troisième session (C) où l'arène est replacée dans sa position d'origine, le champ d'activité revient à sa position initiale. *Figure issue de Muller et Kubie et al. (1987a).*
B. Les même observations sont relevées lorsque des repères sont placés à la périphérie d'une arène. *Figure issue de Cressant et al. (1997).*

Les repères visuels ne sont pas les seuls à contrôler l'activité des cellules de lieu. En effet, même en absence d'information visuelle, les champs d'activité restent relativement stables, à condition que les repères olfactifs sur le sol ne soient pas brouillés (Save *et al.*, 2000). Des enregistrements effectués chez des rats aveugles suggèrent également que les informations idiothétiques et tactiles sont nécessaires pour ancrer l'activité des cellules de lieu, lorsqu'aucune autre information n'est disponible (Save *et al.*, 1998). Enfin, il semblerait que les repères auditifs peuvent exercer un contrôle sur les champs d'activité lorsque l'information visuelle est supprimée (observations non publiées de Kubie et Muller, rapportées dans Poucet *et al.*, 2004).

L'activité des cellules de lieu n'est pas une simple réponse sensorielle aux repères externes car, lorsqu'ils sont ôtés de l'environnement, la majorité des champs d'activité reste stable (Muller et Kubie, 1987). De plus, lorsque les animaux sont plongés dans l'obscurité, les champs de lieu

maintiennent leur activité (O'Keefe, 1976 ; Quirk *et al.,* 1990). Les informations de mouvements propres (*i.e.* informations idiothétiques) peuvent également être importantes en l'absence de repères externes (McNaughton *et al.*, 1996 ; Sharp *et al.*, 1995) ou lorsque ces repères ne sont pas fiables (Jeffery et O'Keefe, 1999 ; Rotenberg et Muller, 1997). Pour utiliser les informations relatives aux mouvements propres, le rat doit mettre à jour sa position à l'aide de signaux provenant de diverses sources telles que le système vestibulaire, proprioceptif, le flux optique et la copie d'efférence motrice. L'un des principaux problèmes liés à l'utilisation de ces informations idiothétiques tient à leur manque de précision, susceptible d'entraînent une accumulation d'erreurs. En l'absence de recalibrage de la position, l'erreur peut devenir si importante que se localiser dans l'espace devient impossible. Save *et al.* (2000), observent que la présence limitée de repères visuels entraîne une baisse de la stabilité des cellules de lieu. Cette baisse de leur stabilité pourrait expliquer les difficultés à se localiser à partir des mouvements propres. Pour éviter que l'accumulation d'erreurs ne perturbe la stabilité des cellules de lieu, les animaux doivent disposer d'un système de recalibrage de leur position. Ce recalibrage peut être réalisé grâce à l'emploi temporaire des repères externes, comme des repères visuels ou tactiles (McNaughton *et al.*, 1996 ; Gothard *et al.*, 1996a ; Poucet *et al.*, 2000). Bien qu'au cours d'un long trajet, les informations idiothétiques ne permettent pas de se localiser suffisamment précisément lorsqu'elles sont utilisées seules, elles permettent tout de même un calcul continu de la position, sans nécessiter de référence externe, réduisant ainsi le poids accordé aux repères externes.

L'activité des cellules de lieu peut être contrôlée à la fois par des information allothétiques et idiothétiques, qui interagissent entre elles (Jeffery et O'Keefe, 1999), ce qui indique que ces cellules sont capables d'intégrer plusieurs types d'informations sensorielles allothétiques et idiothétiques.

Dans un même environnement, l'activité d'une cellule de lieu reste stable pendant des mois entiers (Thompson et Best, 1990). À l'inverse, dans un nouvel environnement leur activité devient totalement différente. En effet, Muller et Kubie (1987), qui enregistrent des cellules de lieu dans deux arènes de formes différentes, l'une circulaire et l'autre rectangulaire, constatent que l'activité spatiale de la plupart des cellules de lieu change considérablement entre les deux environnements. En général, les cellules qui déchargent dans les deux environnements présentent des champs d'activité très différents en termes de position, taille,

forme et fréquence de décharge (Bostock *et al.* 1991). D'autres cellules ont des champs dans une arène et restent silencieuses dans l'autre. Ce phénomène de changement d'activité spatiale des cellules de lieu est dénommé recodage spatial (« *remapping* » dans la littérature) (**Figure 13).** Généralement, lorsque deux environnements diffèrent peu, par exemple lorsque seule la couleur d'un mur se trouve modifiée, le recodage est uniquement fréquentiel (c'est-à-dire que les cellules de lieu maintiennent leur champ d'activité au même emplacement, mais la fréquence de décharge augmente ou diminue). Alors que lorsque les environnements diffèrent plus fortement, le recodage est global, c'est-à-dire que la position, la forme ainsi que la fréquence du champ d'activité sont modifiées. Le recodage spatial des cellules de lieu suggère que chaque environnement est représenté par un ensemble distinct de cellules de lieu et même si certaines cellules sont communes à deux environnements, les propriétés des champs d'activité sont différentes entre les environnements. Par conséquent, les cellules de lieu fournissent collectivement des informations à la fois sur la position du rat dans l'environnement et sur l'environnement lui-même. De ce fait, le recodage spatial reflète la distinction de deux environnements alors que, au contraire, la stabilité de l'activité spatiale reflète un environnement familier.

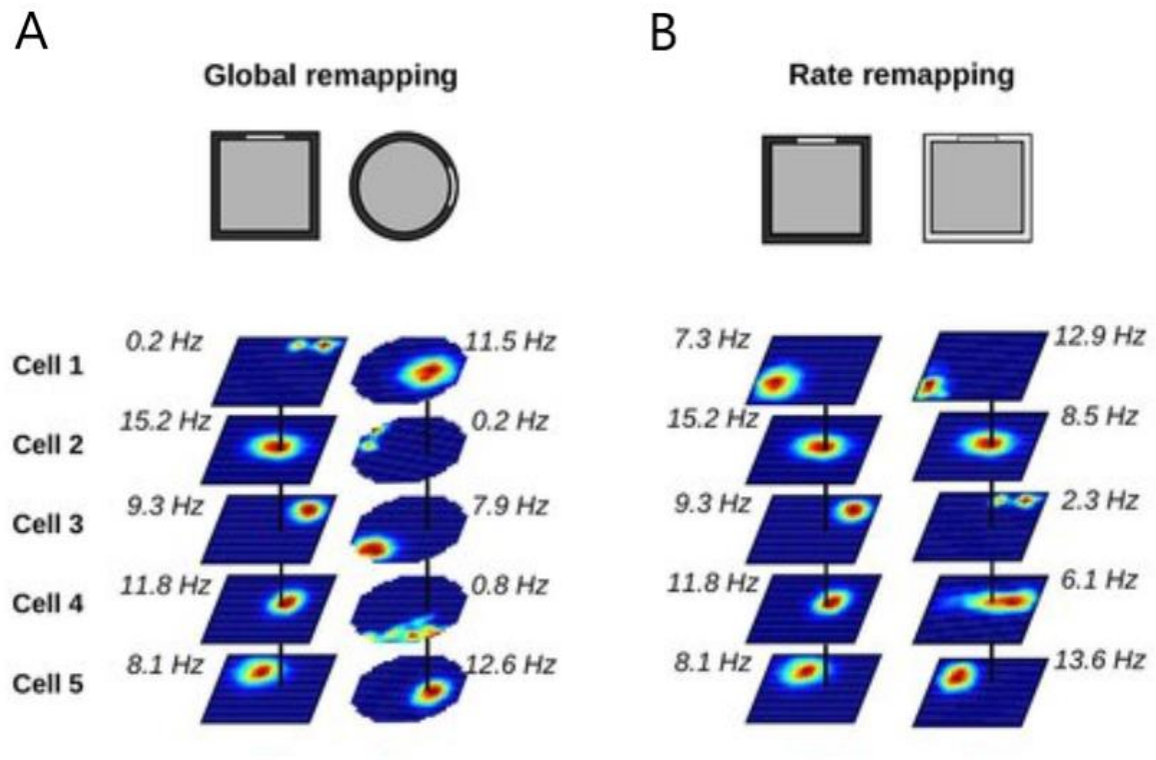


Figure 13. Recodage des cellules de lieu
A. Les animaux explorent deux environnements distincts carré et circulaire. Les cellules de lieu recodent globalement entre les deux environnements.
B. Les animaux explorent des environnements similaires où seule la couleur de l'environnement varie (noir et blanc). Le recodage des cellules de lieu entre les deux environnements est fréquentiel. *Figure issue de Latuske et al. (2018).*

Séquence d'activité des cellules de lieu

1. Séquences temporelles :

Au-delà du codage fréquentiel de l'espace, les cellules de lieu possèdent également un codage temporel. L'activité intrinsèque des cellules de lieu oscille selon le rythme thêta, une activité oscillatoire de 4 à 12Hz. Les potentiels de champs locaux au sein de l'hippocampe montrent également un rythme thêta. Cependant, le rythme thêta des cellules de lieu est un peu plus rapide que celui des potentiels de champs locaux. Les potentiels d'action d'une cellule de lieu vont donc se décaler par rapport au rythme thêta des potentiels de champs locaux : les potentiels d'action se produisent de plus en plus précocement par rapport au cycle thêta, à mesure que l'animal traverse le champ d'activité de la cellule (**Figure 14.A**). Les potentiels d'action émis par les cellules de lieu sont donc précisément organisés au cours du rythme thêta

des potentiels de champs locaux. Ce phénomène, découvert par O'Keefe et Recce (1993) a été appelé la précession de phase. Lorsque l'animal traverse les champs d'activité de plusieurs cellules de lieu, ce phénomène de précession de phase va permettre de maintenir la succession de l'activation de ces cellules et d'encoder la trajectoire de l'animal au sein du rythme thêta. Le phénomène de précession de phase permet donc à plusieurs cellules de lieu d'être activées de manière presque simultanée (appelé également séquence thêta) et pourrait sous-tendre l'induction de phénomènes de plasticité de type hebbien capables de lier fonctionnellement les différentes cellules de lieu activées au cours de la trajectoire de l'animal (**Figure 14.B**).

2. Réactivation de séquence :

Des travaux ont révélé l'existence d'un phénomène de « *replay* » survenant principalement pendant le sommeil lent et les périodes d'immobilité (par exemple lorsqu'un rat est assis, mange, boit ou fait sa toilette) au cours d'ondes de hautes fréquences des potentiels de champs locaux (« *sharp waves ripples* »). Ce phénomène correspond à la réactivation de la séquence des cellules de lieu, qui étaient précédemment activées simultanément lors du rythme thêta (Lee et Wilson, 2002 ; **Figure 14.C**). Ces réactivations des cellules de lieu ont conduit à proposer qu'elles constituent une « relecture » (ou *replay)* des souvenirs d'éveil, peut-être pour une consolidation des souvenirs. Il est donc possible que, pendant l'éveil, le processus de précession de phase permette la création de groupes de neurones, pouvant se renforcer au cours du sommeil ou des périodes de pause. Ce mécanisme favoriserait la mise en mémoire de séquences spatio-temporelles encodées par les cellules de lieu (Girardeau et Zugaro, 2011 ; Pastalkova *et al.*, 2008).

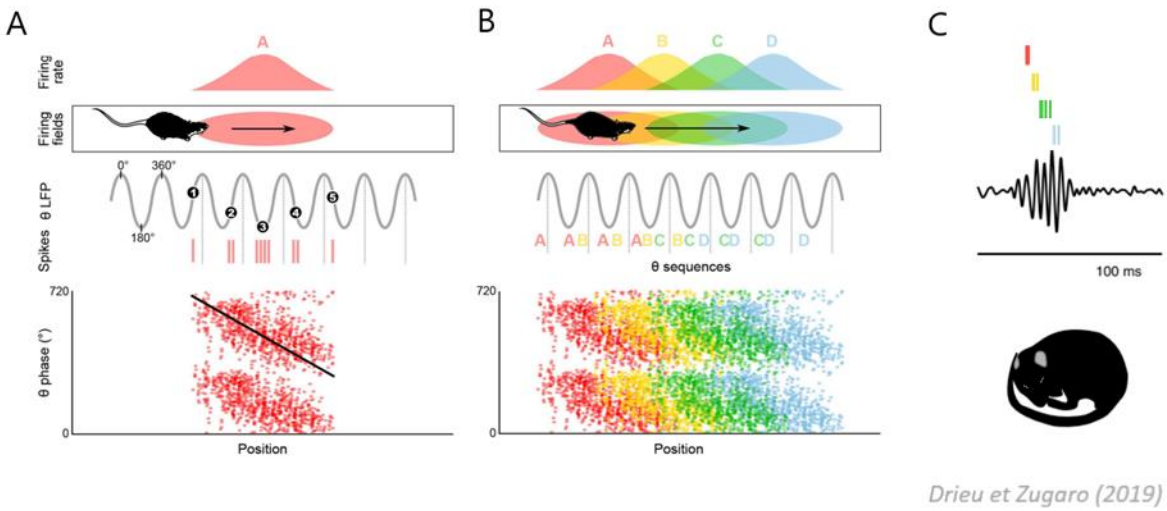


Figure 14. Codage temporel dans l'hippocampe et émergence de séquences thêta.
A. Précession de phase d'une cellule de lieu : en haut, représentation des décharges de la cellule de lieu par rapport au thêta, pendant qu'un rat se déplace dans un couloir. Lorsque le rat entre dans le champ d'activité de la cellule de lieu, celle-ci émet des potentiels d'action (traits verticaux rouges) à une phase spécifique (cercles noirs numérotés) du cycle thêta (sinusoïde grise), elle décharge de plus en plus tôt dans la phase au fur et à mesure que le rat traverse le champ. En bas, tracé de la précession de la phase. Pour chaque potentiel d'action, la phase à laquelle il apparaît est représentée en fonction de la position de l'animal dans le champ (la ligne noire inclinée indique la droite de régression linéaire-circulaire).
B. En haut, quatre champs d'activité se chevauchant alors que l'animal avance dans le couloir. Au milieu, la séquence d'activité des cellules de lieu est conservée à chaque cycle thêta (A, AB, ABC, etc.). Cette activité reflète l'ordre de la traversée des champs à une échelle de temps comprimée sur un cycle thêta. En bas, même représentation que le panel A avec les quatre cellules dont les champs se chevauchent. *Figure issue de Drieu et Zugaro (2019).*
C. Pendant le sommeil (ou le repos éveillé), il est possible d'observer l'apparition d'ondes de hautes fréquences (*sharp-wave ripples*) au sein des potentiels de champs locaux, au cours desquels la réactivation des cellules de lieu s'effectue dans le même ordre. Ce mécanisme serait impliqué dans la mémoire spatiale. *Figure adaptée de Marozzi et Jeffery (2012).*

Relation entre l'activité des cellules de lieu et le comportement de navigation

Les découvertes électrophysiologiques des cellules de lieu corroborent les études lésionnelles de l'hippocampe, qui mettaient en lumière son implication dans la navigation spatiale. En effet, les cellules de lieu intègrent les informations spatiales et les modifications spatiales se reflètent sur leur activité, renforçant l'hypothèse selon laquelle elles seraient le support de la carte cognitive.

De plus, comme présenté précédemment, les cellules de lieu sont actives dès les premières minutes d'exploration d'un environnement, leur activité est ancrée sur les repères externes, reste stable pour un même environnement et se modifie entre des environnements différents. Ces corrélats entre activité des cellules de lieu et comportement de navigation peuvent être perçus comme une preuve de l'implication des cellules de lieu dans le traitement des informations spatiales. En outre, des études plus récentes ont réalisé des expériences établissant un rôle causal et plus seulement corrélatif. En 2012, Liu *et al.* placent des souris dans un environnement dans lequel elles subissent un conditionnement à la peur. En parallèle, les expérimentateurs combinent les outils d'optogénétique et de marqueurs d'activité neuronale pour identifier la population de neurones actifs dans le gyrus denté. Les chercheurs réactivent ensuite, *via* l'optogénétique, ces neurones dans un environnement complètement différent de celui du conditionnement à la peur. Les souris montrent alors un comportement accru de « *freezing*[2] », ce qui indique que la stimulation des neurones, impliqués lors du conditionnement de peur, induit un rappel du contexte de la peur, alors que l'environnement n'y a jamais été associé. Il semble donc que l'activation d'un ensemble spécifique de neurones hippocampiques est suffisante pour rappeler le contexte dans lequel ils sont initialement actifs. Réaliser l'expérience inverse, c'est-à-dire identifier les neurones actifs du gyrus denté dans un environnement neutre et les réactiver dans un environnement lié à un conditionnement à la peur, induit un comportement de *freezing* lorsque les animaux sont replacés dans l'environnement neutre (Ramirez *et al.,* 2013). Aussi, en 2009, Girardeau *et al.* montrent que le phénomène de *replay* constituerait le substrat de la mise en mémoire de l'information spatiale puisque la suppression des *ripples* au cours du sommeil entraîne des déficits significatifs dans une tâche de mémoire spatiale. De même, Jadhav *et al.* (2012), interrompent les *ripples* chez les animaux éveillés pendant l'apprentissage d'une tâche spatiale et observent un déficit spécifique d'apprentissage et de performance qui persiste tout au long de l'entraînement. À l'inverse, prolonger les *ripples* permet d'améliorer les performances mnésiques (Fernández-Ruiz, 2019). Ces résultats établissent donc un lien entre les *ripples* et les processus de mémoire hippocampique. Toutefois ces études ne portent pas

[2] Le « *freezing* » est une forme d'évitement passif dans laquelle l'individu reste immobile pendant quelques secondes et ne cherche pas à courir ou se cacher. Ce comportement est le plus souvent observé comme une réaction de peur face à une situation menaçante.

spécifiquement sur les cellules de lieu (mais impliquent plutôt des neurones ayant un codage contextuel plus large que celui de l'activité spatiale qui caractérise les cellules de lieu ; Tanaka *et al.*, 2018). Des travaux ont montré que, pendant le sommeil, la stimulation du faisceau médial du télencéphale (MFB ; procurant une sensation de récompense chez la souris), déclenchée simultanément à la décharge d'une cellule de lieu (préalablement identifiée), augmente la probabilité d'une visite, par l'animal, de la zone correspondant aux champs d'activité de cette cellule, au cours de l'exploration suivante (De Lavilléon *et al.*, 2015). Cependant, la stimulation du MFB pourrait associer la récompense non seulement aux cellules de lieu, mais aussi à d'autres neurones de régions cérébrales distribuées qui présentent des *replays* synchrones à ceux de l'hippocampe (Ji et Wilson, 2007 ; Tang *et al.*, 2017).

Pour tester pleinement le lien entre l'activité des cellules de lieu et le comportement, une méthode permettant de moduler finement et spécifiquement l'activité des cellules de lieu s'avère nécessaire. La stimulation optogénétique holographique à deux photons récemment mise au point, répond à ce besoin (Packer *et al.*, 2015). En combinant l'imagerie calcique à deux photons et l'optogénétique à deux photons, Robinson *et al.* (2020) parviennent à identifier plusieurs cellules de lieu actives dans un couloir en réalité virtuelle et à sélectivement les activer. Les souris apprennent d'abord l'emplacement d'un but, où elles ont accès à une récompense hydrique. Les souris essayent de s'abreuver uniquement à l'emplacement du but, montrant ainsi qu'elles ont bien identifié son emplacement (comportement quantifiable *via* le léchage). Les auteurs démontrent que s'ils stimulent des cellules de lieu dont les champs d'activité sont, de manière endogène, à proximité de la récompense alors que l'animal se trouve à un autre endroit, l'animal adopte un comportement d'anticipation de récompense : il ralentit et montre un comportement de léchage comme s'il était à l'emplacement du but. Ils constatent aussi qu'en stimulant les cellules de lieu actives, de manière endogène, au début du couloir, alors que les animaux se trouvent juste avant la récompense, ces derniers dépassent la zone de récompense sans boire, comme s'ils se localisaient plus en arrière. Lors des stimulations, environ 45 cellules sont ciblées, ce qui indique que le circuit spatial hippocampique peut donc être sensible à la manipulation d'un nombre relativement faible de cellules de lieu. Ces études révèlent donc que l'activité des cellules de lieu de l'hippocampe est suffisante pour contrôler des comportements de navigation (**Figure 15**).

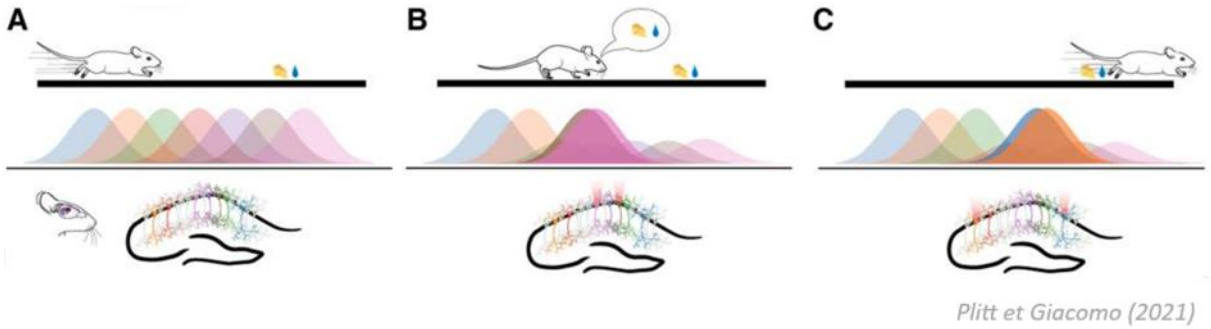


Figure 15. La stimulation des cellules de lieu entraîne des comportements de navigation cohérents en relation avec leur activité
A. Lorsque les souris explorent un couloir virtuel, plusieurs cellules de lieu de l'hippocampe forment des représentations de l'environnement en développant un champ d'activité.
B. La stimulation spécifique des cellules de lieu, associée à l'emplacement de la récompense, entraîne des comportements associés à la récompense (ralentissement et léchage).
C. La stimulation spécifique des cellules de lieu, associée à un emplacement où la souris court généralement vite (comme le début du couloir), incite l'animal à accélérer et même à dépasser l'emplacement de la récompense. *Figure issue de Plitt et Giacomo (2021), schématiser l'étude de Robinson et al. (2020).*

De plus, Coulter *et al.* (2024) se sont demandé si les animaux pouvaient volontairement se remémorer un lieu, c'est-à-dire accéder à la représentation mentale d'un environnement préalablement exploré, en réactivant les cellules de lieu associées. Pour se faire, ils récompensent les animaux, placés dans une boîte, dès que des cellules de lieu associées à une position préalablement explorée s'activent. Les rats augmentent spécifiquement la fréquence de ces représentations au fil du temps, suggérant qu'ils se remémorent volontairement des lieux passés associés avec l'activité des cellules de lieu.

La proposition de O'Keefe et Nadel (1978) suggérant que l'hippocampe est le support de la carte cognitive a été confortée par les résultats de nombreuses études. Cependant, il ne semble pas constituer la seule structure indispensable à la navigation : après des lésions du cortex entorhinal médian, du fornix ou du gyrus dentelé (les entrées hippocampiques), les animaux présentent également des déficits spatiaux alors que les cellules de lieu maintiennent leur sélectivité spatiale (Miller et Best, 1980 ; Hales *et al.*, 2014 ; Schlesiger *et al.*, 2018 ; McNaughton *et al.*, 1989 ; Brun *et al.*, 2002 ; Van Cauter *et al.*, 2008 ; Jacob *et al.*, 2020 ; Parron *et al.*, 2004).

Le cortex entorhinal médian

Les informations sensorielles qui arrivent jusqu'au cortex entorhinal médian suggèrent que les informations spatiales peuvent y être traitées avant d'être transmises à d'autres structures. En effet, une étude destinée à évaluer la dissociation fonctionnelle du cortex entorhinal médian et du cortex entorhinal latéral, indique que le cortex entorhinal médian traite les informations spatiales : sa lésion empêche les animaux de détecter les changements spatiaux, c'est-à-dire le déplacement d'objets d'une configuration spatiale familière vers une nouvelle (Van Cauter *et al.*, 2013 ; **Figure 16.A-B**). En outre, des lésions de la bande dorso-latérale du cortex entorhinal entraînent des déficits dans la tâche de piscine de Morris. Les rats lésés ont de moins bonnes performances, lors de l'acquisition et pendant le test, ce qui n'est pas le cas pour des lésions de la bande ventro-médiane (Steffenach *et al.*, 2005 ; **Figure 16.C-D**).

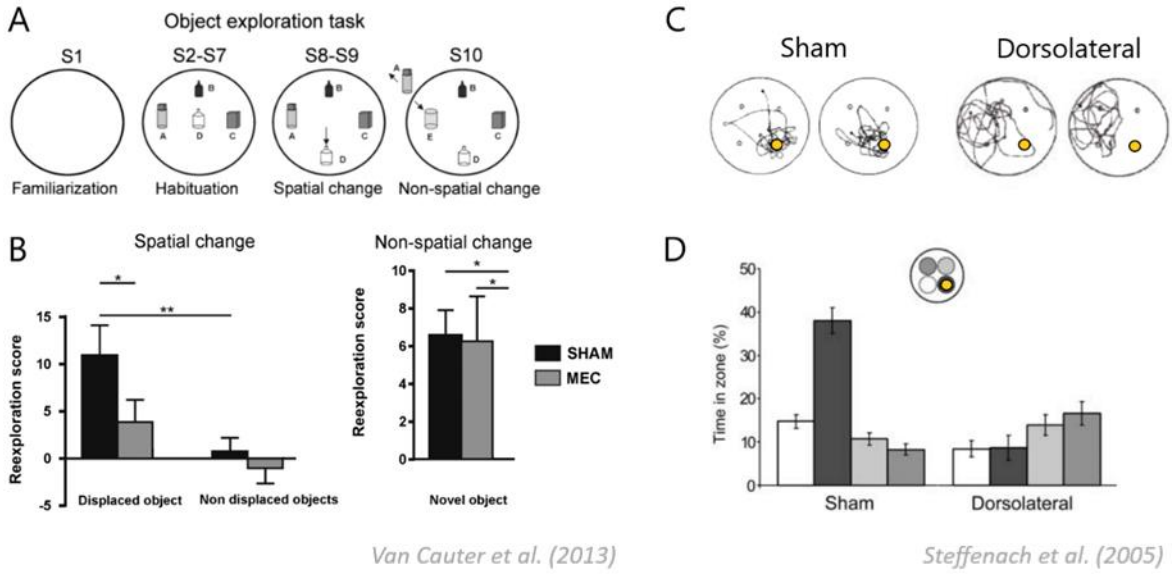


Figure 16. Implication du cortex entorhinal médian dans des tâches spatiales

A. Tâche d'exploration d'objets. Après des sessions d'habituation de la configuration spatiale de quatre objets (S2-S7), l'animal est soumis au déplacement d'un objet (S8-S9) ou au changement d'identité d'un objet (S10).

B. Les animaux dont le cortex entorhinal médian est lésé détectent moins bien les changements spatiaux que les animaux sham. En revanche ils n'ont aucune difficulté à détecter les changements d'identité d'objets. *Figure issue de Van Cauter et al. (2013).*

C. Trajectoires d'animaux sham et lésés au niveau de la bande dorso-latéral du cortex entorhinal médian dans la tâche de la piscine de Morris (phase test où la plateforme est retirée).

D. Les animaux sham passent plus de temps dans la zone de la plateforme (en bas à droite, identifiée par un cercle jaune) mais pas les animaux lésés. Histogrammes noirs : quadrant cible

où se situe la plateforme, histogrammes blancs et gris clair : quadrants sans plateforme. *Figure issue de Steffenach et al. (2005).*

Sur la base de ces résultats, Traissard *et al.* (2007) confirment que des lésions de la bande dorso-latérale du cortex entorhinal induisent des déficits dans la tâche de la piscine de Morris ainsi que dans celle du labyrinthe radial. Il semble donc que le cortex entorhinal médian est impliqué dans des tâches initialement connues pour être hippocampo-dépendantes. Etant donné que le cortex entorhinal médian projette vers l'hippocampe dorsal, *via* la voie perforante, il a été émis l'hypothèse selon laquelle les cellules de lieu ou certaines de leurs propriétés dépendent des informations issues du cortex entorhinal.

Les cellules de grille

Le groupe de Edvard et May-Britt Moser décide alors d'enregistrer l'activité électrophysiologique du cortex entorhinal médian au niveau de la bande dorso-latérale, d'autant plus cette région cérébrale envoie des projections vers l'hippocampe dorsal et reçoit les plus importantes entrées visuo-spatiales. Fyhn *et al.* (2004), qui enregistrent des neurones de la couche II et III du cortex entorhinal médian, découvrent une activité spatiale bien particulière : elle est spatio-sélective comme celle des cellules de lieu, mais possède plusieurs champs d'activité. Ces champs d'activité forment une structure incroyablement régulière, avec un motif de grille, formant des triangles équilatéraux et couvrant l'ensemble de l'environnement (Fyhn *et al.*, 2004 ; Hafting *et al.*, 2005 ; Sargolini *et al.*, 2006). Ces cellules sont alors dénommées « cellules de grille » (**Figure 17.A**). La structure en grille est si régulière qu'il a été suggéré que ces cellules de grille fonctionnent comme un réseau interconnecté (c'est-à-dire un réseau attracteur ; Yoon *et al.*, 2013). Les travaux suivants ont montré que ces cellules de grille sont présentes dans toutes les couches corticales du cortex entorhinal médian, même si leur proportion est plus importante dans la couche II (Sargolini *et al.*, 2006). Sargolini *et al.* (2006) ont également identifié d'autres types de cellules, distribuées dans tout le cortex entorhinal médian. Une proportion significative de cellules de direction se trouve dans les couches III, V et VI, dont les propriétés sont comparables à celles du postsubiculum ou du thalamus antérieur (voir section « **cellules de direction** » plus loin). Les auteurs mettent

également en évidence des cellules dont l'activité est une conjonction de cellules de grille et de cellules de direction (ce sont les « cellules conjointes » ; **Figure 17.C**).

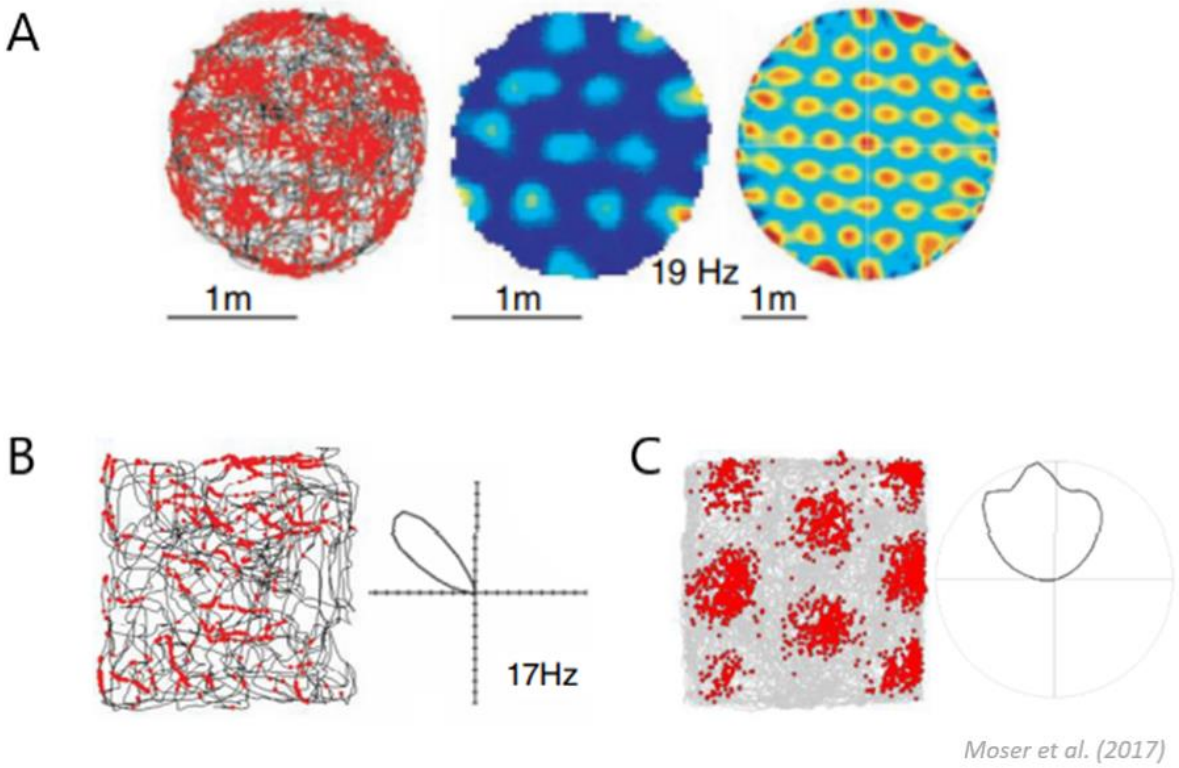


Figure 17. Les cellules de grille, de direction de la tête et conjointes.
A. Champs d'activité d'une cellule de grille. À gauche : la trajectoire du rat est représentée en noir. Chaque point rouge représente la position de l'animal chaque fois qu'une cellule de grille émet un potentiel d'action. Au milieu : la carte de fréquence de cette cellule de grille (rouge, fréquence maximale ; bleu foncé, aucune activité). À droite : autocorrélogramme spatial, codé en couleur, du bleu (r = -1) au rouge (r = 1) en passant par le vert (r = 0).
B. À gauche : la position de l'animal, pour chaque potentiel d'action d'une cellule de direction (point rouge), superposée à la trajectoire de l'animal (trait gris). À droite : la fréquence d'activité de la cellule en fonction de la direction de la tête, représentée selon des coordonnées polaires. La cellule décharge avec une fréquence maximale de 17 Hz. La cellule de direction de la tête, enregistrée dans la couche V du cortex entorhinal médian.
C. Une cellule conjointe grille × direction, enregistrée dans la couche III du cortex entorhinal médian. À gauche : la position de l'animal pour chaque potentiel d'action émis par la cellule (point rouge), superposée à la trajectoire de l'animal (trait gris). À droite : la fréquence d'activité de la cellule en fonction de la direction de la tête. *Figure issue de Moser et al. (2017).*

La taille des champs, la distance entre eux et l'orientation de la grille sont organisées topographiquement selon l'axe dorso-ventral du cortex entorhinal médian. C'est-à-dire que les

cellules dont les champs d'activité sont les plus petits et les plus rapprochés se trouvent dans la partie dorsale (avec des distances entre les champs inférieurs à 30 cm) et au fur et à mesure de la progression vers la partie ventrale de la structure, la taille des champs et l'espacement entre eux augmentent (pouvant atteindre plusieurs mètres ; Hafting *et al.*, 2005 ; Brun *et al.*, 2008 ; Stensola *et al.*, 2012). Il semblerait que cette organisation ne soit pas continue mais plutôt structurée par paliers, de sorte que des cellules de grille, ayant toutes une taille de champs, un écartement et une orientation spécifiques, soient rassemblés en modules. Ainsi, les cellules de grille voisines ont une orientation, une taille de champs et une distance entre les champs très similaires, et seule la phase de la grille se trouve modifiée.

La structure en grille apparait très rapidement lors de l'exploration d'un environnement et reste très stable. En effet, les cellules de grille sont maintenues, même dans les environnements pauvres et dans l'obscurité (Hafting *et al.*, 2005). En revanche, des travaux chez la souris soulignent que leurs cellules de grille sont beaucoup plus dépendantes des informations visuelles car la régularité et la stabilité de la grille sont perturbées voire perdues, dans l'obscurité (Chen *et al.*, 2016 ; Perez-Escobar *et al.*, 2016). La formation d'une décharge en grille si régulière, même dans l'obscurité, suggère une mise à jour continue de la position. Puisque la métrique d'une grille semble indépendante de l'environnement exploré, la formation de la grille doit dépendre des informations idiothétiques. Dans ce sens, Sargolini *et al.* (2006) montrent que la fréquence de décharge des cellules de grille et conjointes est modulée positivement par la vitesse de déplacement de l'animal. De plus, certaines cellules du cortex entorhinal médian présentent une fréquence d'activité corrélée à la vitesse de déplacement des animaux : ce sont les « cellules de vitesse » (Kropff *et al.*, 2015). Elles pourraient fournir des signaux de vitesse aux cellules de grille pour estimer la distance au cours de l'intégration des trajets, d'autant que le cortex entorhinal médian et ses cellules de grille sont également impliqués dans la navigation par intégration de trajets (Gil *et al.*, 2018 ; Jacob *et al.*, 2019).

La périodicité si stricte de la structure de décharge des cellules de grille suggère l'existence d'un système de coordonnées métriques pour la navigation spatiale (Hafting *et al.*, 2005). En effet, l'activité des cellules de grille demeure très rigide puisqu'elle est la même dans tous les contextes, comme attendu pour une carte fondée sur l'intégration des trajets, qui conserve des propriétés métriques constantes à travers les contextes et les environnements. En

conséquence, il a été proposé que les cellules de grille jouent un rôle dans l'estimation de la distance parcourue par l'animal et permettent de fournir un système de coordonnées afin de naviguer dans l'espace. Pour rappel, l'intégration des trajets est sensible à l'accumulation d'erreurs, et de ce fait, nécessite un recalibrage de la position afin que son estimation soit correcte. À cette fin, les repères allothétiques stables de l'environnement s'avèrent de très bons repères pour mettre à jour sa position.

Or, il se trouve que les cellules de grille sont sensibles aux repères externes, notamment les murs de l'environnement. Lorsqu'un environnement est agrandi ou réduit, la structure en grille est maintenue et des champs disparaissent ou apparaissent jusqu'aux nouvelles limites (Hafting *et al.*, 2005), bien que des modifications trop importantes de la géométrie d'un environnement familier puissent affecter la structure en grille des cellules (Barry *et al.*, 2007 ; voir **Chapitre 3** « **Géométrie structurelle de l'environnement** »). Ce constat laisse supposer qu'une grille peut s'étendre indéfiniment de manière à recouvrir la totalité de l'environnement exploré par l'animal. Il existe des cellules dont l'activité est étroitement liée à la proximité d'un bord, d'une limite ou d'une frontière dans l'environnement (Savelli *et al.*, 2008 ; Solstad *et al.*, 2008). Ces « cellules de bord » ont tout d'abord été prédites sur la base de modèles de fonctionnement des cellules de lieu (O'Keefe et Burgess, 1996 ; Hartley *et al.*, 2000). Tout comme une cellule de grille, une cellule de bord le restera toujours, dans tous les environnements. Certaines cellules de bord présentent une activité conjointe à une activité de direction (Solstad, *et al.*, 2008). Concernant le rôle des cellules de bord, il est proposé qu'elles permettent à la grille de s'ancrer aux limites géométriques de l'environnement. Les bords peuvent servir de référence pour l'estimations de la position et permettent son recalibrage en vue de réduire les erreurs d'estimation (McNaughton *et al.*, 1991 ; McNaughton *et al.*, 1996 ; Touretzky et Redish, 1996).

Les repères visuels exercent également un contrôle sur l'activité des cellules de grille. La rotation de repères visuels présents dans l'environnement entraîne une rotation équivalente de la grille (Hafting *et al.*, 2005 ; Sargolini *et al.*, 2006), ce qui signifie que les informations allothétiques sont intégrées par les cellules de grille (**Figure 18.A-B**). De plus, entre deux environnements différents, bien que les cellules de grille maintiennent toujours la même régularité spatiale entre leurs champs d'activité, l'orientation et la phase de la grille changent, ce phénomène est appelé « réalignement spatial » (Fyhn *et al.*, 2007 ; **Figure 18.C**). Les cellules

de grille présentent également une modification de leur fréquence d'activité en réponse aux changements des repères visuels locaux de l'environnement (Pérez-Escobar *et al.*, 2016). À l'instar du recodage spatial observé dans les cellules de lieu (Anderson et Jeffery, 2003), les modifications des repères contextuels (couleur, odeur), induisent un réalignement de la grille et un changement de sa fréquence d'activité (Marozzi *et al.*, 2015). Tout comme les cellules de lieu, il serait donc possible de dissocier des environnements sur la base de l'activité des cellules de grille. En revanche, contrairement aux cellules de lieu, lors d'un réalignement spatial les cellules de grille restent cohérentes les unes avec les autres puisque leurs relations de phase, d'orientation et de taille restent constantes (Fyhn *et al.*, 2007).

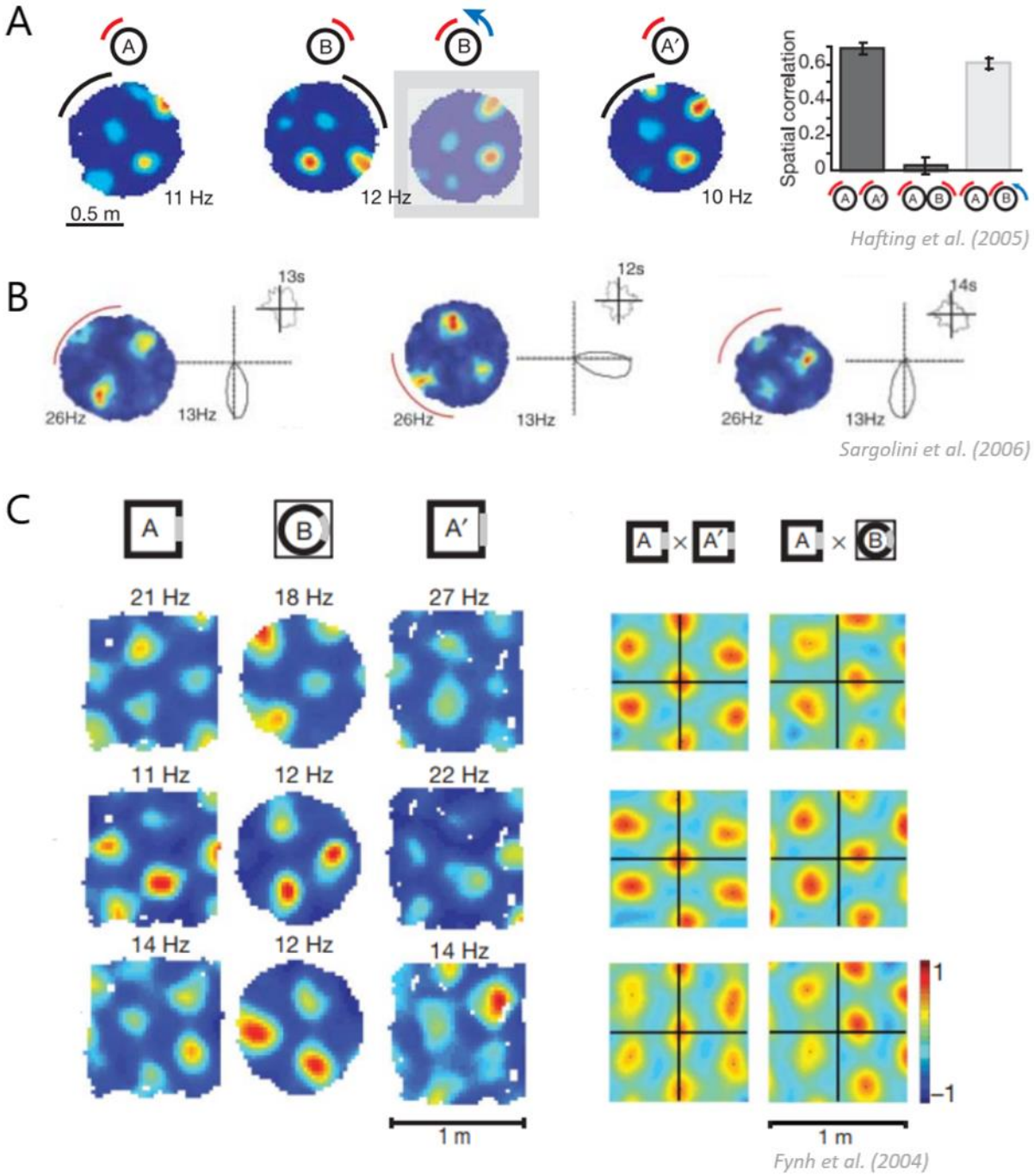


Figure 18. Modulation des cellules de grille par les repères allothétiques

A. La structure en grille de la cellule suit les rotations du repère visuel placé sur la paroi de l'arène. *Figure issue de Hafting et al. (2005).*

B. Les cellules conjointes présentent une rotation de la grille cohérente avec la rotation de la direction préférentielle. *Figure issue de Sargolini et al. (2006).*

C. À gauche, trois exemples de cellules de grille qui présentent un réalignement spatial lorsque l'animal est placé dans un environnement distinct (circulaire) : les cellules changent de phase, comme le montrent les matrices de cross-corrélation pour chaque cellule (à droite), mais les propriétés de taille de champs, d'espacement et d'orientation sont conservées. *Figure issue de Fynh et al. (2004).*

Au travers de la diversité des caractéristiques spatiales des cellules du cortex entorhinal médian, il encode des informations de position, de direction, de limite, ainsi que de vitesse et de distance. En d'autres termes, il contient toutes les composantes positionnelles et directionnelles nécessaires au calcul d'une représentation métrique, telle que celle présentée par les cellules de grille. Ces études montrent aussi, qu'au-delà d'une influence des informations idiothétiques, les repères externes modulent l'activité des cellules de grille et peuvent s'avérer nécessaires pour la stabilisation et l'ancrage de leur structure. Il a été suggéré que les informations idiothétiques sont à l'origine de la formation des champs d'activité des cellules de grille, et que les repères externes (principalement visuels) en fournissant des entrées directionnelles, permettent d'ancrer l'activité spatiale des grilles et de déterminer leur orientation.

Interactions hippocampe - cortex entorhinal médian

L'hippocampe et le cortex entorhinal médian sont directement et réciproquement connectés (Van Strien *et al.,* 2009). Le cortex entorhinal médian constitue la principale voie d'entrée des informations spatiales dans l'hippocampe (Brun *et al.*, 2002). C'est à partir de ce constat que le groupe de recherche de May-Britt et Edvard Moser se focalise sur la recherche d'une activité spatiale dans le cortex entorhinal et identifie les cellules de grille. La question des influences réciproques des cellules spatiales du cortex entorhinal médian et de l'hippocampe s'est alors posée.

À la suite de lésions de l'hippocampe, l'activité des cellules de grille du cortex entorhinal médian peut devenir directionnelle (Fyhn *et al.*, 2004 ; Bonnevie *et al.*, 2013). Les cellules qui conservent une activité spatiale, présentent une grille beaucoup moins cohérente et moins stable d'une session à l'autre, et l'activité en grille devient complètement désorganisée après environ trente minutes dans le même environnement. Réciproquement, des lésions ipsilatérales de la couche III du cortex entorhinal médian dorsal (qui projette sur CA1) conduisent à une réduction du contenu informatif et une augmentation de la taille des champs des cellules de lieu dans CA1, mais pas dans CA3 (Brun *et al.*, 2008). De même une lésion complète du cortex entorhinal rend l'activité des cellules de lieu de CA1 moins stable et moins contrôlée par les repères externes, mais ne l'abolit pas (Van Cauter *et al.*, 2008 ; Jacob *et al.*,

2020 ; Hales, *et al.*, 2014). Le maintien de l'activité spatiale des cellules de lieu suppose qu'une activité spatiale peut être générée par d'autres entrées, telles que des neurones (faiblement) spatialement modulés du cortex entorhinal latéral (Hargreaves *et al.*, 2005), qui fournissent aux cellules hippocampiques des entrées sensorielles indépendantes, nécessaires au codage fréquentiel des cellules de lieu (Lu *et al.*, 2013). Cependant, même dans des conditions où l'inactivation du cortex entorhinal médian ne nuit pas à la sélectivité spatiale dans l'hippocampe, son inactivation provoque un recodage spatial instantané (Miao *et al.*, 2015), ce qui suggère que le cortex entorhinal médian est nécessaire à l'activité stable des cellules de lieu. De plus, des changements de fréquence, de la part des entrées du cortex entorhinal médian suffisent à modifier complètement la distribution de l'activité des cellules de lieu dans l'hippocampe (Kanter *et al.*, 2017). Les inactivations du septum perturbent la structure régulière des cellules de grille sans modifier l'activité des cellules de lieu (Brandon, *et al.*, 2011 ; Koenig *et al.*, 2011).

Aussi, un effet transitoire sur les cellules de grille est observé lorsqu'un animal est exposé pour la première fois à un environnement nouveau : les cellules montrent une expansion de leur grille accompagnée d'une certaine irrégularité (Barry *et al.*, 2012 ; **Figure 19**). Au fil des sessions d'enregistrement, cette expansion disparaît progressivement et la grille revient à une échelle identique à celle des environnements familiers. Les auteurs suggèrent que cette modification de la grille constitue un signal de nouveauté, qui contribue au recodage global des cellules de lieu hippocampiques. En effet, dans l'environnement nouveau, en plus d'un recodage spatial, les cellules présentent une petite expansion accompagnée d'une augmentation de la taille des champs, et par la suite, leur taille diminue en même temps que la grille retrouve son échelle initiale.

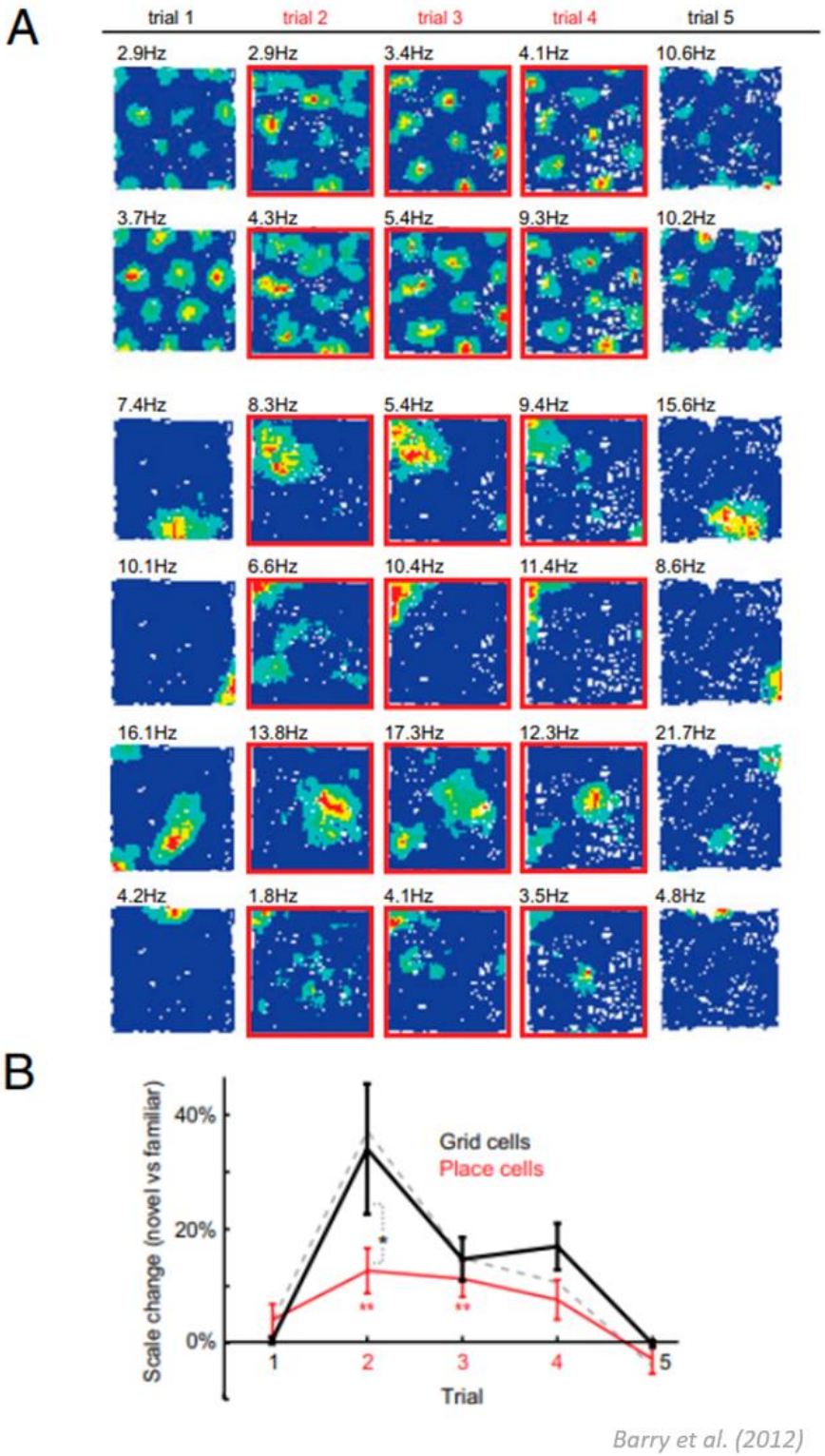


Figure 19. L'expansion et l'irrégularité de la grille s'accompagnent d'un recodage des cellules de lieu

A. Cartes d'activité de deux cellules de grille et quatre cellules de lieu enregistrées simultanément. Les animaux sont placés dans un environnement familier aux sessions 1 et 5 et dans un nouvel environnement lors des sessions 2 à 4 (en rouge). Le passage de l'arène familière à la nouvelle arène (session 1 vs session 2) entraîne d'importants changements dans la position des champs d'activité des cellules de lieu et dans les fréquences d'activité.

B. La taille du champ d'activité des cellules de lieu et l'échelle de la grille des cellules de grille augmentent lors de la 1ère exposition au nouvel environnement (session 2) et diminuent au cours des sessions suivantes (sessions 3 et 4). La ligne pointillée grise montre la taille des champs d'activité des cellules de grille. *Figure issue de Barry et al. (2012).*

L'enregistrement simultané des cellules de lieu de CA3 et des cellules de grille (Fyhn *et al.*, 2007) montre que, lors d'un recodage spatial global des cellules de lieu (c'est-à-dire que les champs d'activité changent de position entre deux environnements), la phase et l'orientation des cellules de grille sont également modifiées. Dans le cas de rotation d'un repère visuel, l'orientation des grilles pivote de manière cohérente avec les champs d'activité des cellules de lieu (Fyhn *et al.*, 2007). En revanche, lorsque la modification environnementale n'entraîne qu'un recodage fréquentiel des cellules de lieu (c'est-à-dire que les champs d'activité restent stables), la phase et de l'orientation de l'activité des cellules de grille ne sont pas modifiées.

La compréhension des mécanismes liant les cellules de grille et les cellules de lieu nécessite que les circuits soient démêlés plus en détail, notamment en termes d'entrées et de sorties des cellules individuelles. Mais il est certain qu'une influence fonctionnelle réciproque existe entre l'hippocampe et le cortex entorhinal médian (Jeffery, 2011).

Les cellules de direction de la tête

Naviguer dans un environnement requiert deux informations principales : la position (du sujet et du lieu) et la direction à prendre. Si les cellules de lieu découvertes en 1971 supportent les informations de position, en 1984 Jim Ranck révèle l'existence dans le postsubiculum de cellules dont l'activité est spécifique d'une direction de la tête de l'animal (peu importe sa position dans l'environnement ; **Figure 20**).

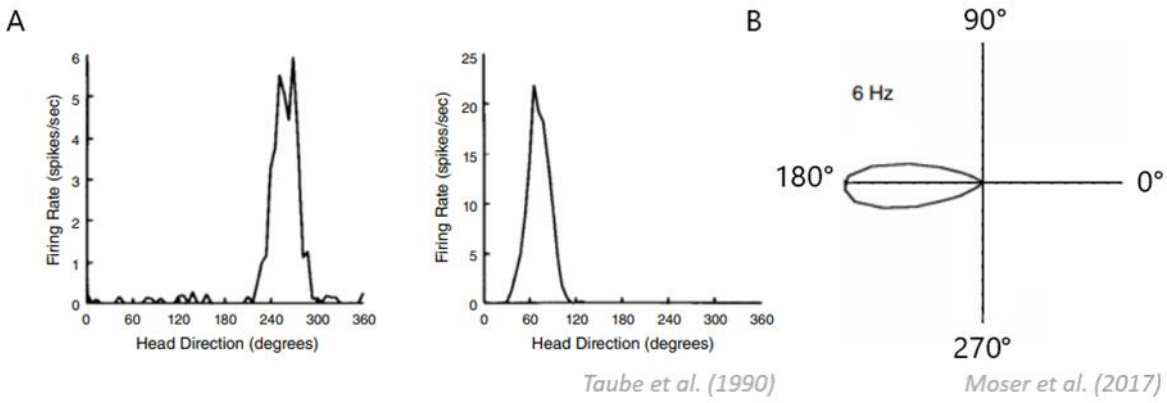


Figure 20. Cellules de direction de la tête
A. Fréquence d'activité en fonction de la direction de la tête de deux cellules de direction de la tête. *Figure issue de Taube et al. (1990).*
B. Fréquence d'activité d'une cellule en fonction de la direction de la tête représentée selon des coordonnées polaires. La cellule décharge avec une fréquence maximale (6 Hz) lorsque l'animal pointe sa tête vers la gauche. *Figure issue de Moser et al. (2017).*

Par la suite, les cellules de direction ont été enregistrées dans de nombreuse structures, à savoir le noyau tegmental dorsal (11% : Bassett et Taube, 2001 ; 14% : Sharp *et al.*, 2001), les noyaux mamillaires latéraux (25% : Stackman et Taube, 1998), le noyau antéro-dorsal du thalamus (60% : Taube, 1995), le noyau thalamique antéro-ventral (39% : Tsanov *et al.*, 2011; Yoganarasimha *et al.*, 2006), le noyau thalamique antero-median (10% : Jankowski *et al.*, 2015), le noyau thalamique latéro-dorsal (Mizumori et Williams, 1993), le noyau reuniens (10% ; Jankowski *et al.*, 2014), le cortex rétrosplénial (10% : Chen, *et al.*, 1994 ; Cho et Sharp, 2001 ; Jacob *et al.*, 2017 ; Lozano *et al.*, 2017), le postsubiculum (26% : Taube *et al.*, 1990 ; Simonnet et Fricker, 2018 ; Simonnet *et al.*, 2017), le striatum (Wiener, 1993 ; Mizumori *et al.*, 2000), l'hippocampe (bien que leur présence dans cette structure soit assez marginale ; Leutgeb *et al.*, 2000), le cortex entorhinal médian (Sargolini *et al.*, 2006 ; Giocomo *et al.*, 2014), le parasubiculum (Boccara *et al.*, 2010), le cortex pariétal (Chen *et al.*, 1994 ; Chen et Nakamura Aya, 1998 ; Wilber *et al.*, 2014), le cortex visuel secondaire médian (Chen *et al.*, 1994) et récemment, des cellules de direction ont également été signalées dans le cortex somatosensoriel du rat (4% : Long et Zhang, 2021). Les cellules de direction des différentes régions présentent des caractéristiques très similaires, malgré quelques différences mineures d'une région à l'autre.

Ce signal directionnel étant distribué à tout un réseau (**Figure 21**), des études lésionnelles (ou d'inactivation temporaire) couplées à l'enregistrement électrophysiologique unitaire ont permis de mettre en évidence que la source sensorielle principale du signal directionnel provenait du système vestibulaire (Stackman et Taube, 1997 ; Muir *et al.*, 2009 ; Yoder et Taube, 2009 ; Valerio et Taube, 2016 ; Stackman *et al.*, 2002). De plus, des rats devant réaliser une tâche spatiale, la tête en bas, ce qui empêche la détection d'information gravitaire par le système vestibulaire, le signal directionnel se trouve aboli. Les animaux se trouvent alors dans l'incapacité de naviguer en s'appuyant sur une stratégie allocentrée, alors que l'utilisation d'une stratégie procédurale reste préservée (Gibson *et al.*, 2013). Les études lésionnelles ont aussi permis de mieux comprendre le sens du flux de l'information entre les différentes structures du système de direction de la tête. Des lésions bilatérales du noyau tegmental dorsal (qui contient des cellules dont l'activité est corrélée à la vitesse de rotation de la tête) ou des noyaux mamillaires latéraux suppriment le signal directionnel au niveau du noyau thalamique antéro-dorsal (Blair *et al.*, 1999 ; Basset *et al.*, 2007 ; revue Taube, 2007). Les noyaux mamillaires latéraux constitueraient donc la première structure où émerge une activité directionnelle (ce sont aussi ces cellules qui anticipent le plus la direction réelle de la tête) et dont la présence serait cruciale pour le maintien du signal directionnel dans les structures situées en aval. L'apparition du signal directionnel dans les noyaux mamillaires latéraux est probablement possible grâce aux informations de vitesse angulaire qu'il intègre, ainsi que des informations liées au mouvement (somato-sensorielles, copies d'efférences motrices ou flux optique).

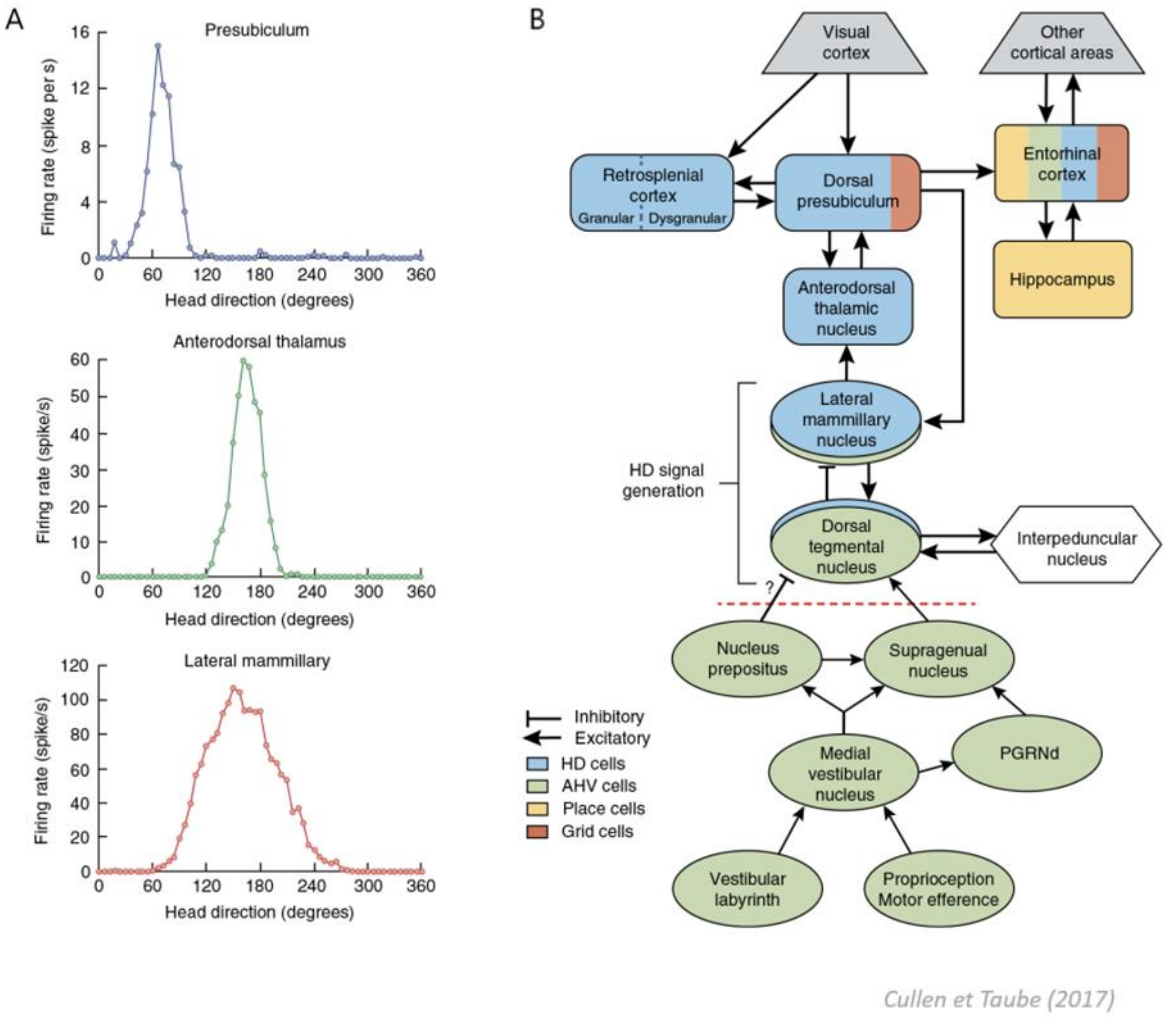


Figure 21. Le circuit directionnel
A. La fréquence de décharge en fonction de la direction de la tête pour trois cellules directionnelles localisées dans le présubiculum, le noyau antéro-dorsal du thalamus et le noyau mamillaire latéral. Des pics de fréquence variés peuvent être observés dans l'ensemble des structures cérébrales contenant des cellules directionnelles.
B. Diagramme représentant les principales connexions fonctionnelles entre les structures cérébrales contenant des cellules de direction (« *HD cells* » en bleu), des cellules de vitesse angulaire de la tête (« *AHV cells* », en vert), des cellules de grille (« *grid cells* », en rouge) et des cellules de lieu (« *place cells* », en jaune). *Figure issue de Cullen et Taube (2017).*

Confirmant la justesse du circuit du signal directionnel, Butler *et al.* (2017) montrent que la perturbation du réseau directionnel, par stimulations optogénétiques des projections du noyau prepositus vers le noyau tegmental dorsal, induit une déviation de la direction préférentielle de décharge des cellules de direction dans le noyau thalamique antéro-dorsal dans l'obscurité. Cette déviation de l'activité directionnelle s'accompagne d'une déviation angulaire équivalente dans le trajet effectué par les animaux, dans une tâche d'intégration de

trajets, montrant l'importance de ce signal dans la navigation. Dans la suite du circuit, des lésions bilatérales du noyau thalamiques antéro-dorsal suppriment, à leur tour les signaux directionnels au niveau du postsubiculum (Goodridge et Taube, 1997).

En revanche, en sens inverse, des lésions du postsubiculum, du noyau thalamique latéro-dorsal ou de l'hippocampe laissent intact le signal directionnel du noyau thalamique antéro-dorsal (Goodridge et Taube, 1997). Bien que les connexions descendantes n'abolissent pas le signal directionnel, certaines modulations semblent tout de même possibles : après lésion du cortex rétrosplénial, les cellules de direction du noyau thalamique antéro-dorsal déchargent pour un plus grand intervalle de direction, se montrent moins stables au sein d'une session et suivent moins le contrôle des repères visuels (Clark *et al.*, 2010). Les lésions du postsubiculum altèrent également la modulation des repères visuels sur les cellules de direction du noyau antéro-dorsal du thalamus, à la suite d'une rotation (Goodridge et Taube, 1997). En outre, Yoder *et al.* (2015) rapportent que les lésions du postsubiculum affectent l'activité des cellules de direction du noyau mamillaire latéral dans l'obscurité et perturbent aussi le contrôle des repères. Par conséquent, il est très probable que les informations, issues des repères visuels, partent du postsubiculum et du cortex rétrosplénial vers les noyaux thalamiques antéro-dorsaux et les noyaux mamillaires latéraux (Yoder *et al.*, 2011), et que le recalibrage des cellules de direction par les entrées visuelles dépend au moins d'une voie descendante cortico-thalamique intacte et fonctionnelle.

Une cellule directionnelle se caractérise par une activité maximale lorsque la tête de l'animal pointe vers une direction spécifique, selon un référentiel allocentré : c'est sa direction préférentielle. Les cellules de direction canoniques sont unidirectionnelles et stables au cours du temps (Taube, 2007), leur activité directionnelle suit donc une distribution gaussienne, avec un pic au sein d'un intervalle de direction restreint, et une activité silencieuse en dehors de sa direction préférentielle (~ 0 Hz) (**figure 20. A-B et 21. A**). L'activité maximale de la cellule se situe au centre d'un intervalle de décharge qui varie selon un angle de 60° à 150° (90° en majorité) sur le plan horizontal. Il est intéressant de noter que l'activité des cellules de direction de la tête est corrélée avec le comportement spatial, de sorte que les choix spatiaux correspondent généralement à la direction préférentielle des cellules de direction de la tête (Dudchenko et Taube, 1997 ; Van der Meer et al, 2010). L'analyse de population des cellules de direction révèle que la distribution de leurs directions préférentielles est uniformément

répartie dans toutes les directions (de 0° à 360°), et ce, quel que soit l'environnement, soutenant leur rôle de représentation des directions dans un référentiel allocentré. Aussi longtemps que la tête de l'animal fait face à la direction préférentielle de la cellule, elle continuera de décharger, indépendamment des mouvements, des arrêts ou d'un comportement particulier de l'animal (Taube *et al.*, 1990 ; revue Taube, 2007). Puisque la direction préférentielle de la cellule est exactement la même en plusieurs lieux d'un environnement, il existe une indépendance des cellules de direction par rapport à la position de l'animal. Cette caractéristique fait de ces neurones de véritables compléments des cellules de lieu, et chacune des populations fournit la preuve qu'il existe des représentations spatiales allocentrées, l'une pour les directions et l'autre pour les positions.

Des études, portant sur le développement, ont montré que les signaux directionnels se développent très tôt, avant même l'ouverture des yeux des ratons (Bjerknes *et al.*, 2014). Les cellules de direction sont observées douze jours après la naissance du raton (P12), bien avant les cellules de lieu qui émergent à P16 et les cellules de grille à P20 (Wills *et al.*, 2010 ; Langston *et al.*, 2010 ; revue de Tan *et al.*, 2017), suggérant que le développement du système directionnel n'est pas dépendant des cellules positionnelles. En outre, l'apparition des cellules de direction, avant même l'ouverture des yeux des ratons, laisse supposer qu'au moins une partie du réseau directionnel existe avant le début du traitement de l'information visuelle. L'activité des cellules de direction dans le noyau thalamique antéro-dorsal des ratons (à P13) présente toutefois une faible information directionnelle et ces cellules sont instables lorsque les ratons, avant l'ouverture des yeux, sont placés dans une grande arène. En revanche, une activité directionnelle plus précise est observée lorsque les ratons sont placés dans une petite cage. Ce résultat permet de déduire que les caractéristiques géométriques de l'environnement, telles que les angles et les limites, fournissent des informations nécessaires pour générer un signal directionnel, peut-être *via* le système vestibulaire (Bassett *et al.*, 2018). Les études développementales suggèrent donc que le système directionnel se développe tôt et dépend de l'intégration des signaux vestibulaires et somesthésiques. Aussi, la direction préférentielle de décharge des cellules de direction est maintenue dans l'obscurité, ce qui suggère bien que les cellules de direction intègrent les informations idiothétiques (Taube, 2007). Cependant, après un certain temps l'accumulation d'erreurs, inhérente à l'utilisation des informations idiothétiques, fait apparaître une déviation angulaire de la direction

préférentielle des cellules. Par exemple, les cellules de direction du noyau thalamique antéro-dorsal et du postsubiculum présentent une perte de leur stabilité chez les rats aveugles (Goodridge *et al.*, 1998). Les repères visuels sont alors utiles pour recalibrer l'activité des cellules de direction afin que le système maintienne une orientation stable (Skaggs *et al.*, 1995).

Les cellules de direction de la tête possèdent des propriétés communes aux cellules de lieu, notamment leur modulation par les repères externes et les informations idiothétiques (Knierim *et al.*, 1995 ; Taube *et al.*, 1990 ; Wiener *et al.*, 2002 ; Zugaro *et al.*, 2000). Les repères visuels distaux, supposés être de meilleurs repères directionnels, car plus stables au cours des déplacements, exercent un contrôle plus fort que celui des repères visuels proximaux sur l'activité des cellules de direction (Zugaro *et al.*, 2004 ; Yoganarasimha *et al.*, 2006). Comme mentionné auparavant, les repères éloignés servent de référence directionnelle plus stable, dans la mesure où ils peuvent être dissociés de la position de l'animal et présentent des changements d'angle visuel faibles, produisant moins d'erreurs de parallaxe (Gallistel, 1990). La rotation d'une arène circulaire induit une rotation équivalente des cellules de direction, indiquant qu'elles ancrent leur activité sur le repère visuel placé sur la paroi (Taube *et al.*, 1990 ; Taube, 1995 ; Goodridge *et al.*, 1998). Tout comme les cellules de lieu, lorsque la rotation entraîne un conflit entre les informations idiothétiques et visuelles (alors que l'animal reste dans l'arène qui est pivotée), le contrôle des informations visuelles sur l'activité des cellules de direction va dépendre de la magnitude de la rotation : plus elle est importante, moins le contrôle des informations visuelles sur les cellules de direction est possible (Knierim *et al.*, 1998). En outre, l'activité cellules de lieu est cohérente avec celle des cellules de direction, c'est-à-dire que les rotations des champs d'activité des cellules de lieu sont équivalentes aux rotations des directions préférentielles des cellules directionnelles (Knierim *et al.*, 1995 ; Yoganarasimha et Knierim, 2005 ; **Figure 22**). Ce constat plaide fortement en faveur de l'existence d'un système intégré dédié à la navigation et confirme que les systèmes positionnel et directionnel sont deux réseaux neuronaux différents mais fonctionnellement connectés (deux réseaux d'attracteurs, pouvant interagir l'un avec l'autre ; Skaggs *et al.*, 1995 ; Zhang, 1996 ; Samsonovich et McNaughton, 1997). De la même manière, comme les cellules de lieu, des repères olfactifs peuvent contrôler l'activité des cellules de direction de la tête (Goodridge

et al., 1998). Ainsi, le réseau directionnel parvient à combiner les informations idiothétiques et allothétiques (Knight *et al.*, 2014).

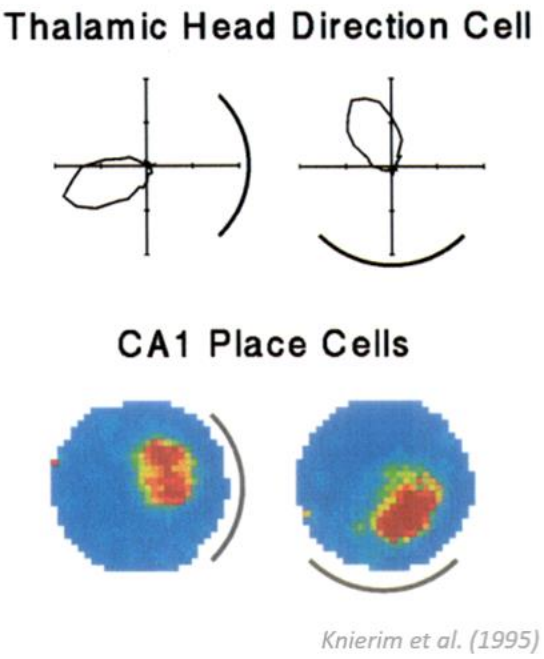


Figure 22. Les cellules de direction sont contrôlées par les repères allothétiques en cohérence avec les cellules de lieu
Une cellule de direction de la tête suit la rotation du repère visuel placé sur la paroi d'une arène circulaire. Le champ d'activité d'une cellule de lieu (enregistrée en simultanée) suit exactement la même rotation. *Figure issue de Knierim et al. (1995).*

Lorsqu'un animal se trouve exposé à un nouvel environnement les cellules de direction changent de direction préférentielle. Mais les relations angulaires des directions préférentielles restent constantes pour toutes les cellules de direction. C'est-à-dire que la direction préférentielle de toutes les cellules de direction pivote exactement selon le même angle de rotation. Les cellules de direction changent de direction préférentielle de manière cohérente, comme si elles faisaient partie d'un seul et même réseau. Une cellule de direction ne devient donc jamais silencieuse dans un nouvel environnement. Et dès que l'animal est replacé dans un environnement familier, les cellules recalibrent leur direction préférentielle (par rapport à un repère) quasi instantanément (80 ms ; Zugaro *et al.*, 2003). Ces observations de forte cohérence et de rapidité de la réponse au sein de la population des cellules de

direction ont conduit à proposer une organisation anatomo-fonctionnelle de ces cellules qui reposerait sur un réseau d'attracteurs continus (Skaggs *et al.*, 1995 ; Touretsky, 2005).

Au contraire, entre différents environnements, les cellules de lieu modifient leur activité de manière imprévisible, peuvent devenir silencieuses et ne gardent pas de cohérence spatiale entre elles. Des différences fonctionnelles majeures séparent donc ces deux types de cellules.

Interactions hippocampe - réseau directionnel :

À la suite de lésions de structures possédant des cellules de direction (le postsubiculum, le noyau antéro-dorsal du thalamus, ou les corps mamillaires), les cellules de lieu hippocampiques présentent encore des champs d'activité dans un environnement familier, même si ces dernières semblent moins bien contrôlées par les repères visuels et que leur cohérence spatiale apparaît réduite (Calton *et al.*, 2003 ; Sharp et Koester, 2008).

En retour, les lésions hippocampiques étendues perturbent la capacité des cellules de direction du thalamus antéro-dorsal à maintenir une direction stable lors de l'utilisation, seule, des informations idiothétiques (Golob et Taube, 1999). Cependant, en présence de repères visuels, les lésions hippocampiques étendues ne perturbent pas l'activité des cellules de direction, bien que ce contrôle ne soit plus aussi stable d'un jour à l'autre.

Les activités des cellules de lieu, de grille et de direction s'avèrent essentielle à l'orientation et la navigation des animaux, dans la mesure où elles permettent de maintenir une représentation stable de l'environnement, tout en s'adaptant aux changements entre différents lieux. Ces signaux constitueraient ainsi le support de la carte cognitive.

3. Influence de la tâche comportementale et de l'environnement sur l'activité des cellules spatiales

Après avoir décrit les propriétés générales des cellules spatiales, nous verrons qu'elles peuvent développer certaines spécificités selon le contexte comportemental et environnemental.

Au sein même d'un environnement, un animal peut adopter des comportements variés. À cette fin, il peut ou non diviser son espace en différents lieux dans lesquels il adoptera certains comportements. En effet, dans une simple cage, l'animal peut compartimenter l'environnement en créant des lieux dédiés à un comportement, comme un espace pour le nid, un autre pour la nourriture, pour le jeu etc. Si les cellules spatiales supportent bien une représentation de l'environnement, il semble alors probable que leur activité puisse être modulée au sein d'un même environnement, pour que l'animal puisse bien dissocier les lieux et les comportements à réaliser, sans ambiguïté ni confusion.

Des études montrent que dans un même environnement, selon l'état attentionnel, la tâche comportementale ou les changements de l'environnement, l'activité des cellules de lieu peut se trouver modifiée. Par exemple, à la suite d'un conditionnement à la peur, les cellules de lieu présentent un recodage spatial, même si l'environnement reste inchangé (Moita *et al.,* 2004). Ce recodage spatial permettrait de générer plusieurs représentations d'un seul environnement, ce qui aiderait l'animal à discriminer différents comportements dans un même contexte. De même, les changements d'état attentionnel, motivationnel ou émotionnel des animaux peuvent moduler les activités neuronales et la fiabilité de la décharge des cellules de lieu. Par exemple, dans les situations où l'état attentionnel des animaux reste constant (lorsque, par exemple, les animaux sont engagés dans une tâche comportementale), la fiabilité de la décharge est plus élevée (c'est-à-dire que leur activité spatiale est moins variable) et l'activité des cellules est plus stable que lors d'une simple exploration sans tâche comportementale particulière ou lors d'une tâche non spatiale (Fenton *et al.*, 2010 ; Muzzio *et al.*, 2009 ; Kentros *et al.*, 2004). Ce phénomène implique donc que l'activité des cellules de lieu représente plus que des informations spatiales puisqu'elles dissocient aussi l'état attentionnel des animaux. De plus, le simple fait de passer d'un comportement d'exploration à un

comportement dirigé vers un but peut entraîner un recodage spatial des cellules de lieu (Markus *et al.*, 1995 ; Hok *et al.*, 2007).

Comportements de navigation dirigés vers un but

Dans l'environnement d'un animal, il existe des zones particulièrement importantes dans lesquelles il trouvera de la nourriture, de l'eau, un abri, un congénère, un nid… et qui constituent des buts. Il paraît donc pertinent de former une représentation mentale de ces zones saillantes de l'environnement afin de naviguer rapidement, efficacement, avec flexibilité et en toute sécurité. Si une carte cognitive guide la navigation existe, cette dernière doit à la fois coder l'emplacement de l'animal, du but à atteindre ainsi que les relations spatiales entre les deux dans un cadre de référence commun (O'Keefe et Nadel, 1978 ; Poucet, 1993). Un tel cadre permettrait donc à l'animal d'estimer la distance et la direction du but.

Dès que l'animal a pris connaissance de son environnement, qu'il sait s'y orienter et connaît la position de ses buts, il peut naviguer vers ces derniers. Pour atteindre un but, la navigation de l'animal peut se décomposer en trois phases principales, telles que proposées par Nyberg *et al.* (2022). D'abord, il doit planifier le trajet menant au but, ensuite il approche du but en empruntant ce trajet et enfin il parvient au but. Différentes activités des cellules spatiales peuvent être associées à ces étapes, c'est pourquoi je les présenterai séparément.

Planification du trajet vers le but

Certaines tâches, dans lesquelles la trajectoire menant au but est connue, induisent la planification du trajet vers le but. Il a été montré qu'une séquence de cellules de lieu peut se réactiver dans des périodes temporellement comprimées (durant les « *ripples* »), représentant une trajectoire préalablement empruntée (« *replay* ») pendant que l'animal marque des pauses ou pendant son sommeil (Foster et Wilson, 2006 ; Louie et Wilson, 2001). Dans une étude où des animaux doivent alterner entre deux trajectoires dans un labyrinthe en forme de W, les *replays* observés au point de décision central représentent à la fois la trajectoire correcte (que l'animal doit emprunter pour obtenir une récompense) et la trajectoire incorrecte (Shin

et al., 2019). Une interprétation possible des *replays* des deux trajectoires possibles serait qu'ils reflètent la délibération de l'animal (Papale *et al.*, 2016). Cette hypothèse est confortée par le fait que la perturbation optogénétique des « *ripples* » (et donc probablement des *replays*), au point de décision central, entraîne des déficits, empêchant les animaux de trouver le bon emplacement du but (Jadhav *et al.*, 2012). Une autre étude (Xu *et al.,* 2019) montre également que les *replays* peuvent être impliqués dans la planification du trajet : lorsque les rats se trouvent au centre d'un labyrinthe radial à huit bras, les *replays* représentent les trajectoires futures. Cependant, si l'accès aux bras non récompensés est bloqué, diminuant ainsi le besoin de planification des trajets, la fréquence des *replays* diminue considérablement. En outre, lorsqu'ils se trompent en entrant dans un bras non récompensé, les *replays* ne présentent pas la trajectoire future, indiquant une absence de planification à ce moment-là. Les *replays* semblent bien liés à la capacité de planification des trajets et donc à la performance des animaux (pour des résultats similaires dans une arène ouverte voir aussi Pfeiffer et Foster, 2013).

En parallèle, dans le cortex entorhinal médian, il a été observé que, pendant un *replay* des cellules de lieu, l'activité des cellules de grille est spatialement cohérente avec celle des cellules de lieu (encodant les mêmes positions, avec un retard de 11 ms par rapport à l'hippocampe ; Òlafsdòttir *et al.*, 2016). De plus, inhiber les entrées de la couche III du cortex entorhinal médian projetant vers CA1, pendant les pauses de l'animal, réduit le nombre de *ripples* dans CA1 et limite l'étendue spatiale des *replays* à une distance plus courte. Cette observation suggère que les entrées du cortex entorhinal médian seraient nécessaires à une simulation correcte des trajectoires futures dans CA1 (Yamamoto et Tonegawa, 2017). En revanche, des travaux affichent des résultats contraires : les cellules de grille du cortex entorhinal médian peuvent rejouer des trajectoires indépendamment des cellules de lieu de CA1 et sans dépendre des *ripples* hippocampiques (O'Neill *et al.*, 2017). Il reste à déterminer si le cortex entorhinal médian joue un rôle distinct dans la planification par rapport à l'hippocampe, ou si des états de cohérence et de dissociation entre les deux structures peuvent alterner.

Ces études suggèrent que le phénomène de *replay* pourrait aider à la consolidation et la planification du trajet dans certaines circonstances, notamment lorsque l'animal doit conserver en mémoire la position du but et choisir la bonne trajectoire, afin de l'atteindre.

Trajet vers le but

Il existe un fort consensus sur le fait que pendant les « *vicarious trials and errors* (*VTEs*) »[3], lorsque les rats font une pause et délibèrent sur les options de trajectoires possibles (Muenzinger et Gentry, 1938 ; Redish, 2016), le contenu des séquences thêta alterne entre les différentes trajectoires qu'il peut emprunter (Amemiya et Redish, 2016 ; Johnson et Redish, 2007 ; Tang *et al.*, 2021). Il est toutefois possible d'observer les séquences thêta alterner entre les trajectoires possibles en absence de *VTEs* et donc, lorsque l'animal manifesterait moins d'hésitation (Kay *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2020).

Aussi, lorsque les rongeurs parcourent un labyrinthe, une grande partie des cellules de l'hippocampe sont modulées par la trajectoire en cours (**Figure 23** ; Frank *et al.*, 2000 ; Ferbinteanu et Shapiro, 2003 ; Wood *et al.*, 2000 ; Ainge *et al.*, 2007 ; Lee *et al.*, 2006). C'est-à-dire que, dans un couloir commun donnant accès à plusieurs trajectoires (par exemple tourner à droite ou à gauche au bout du couloir), l'activité des cellules de lieu présente un recodage spatial dans ce couloir en fonction de la trajectoire que l'animal s'apprête à emprunter. De telles activités sont aussi enregistrées dans le cortex entorhinal médian (Frank *et al.*, 2000 ; Lipton *et al.*, 2007). Ces cellules n'encodent pas de simples décisions aux points d'intersection (de type gauche/droite) mais plutôt un trajet entier spécifique (toute une séquence de choix de direction), que ces trajectoires conduisent à un même but (Grieves *et al.*, 2016) ou à des buts différents (Ainge *et al.*, 2007 ; **Figure 23.B-C**). Smith et Mizumori (2006) montrent que changer la position du but, dans une tâche spatiale, induit un recodage spatial de l'activité des cellules de lieu, ce qui indiquerait que les cellules de lieu codent un contexte spécifique et non simplement un environnement et ses caractéristiques purement spatiales. Comme pour les séquences thêta, ces activités neuronales permettent de distinguer des trajectoires au sein d'un seul et même environnement. Cette activité semble donc idéale pour discriminer différents contextes, et en conséquence, différents buts. Ce n'est donc pas le but lui-même qui est encodé mais le contexte permettant de l'atteindre. En outre, l'activité des cellules hippocampiques est parfois dégradée lors d'une erreur dans la trajectoire ou lorsque

[3] Comportement d'hésitation d'un animal au carrefour d'un labyrinthe, l'animal arrêté tourne successivement la tête vers les directions possibles du trajet avant de choisir celle où il s'engage.

les performances des animaux sont moins bonnes (Ferbinteanu et Shapiro, 2003 ; Ferbinteanu *et al.*, 2011).

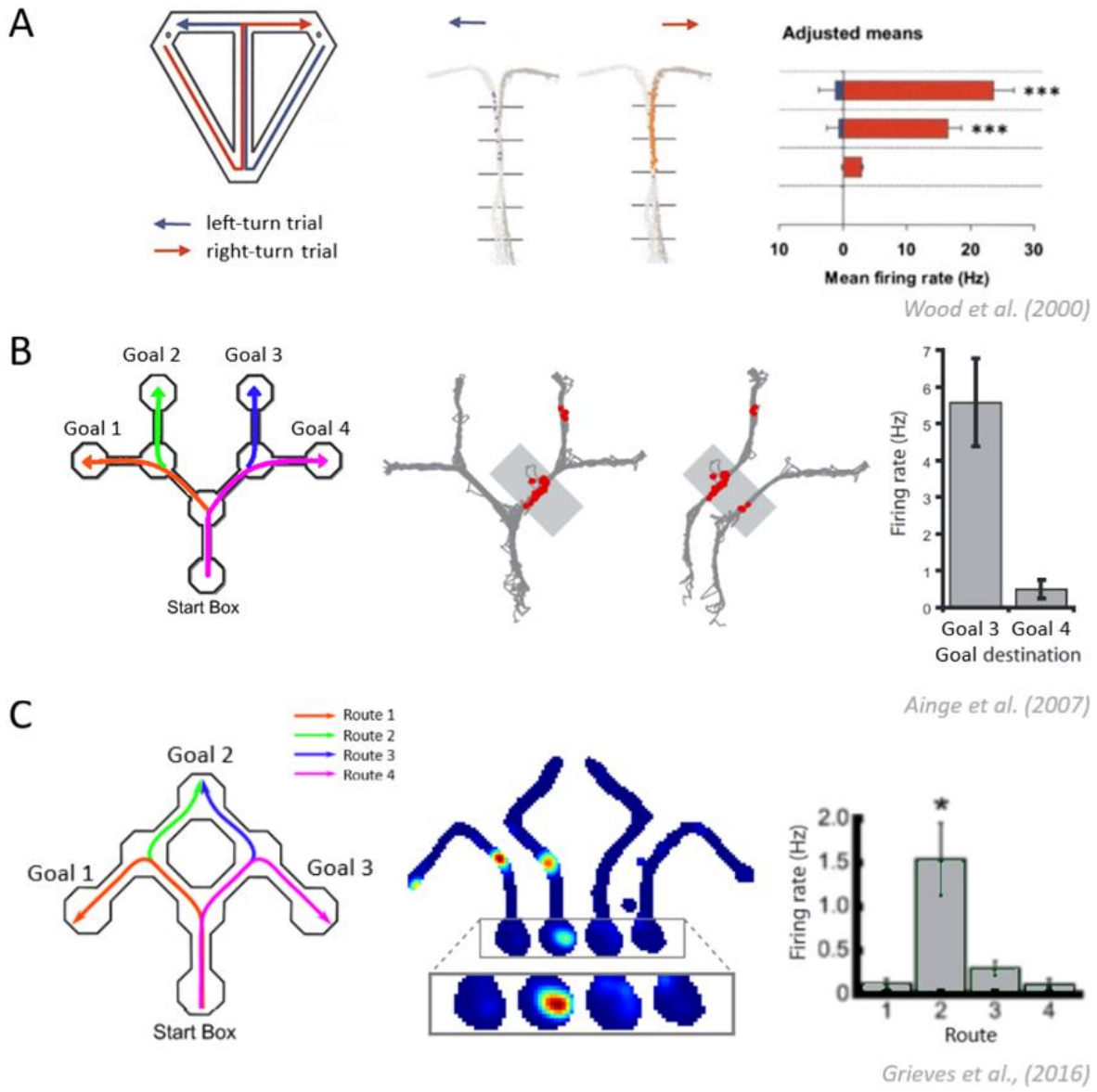


Figure 23. Recodage des cellules de lieu en fonction de la trajectoire menant au but
A. Gauche : schéma d'un labyrinthe en T continu, dans lequel les rats doivent effectuer une tâche d'alternance de trajectoire gauche/droite (« *left/right-turn trial* »). Des récompenses sont distribuées à l'extrémité de chaque bras lors d'essais corrects (représentées par des petits cercles). Milieu : exemple d'une cellule hippocampique qui s'active à la fin du bras central, seulement lorsque l'animal s'apprête à tourner à droite. Droite : histogrammes de la fréquence moyenne d'activité de la cellule (± écart type), pour le bras central divisé en quatre parties. *Figure issue de Wood et al. (2000).*
B. Gauche : schéma d'un labyrinthe comportant quatre trajectoires (« *Route 1 à 4* ») menant chacune à un but (« *Goal 1 à 4* »). Milieu : exemple de l'activité d'une cellule de lieu qui présente une activité différente à une même position, selon que l'animal se dirige vers le but

3 ou vers le but 4. Droite : histogrammes de la fréquence moyenne d'activité de la cellule (± écart type), au niveau de la portion grisée du labyrinthe. *Figure issue de Ainge et al. (2007).*
C. Gauche : schéma d'un labyrinthe comportant quatre trajectoires (« *Route 1 à 4* ») conduisant à trois buts (« *Goal 1 à 3* »). Deux trajectoires mènent donc au même but (« *Goal 2* »). Milieu : exemple de la carte d'activité d'une cellule de lieu, pour chacune des quatre trajectoires. La cellule de lieu présente une activité différentielle dans la boîte de départ du labyrinthe en fonction de la trajectoire empruntée par l'animal (active seulement lorsque l'animal emprunte la trajectoire 2, verte). Droite : histogrammes de la fréquence moyenne pour les quatre trajectoires (± l'écart type). *Figure issue de Grieves et al., (2016)*

Pendant l'approche du but, il est crucial de bien estimer d'une part la distance qui sépare l'animal de son but pour éviter de le dépasser ou de le chercher trop tôt, et d'autre part de déterminer précisément la direction qui mène au but, car toute déviation de la trajectoire peut tout autant empêcher de l'atteindre. Bien que quelques études aient examiné l'activité des cellules de direction de la tête, dans des tâches orientées vers un but, aucune modulation en fonction de l'emplacement du but n'a encore été rapportée (Muir et Taube, 2004 ; Sanguinetti-Scheck et Brecht, 2020). Des études plus anciennes révèlent l'existence de « cellules d'approche du but » dans l'hippocampe. Ces cellules s'activent lorsque les rats se tournent ou se déplacent vers des buts visibles (Eichenbaum *et al.*, 1987 ; Gothard *et al.*, 1996). Une découverte similaire a été faite plus récemment par Aoki *et al.* (2019), qui constatent une augmentation de la fréquence de décharge des cellules de lieu au sein de leur champ d'activité, lorsque les rats se déplacent vers un but indicé, dans une arène ouverte. Cette activité est maintenue lorsque les repères associés aux buts sont retirés et que la récompense est dispensée au hasard dans le labyrinthe. Mais il est possible que cette activité reflète la séquence motrice apprise et non la direction du but en soi. À ce jour, l'un des exemples les plus probants d'un codage vectoriel du but provient d'une étude réalisée chez la chauve-souris (Sarel *et al.*, 2017 ; **Figure 24**). Les auteurs enregistrent des cellules de l'hippocampe sensibles à la distance (euclidienne ou de la trajectoire) de l'animal par rapport au but (16%), des cellules de direction sensibles à la direction de l'animal par rapport au but (19%) ainsi que des cellules conjointes.

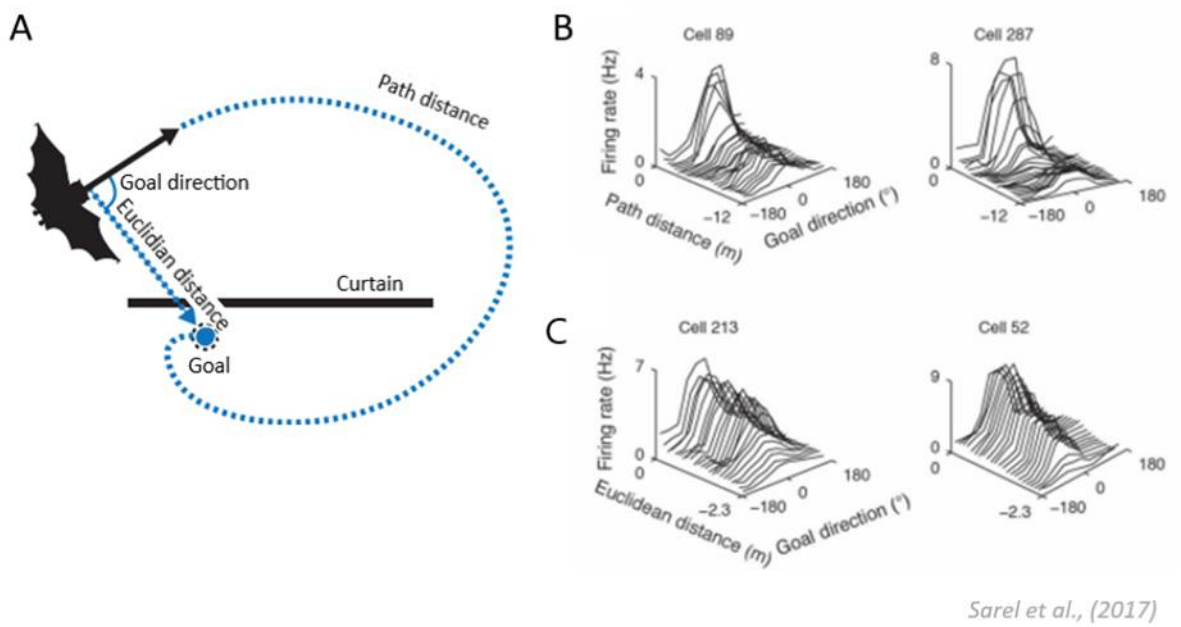


Figure 24. Réponse de cellules hippocampiques en fonction de la distance et de la direction par rapport au but, chez la chauve-souris
A. Schéma du dispositif expérimental avec la chauve-souris et l'un des emplacements potentiels du but. La distance séparant l'animal du but est représentée par la trajectoire que l'animal doit réaliser pour atteindre le but (« *Path distance* ») ou par la distance euclidienne le séparant du but (« *Euclidian distance* »).
B. Deux exemples de cellules codant conjointement la direction du but et la distance de la trajectoire jusqu'au but.
C. Deux exemples de cellules codant conjointement la direction du but et la distance euclidienne jusqu'au but. *Figures issue de de Sarel et al., (2017)*

Arrivée au but

Plusieurs études rapportent qu'à l'approche d'un but, une proportion croissante de cellules de lieu deviennent actives. Il en résulte une surreprésentation des buts par les cellules hippocampiques. En effet, les champs d'activité des cellules de lieu se rapprochent petit à petit du but et le suivent s'il est déplacé (Breese *et al.*, 1989 ; Hollup *et al.*, 2001 ; Kobayashi *et al.*, 2003 ; Dupret *et al.*, 2010 ; Lee *et al.*, 2006 ; Zaremba *et al.*, 2017 ; Xiao *et al.*, 2020). De plus, le degré de surreprésentation des buts permet de prédire la performance des animaux. Il semble que cette activité accrue aux buts apparaît lorsque les animaux doivent mémoriser les trajectoires ou l'emplacement du but**.** Récemment, une réorganisation similaire des champs a également été relevée dans les cellules spatiales du cortex entorhinal médian (cellules de grille et non grille). Boccara *et al.* (2019) entraînent des rats à réaliser la même tâche que celle de

l'étude de Dupret *et al.* (2010) : les rats apprennent l'emplacement de trois récompenses alimentaires cachées dans un labyrinthe appelé « *cheese board* ». Similairement aux cellules de lieu, les champs d'activité des cellules de grille surreprésentent les buts, et cette surreprésentation est corrélée positivement avec la performance des animaux. Bien que les champs d'activité des cellules de lieu se déplacent plus rapidement vers le but que ceux des cellules de grille, le lendemain, seuls les champs des cellules de grille surreprésentent encore le but. La réorganisation orientée vers le but semble donc se produire plus rapidement, mais de manière plus transitoire dans l'hippocampe que dans le cortex entorhinal médian. Ces résultats suggèrent que le quadrillage des cellules de grille du cortex entorhinal n'est pas aussi rigide qu'envisagé initialement et que les grilles peuvent être déformées localement par la présence de but.

Outre les buts, il a également été constaté que d'autres éléments peuvent être surreprésentés par les cellules de lieu, tels que les repères (Bourboulou *et al.*, 2019 ; Sato *et al.*, 2020), les entrées de pièces (Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al*, 2015 ; mais voir aussi Duvelle *et al.*, 2021), les intersections (Grieves *et al.*, 2016) et les lieux de départ (Ainge *et al.*, 2007a ; Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2018). La surreprésentation peut donc jouer un rôle plus large dans la signalisation d'éléments saillants de l'environnement et pas spécifiquement des buts.

En revanche, lorsqu'un but est indicé, cette réorganisation des champs n'est pas observée (Dupret *et al.*, 2010). Dans ce cas, il est probable que l'utilisation et la mise à jour de la carte cognitive ne soient pas indispensables : une simple stratégie de guidage suffit à l'obtention de la récompense. Cette activité semble par conséquent, très dépendante de la tâche comportementale. Et ce, d'autant plus que les champs d'activité des cellules de lieu ne surreprésentent pas non plus les buts dans les tâches où les animaux font face à de multiples points de décision (des intersections) au cours de leur trajectoire. Au contraire, dans ce type de tâche, la proportion de cellules de lieu actives diminue (Ainge *et al.*, 2007 ; Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2018). De même, aucune surreprésentation des buts n'est observée lorsque les rats réalisent une tâche au cours de laquelle ils planifient et exécutent de nouvelles trajectoires de manière flexible afin d'atteindre un but (Duvelle *et al.* 2019 ; Hok *et al.* 2007, 2013 ; Hayashi *et al.*, 2016 ; **Figure 25.D**).

Dans ces dernières études, les animaux réalisent une tâche les amenant à alterner exploration de l'environnement et navigation dirigée vers un but non-indicé. Afin d'obtenir une

récompense alimentaire, les rats doivent atteindre le but grâce à une stratégie de navigation allocentrée (un repère placé sur la paroi de l'arène circulaire) et y rester pendant deux secondes. À l'issue des deux secondes, une récompense alimentaire tombe à une position aléatoire dans l'arène (**Figure 25.A**). Cette tâche permet d'échantillonner l'activité des cellules dans l'ensemble de l'environnement car les animaux se déplacent en tout lieu de l'arène, lors de l'exploration à la recherche d'une récompense. Cette tâche présente aussi deux avantages : 1- obliger les animaux à emprunter de nouvelles trajectoires vers le but à chaque essai (et pas des trajectoires répétées), 2- la nourriture n'est pas délivrée au but, ce qui permet de caractériser l'effet d'un but purement spatial, sans biais lié à l'obtention de la récompense.

Dans cette tâche, les cellules de lieu présentent un champ d'activité classique, quelque part dans l'arène, mais également un champ secondaire toujours situé au niveau du but (Duvelle *et al.*, 2019 ; Hayashi *et al.*, 2016 ; Hok *et al.*, 2007, 2013 ; **Figure 25.B-C**). Bien que la fréquence d'activité du champ, au niveau du but, soit plus faible que la fréquence d'activité du champ principal, le signal émis devient significatif au niveau de la population et même des cellules pyramidales silencieuses. Ces dernières, sans champ d'activité défini dans l'arène, émettent des potentiels d'action à l'emplacement du but (Duvelle *et al.*, 2019 ; Hok *et al.*, 2007 ; **Figure 25.B**). Les cellules de l'hippocampe fourniraient donc un signal de population au niveau du but. Ce signal pourrait refléter la confirmation de l'arrivé au but à l'animal, il apparaîtrait lorsque ses perceptions sensorielles au niveau du but correspondent à la représentation interne qu'il en a. En outre, dans cette même tâche, il a été constaté que des animaux mutants, sans champ secondaire au but, réalisent la tâche mais présentent de moins bonnes performances (ils identifient moins bien la position du but, ce qui se traduit par moins d'essais réussis ; Hayashi *et al.*, 2016). Il semble aussi que l'hippocampe ventral soit nécessaire pour que les performances des animaux soient bonnes dans cette tâche de navigation orientée vers un but (Burton *et al.*, 2009). Toutefois, ce signal au niveau du but pourrait également représenter l'anticipation ou l'attente d'une récompense à venir, un signal d'inhibition, de ralentissement, d'arrêt ou une simple estimation temporelle du temps passé au but. À ce jour, la nature de ce signal au but n'a pas été clairement identifiée et nous essaierons de répondre à cette interrogation dans les résultats de la partie expérimentale de cette thèse.

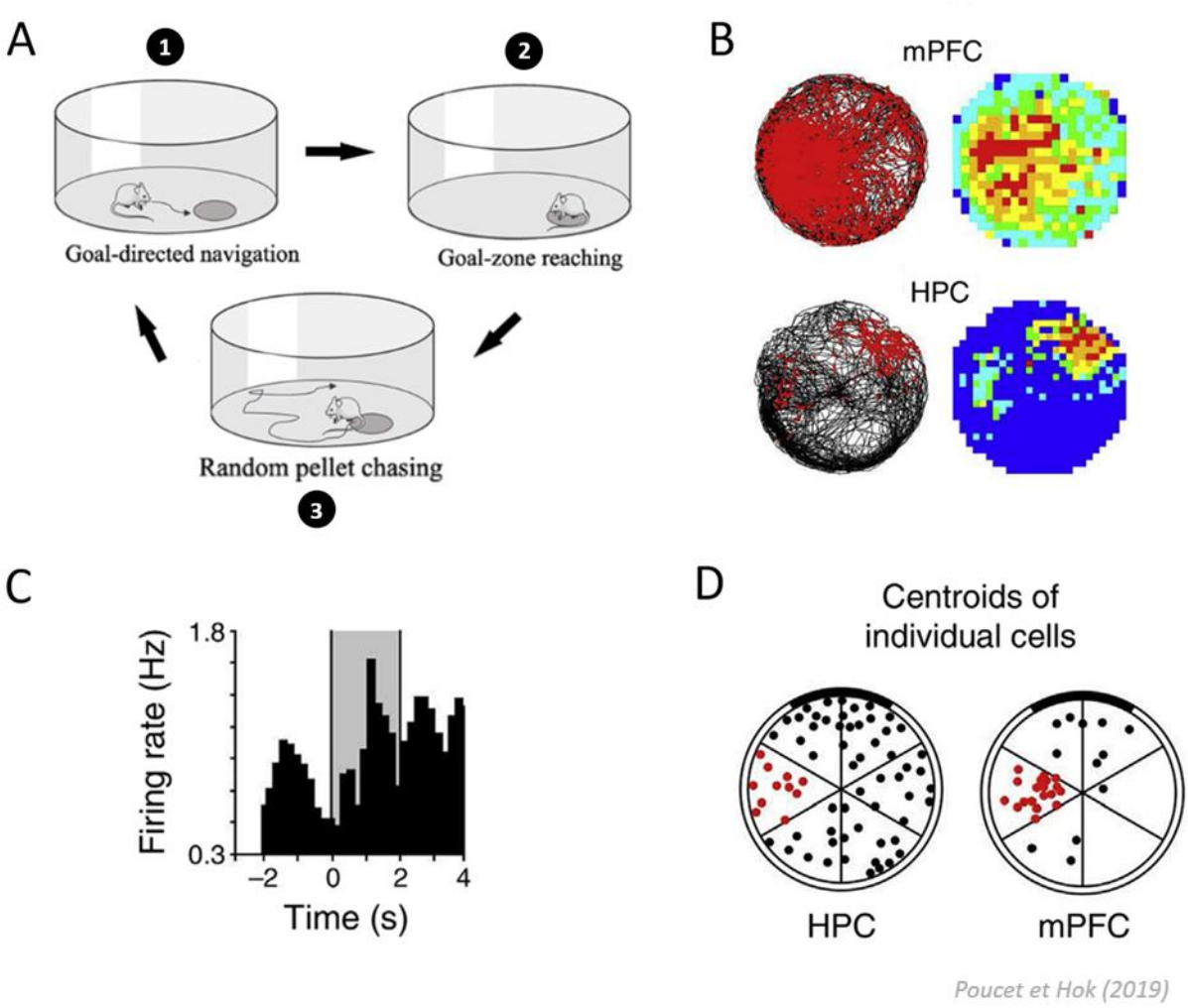


Figure 25. Activité des cellules de lieu et des cellules du cortex préfrontal médian pour l'encodage des buts.

A. Schéma de la tâche de navigation continue. Le rat doit entrer dans une zone non indicée (1), représenté par un cercle gris foncé, et y rester pendant deux secondes pour obtenir un granulé de nourriture (2). Pour trouver et manger la récompense, le rat doit explorer l'arène (3) avant d'emprunter une nouvelle trajectoire de navigation vers le but.

B. Gauche : trajectoires d'un animal (trait noir), les points rouges indiquent la position du rat lorsque la cellule du cortex préfrontal médian (« mPFC ») ou une cellule de lieu hippocampique (« HPC ») est active.

Droite : les cartes de fréquence correspondantes. La cellule du cortex préfrontal médian présente un large champ d'activité qui recouvre grossièrement la zone de but. En revanche, le champ d'activité principal de la cellule de lieu est éloigné du but, et quelques potentiels d'action supplémentaires sont émis à l'emplacement du but.

C. Histogramme cumulé, par intervalles de 200 ms, pour toutes les cellules de lieu enregistrées. La période d'attente au but de 2 secondes (0 à 2 s) est grisée et encadrée par des lignes verticales. Un pic d'activité moyen apparaît au bout d'une seconde d'attente au but.

D. Distribution des centroïdes des champs d'activité pour les populations de cellules de l'hippocampe (« HPC », gauche) et du cortex préfrontal médian (« mPFC », droite). Alors que les champs de l'hippocampe sont distribués de manière homogène, les champs du cortex

préfrontal médian sont regroupés dans la zone du but (points rouges). *Figures issues de Poucet et Hok (2019).*

Il a été suggéré que d'autres structures jouent un rôle dans le codage du but. Il a notamment été constaté que, dans la même tâche que celle employée par Hok *et al.* (2007), environ un quart des neurones du cortex préfrontal médian forme des vastes champs centrés sur le but (Hok *et al.*, 2005 ; **Figure 25.B et D**). Ces cellules semblent donc fournir un signal robuste de l'emplacement des buts. Bien que l'inactivation du cortex préfrontal médian ne perturbe pas l'activité au but des cellules de lieu (Hok *et al.*, 2013), le flux d'informations peut être transféré dans le sens inverse. Les connexions réciproques entre le cortex préfrontal médian et l'hippocampe (Ciocchi *et al.*, 2015 ; Hoover et Vertes, 2012), qui reçoit également des entrées de l'aire tegmentale ventrale, apportent des informations sur la récompense (Lisman *et al.*, 2005) et peuvent tout à fait permettre de représenter les lieux à forte valence motivationnelle (voir Churchwell *et al.*, 2010 ; Ito *et al.*, 2015).

Il a été supposé que la navigation vers un but puisse s'établir grâce à un vecteur reliant la position actuelle d'un sujet à l'emplacement du but (Erdem *et al.*, 2012). Ce vecteur peut impliquer les cellules de grille entorhinales (Kubie et Fenton, 2012 ; Bush *et al.*, 2015), mais un signal fort doit marquer le champ d'activité des cellules de grille correspondant à l'emplacement du but. Des connexions entre le cortex préfrontal médian et le cortex entorhinal pourraient transmettre des informations sur les buts. Il est également possible que les connexions réciproques entre l'hippocampe et le cortex entorhinal soient suffisantes pour « marquer » les champs d'activité des cellules de grille à l'emplacement du but, *via* l'activité des cellules de lieu au but. Bien que l'on ignore actuellement si ces connexions influencent l'activité des cellules de grille d'une manière ou d'une autre, il semblerait que les cellules de grille intègrent la présence d'un but spatial dans leur activité. Butler *et al.* (2019) enregistrent les neurones du cortex entorhinal médian dans une arène ouverte, les animaux explorent l'environnement et, dès l'émission d'un signal sonore spécifique, les animaux peuvent se déplacer vers un but non-indicé afin de recevoir une récompense (tâche proche de celle décrite plus haut dans l'étude de Hok *et al.*, 2005). Contrairement aux résultats de Boccara *et al.* (2019), les champs des cellules de grille ne s'accumulent pas à l'emplacement du but. Ce résultat est cohérent avec l'absence de surreprésentation des buts quand la tâche demande

une navigation flexible (contrairement à des trajectoires préétablies et répétées). En revanche, Butler *et al.* observent, pour les cellules de grille, que la fréquence d'activité des champs proches du but augmente significativement. Ils remarquent aussi que les cellules spatiales, qui n'ont pas d'activité en grille, développent des champs d'activité près du but. Ces modulations pourraient fournir un signal de confirmation de l'arrivée au but, similaire aux activités des cellules de lieu CA1 (Hok *et al.*, 2007 ; Duvelle *et al.*, 2019).

En définitive, la présence de buts semble moduler les activités des cellules spatiales de diverses manières en fonction de la demande comportementale de la tâche (exploration ou comportement dirigé vers un but), des contraintes de l'environnement (arène ouverte ou labyrinthe contraignant à une ou plusieurs trajectoires), des stratégies utilisées (guidage, route, réponse, carte cognitive), de la valence du but (renforcé ou non).

Relation géométrique entre les repères

Dans le chapitre 1 (« **Relation géométrique entre les repères** *»),* il a été mentionné que les animaux ne parviennent pas à s'orienter à partir d'objets disposés en triangle équilatéral alors qu'ils y parvenaient lorsqu'ils sont agencés est en triangle isocèle (Poucet et Benhamou, 1998). En complément de ces résultats comportementaux, Cressant *et al.* (1999) identifient qu'une configuration d'objets en triangle isocèle peut contrôler la position des champs d'activité des cellules de lieu mais ce n'est pas le cas lors d'une configuration en triangle équilatéral. Un agencement équilatéral des objets fait apparaître plusieurs axes de symétrie, pouvant rendre toute discrimination spatiale ambiguë, même si les objets sont différents. Il semblerait donc que l'asymétrie des relations spatiales entre les objets permette un ancrage de l'activité des cellules de lieu et que cet ancrage soit corrélé aux performances des animaux. De plus, il a été démontré que les cellules de lieu de l'hippocampe répondent à la localisation spatiale des objets (Lenck-Santini *et al*., 2005), suggérant que ces informations sont certainement utilisées par l'hippocampe.

A ma connaissance, peu d'autres études ont rapporté les effets des relations spatiales des objets sur les cellules spatiales. En revanche, comme il sera développé dans la partie suivante, la géométrie structurelle de l'environnement semble avoir beaucoup plus d'influence sur

l'activité de ces cellules, ce qui suggère que les relations géométriques entre les objets sont codées différemment de la géométrie structurelle. La distinction se réduit peut-être au fait que les objets n'occupent qu'un ou deux champs d'activité chez les cellules de lieu (ou de grille), mais qu'un mur en occupe plusieurs, permettant plus facilement à ces cellules de détecter ces informations.

Géométrie structurelle

Dans la partie « **Géométrie structurelle** » du premier chapitre, il a été montré que d'un point de vue comportemental, les animaux parviennent à extraire la géométrie de l'environnement pour se repérer et naviguer vers leur but. Il est donc probable que l'activité des cellules spatiales reflète les caractéristiques géométriques de l'environnement.

Par exemple, les champs d'activité des cellules de lieu longeant les murs ont tendance à épouser leur forme (Muller et Kubie, 1987 ; O'Keefe et Burgess, 1996 ; **Figure 26.A**) : un champ d'activité proche d'un mur circulaire aura plutôt une forme de croissant alors qu'un champ à proximité d'un mur droit sera longitudinal**,** ce qui suggère que la forme des champs d'activité est modulée par les caractéristiques géométriques des murs. Aussi, les champs d'activité situés au bord d'une arène sont plus impactés par les modifications, telles que l'allongement des murs que les champs situés au centre de l'arène : la forme des champs d'activité des cellules de lieu se trouvant à proximité du mur allongé suit la déformation du mur alors que les champs centraux ne sont pas affectés. De même, Barry *et al.* (2006) observent que retirer un mur dégrade plus fortement l'activité des champs proches du mur que celle des champs éloignés (voir aussi Alvernhe *et al.*, 2008 et 2011).

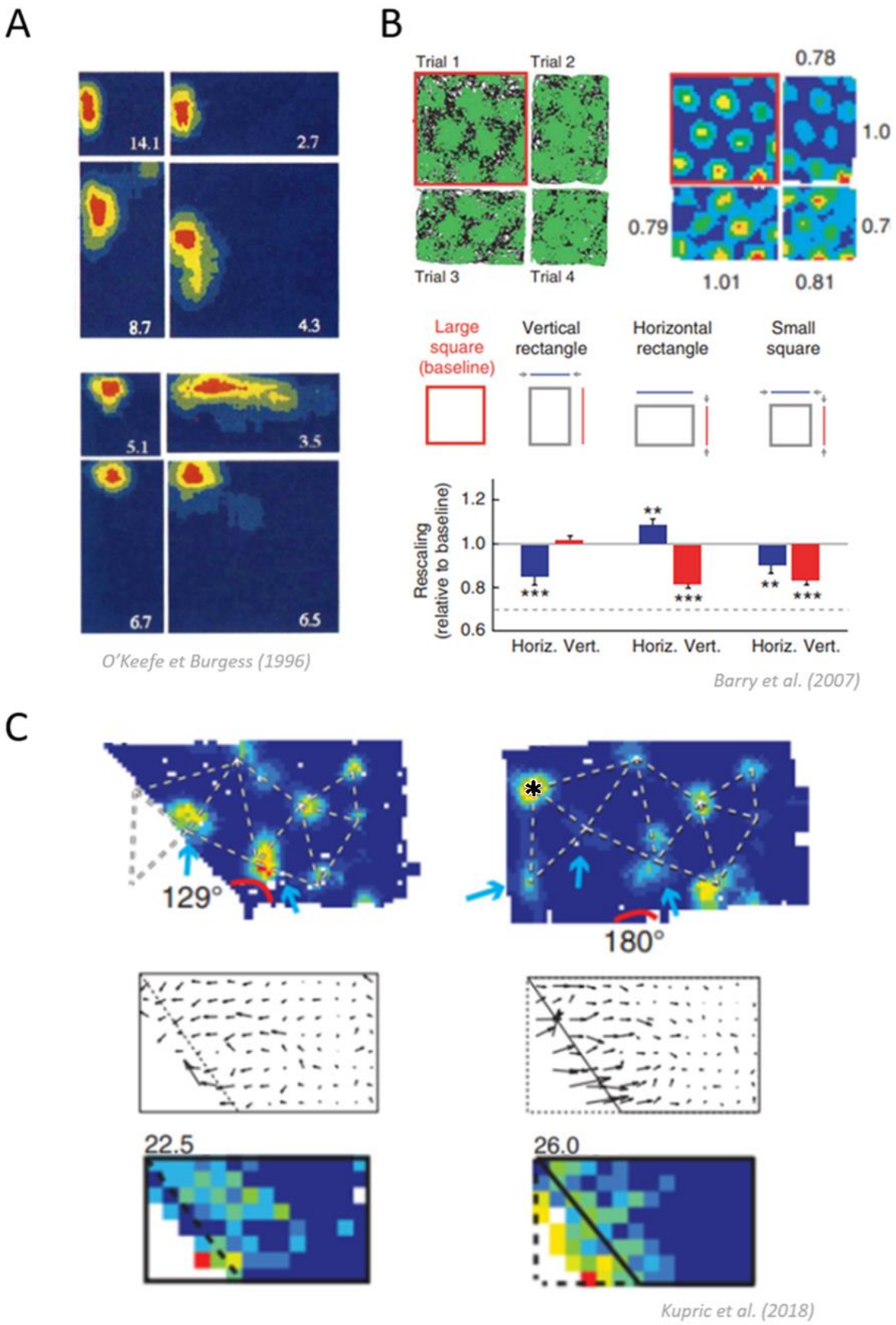


Figure 26. Activité des cellules de lieu et de grille modulée par la géométrie de l'environnement

A. Exemple de deux cellules de lieu dont le champ d'activité suit la déformation du mur le plus proche, lorsqu'il s'allonge. *Figure issue de O'Keefe et Burgess (1996).*
B. Haut - gauche : les potentiels d'action (points verts), superposés à la trajectoire de l'animal (en noir), révèlent la périodicité spatiale caractéristique des cellules de grille. La session 1 est enregistrée dans une grande arène carrée familière (entourée en rouge). Les sessions 2 et 3 (« *Trial 2 et Trial 3* ») sont réalisées dans une arène rectangulaire, rétrécie par rapport à l'arène familière, respectivement dans le sens vertical ou horizontal. La session 4 (« *Trial 4* ») est réalisée dans une petite arène carrée (rétrécie dans le sens vertical et horizontal).
Haut-droit : Les cartes de fréquence correspondantes. Les numéros à côté de chaque carte indiquent, pour chaque dimension, la distorsion de la grille par rapport à la session 1 (> 1 = expansion, < 1 = contraction). Bas : histogrammes du redimensionnement moyen de la grille dans chaque dimension (horizontale et verticale), la ligne pointillée indique le redimensionnement de l'environnement. *Figures issues de Barry, 2007*
C. Haut : suivi d'une cellule de grille entre une arène trapézoïdale et une arène rectangulaire. Seuls les champs adjacents au mur déplacé se repositionnent entre les deux environnements. Les flèches bleues indiquent les champs repositionnés entre les deux arènes, ***** indique un champ nouvellement apparu, et l'arc rouge, l'angle d'inclinaison du mur. La ligne en pointillé représente la structure en grille dans l'arène rectangulaire. Milieu : vecteurs moyens de toutes les cellules de grille enregistrées, indiquant les déplacements moyens des champs entre les deux arènes ; la queue du vecteur indique la position du champ dans la première arène. Les première et deuxième arènes sont représentées, respectivement, par des lignes pointillées et pleines. Bas : les cartes à code couleur montrent la moyenne des déplacements des champs, entre les passages de l'arène trapézoïdale à l'arène rectangulaire (gauche) et rectangulaire à trapézoïdale (droite). Les champs modifiés sont concentrés autour du mur déplacé. *Figures issues de Krupic et al. (2018).*

De même, pour les cellules de grille, la taille et la forme d'un environnement peuvent exercer un contrôle sur la structure même de la grille (Barry *et al.*, 2007 ; **Figure 26.B**). Le passage d'une arène familière, de forme carrée à une forme rectangulaire induit un redimensionnement de la grille (qui s'écrase de façon à suivre la déformation des murs). Aussi, Krupic *et al.* (2015) observent que, dans des environnements présentant une géométrie nouvelle, la structure régulière en grille se trouve modulée, voire rompue, dans des environnements fortement polarisés, tels que les trapèzes (la grille devient plus elliptique et moins homogène), dans lesquels la grille est particulièrement déformée dans la partie la plus étroite. Lorsque la symétrie d'une arène rectangulaire est rompue par le déplacement d'un mur oblique, les champs d'activité des cellules de grille situées à proximité de ce mur se décalent de leur position initiale, en suivant le mur (Krupic *et al.*, 2018 ; **Figure 26.C**). Ces découvertes contredisent l'hypothèse selon laquelle les cellules de grille fourniraient un système de coordonnées métriques universel et rigide, mais montrent que le système des

cellules de grille est également sensible aux repères géométriques externes et à l'expérience de l'animal. En effet, ces modifications de l'activité des cellules de grille sont observées lorsque le changement concerne un environnement familier. Une interprétation de ce résultat suggère que la grille des cellules est ancrée aux murs de l'arène *via* une interaction entre les cellules de grille et les cellules de bord, ces dernières signalant la distance et la direction d'un animal par rapport aux limites de l'environnement (Solstad *et al.,* 2008*).* Selon cette hypothèse, dans les arènes asymétriques telles que l'arène trapézoïdale, l'ancrage de la grille se fait sur plusieurs murs dont les orientations varient et peuvent déformer la régularité de la grille. Confirmant cette hypothèse, Hardcastle *et al.* (2015) constatent que les cellules de grille accumulent des erreurs (drift directionnel de la grille), à partir du moment où les animaux s'éloignent d'un mur, et cette erreur est corrigée dès qu'ils s'en rapprochent. Les repères, formant la géométrie de l'environnement, seraient donc essentiels à la stabilité des cellules de grille et les cellules de bord pourraient fournir le substrat neuronal nécessaire à la correction des erreurs.

Barry *et al.*, (2006) proposent un modèle similaire, dans lequel les cellules de lieu interagissent avec des cellules de bord (voir aussi Barry et Burgess, 2007). Les cellules de bord permettraient de déterminer la position des champs d'activité des cellules de lieu et de les stabiliser. Les cellules de bord auraient un poids synaptique plus important vis-à-vis des cellules dont le champ d'activité est proche des murs. Cette influence extra-hippocampique expliquerait pourquoi seuls les champs d'activité à proximité des murs suivent les modifications géométriques. En accord avec ces modèles, une expérience en réalité virtuelle (Yang *et al.*, 2024) a montré que les repères visuels provenant de murs entourant l'environnement s'avèrent à la fois suffisants et nécessaires pour stabiliser l'activité des cellules de lieu et des cellules de grille.

De plus, Muller et Kubie (1987) déterminent que le simple fait de doubler la taille d'une l'arène provoque le recodage spatial de la moitié des cellules de lieu. Dans ces environnements dont la surface est plus étendue, il apparaît que certaines cellules de lieu possèdent plusieurs champs d'activité (Fenton *et al.*, 2008 ; Henriksen *et al.*, 2010 ; Park *et al.*, 2011), ce résultat remet en cause l'unicité du champ d'activité des cellules de lieu. L'omnidirectionnalité spatiale des cellules de lieu peut disparaître dans un espace où les déplacements des animaux sont

restreints, tels que des couloirs dans lesquels une directionnalité peut apparaître (McNaughton *et al.*, 1983 ; Jung et McNaughton, 1993 ; Muller *et al.*, 1994).

D'un point de vue comportemental, il a été montré par Cheng *et al.* (1986) puis par Julian *et al.* (2015), que la géométrie structurelle de l'environnement est préférentiellement utilisée aux repères visuels, par les souris qui se dirigent vers un but (voir chapitre 1 « **Géométrie structurelle** »). Keinath *et al.* (2017) exposent que la carte hippocampique des souris s'aligne également sur la géométrie locale et non sur les repères visuels de l'arène. Cette forte correspondance entre la carte hippocampique et le comportement de l'animal permet même aux chercheurs de prédire le comportement de navigation de l'animal (où il va chercher la récompense) à partir des réponses neuronales.

Au contraire, les cellules de direction semblent peu sensibles aux informations de géométrie structurelle. Knight *et al.* (2011) enregistrent des cellules de direction dans des environnements de géométrie très polarisante et observent que ces cellules restent stables malgré la rotation des arènes (pourtant entourées de rideau, empêchant tout accès aux repères distaux). C'est seulement lorsqu'un repère se trouve sur l'une des parois de l'arène ou lorsque l'animal est désorienté, que les cellules de direction pivotent avec l'arène. L'intégration des trajets ainsi que les repères visuels permettent donc aux animaux de maintenir une activité directionnelle très stable. Toutefois, en cas de désorientation (rendant l'intégration des trajets impossible), le traitement de la géométrie constituerait un système de secours, ce qui suggère que la géométrie est intégrée sans être forcément utilisée. À l'inverse, Dudchenko et Zinyuk (2005), constatent que les cellules de direction suivent la géométrie de deux labyrinthes en T, situés dans deux pièces séparées. Il se pourrait que la désorientation des animaux entre les deux pièces suffise à ancrer l'activité des cellules de direction sur la géométrie du labyrinthe. De plus, les animaux partent toujours du même endroit, il se pourrait donc que cette position de départ serve de repère pour leur orientation.

Les cellules de direction maintiennent ainsi une activité directionnelle stable à travers l'ensemble de l'environnement. Grâce à leur ancrage sur un référentiel global, les animaux peuvent s'orienter avec précision, malgré les irrégularités et changements des repères géométriques de l'environnement.

Dans l'ensemble, ces résultats confirment que la géométrie structurelle d'une pièce peut moduler le système positionnel, *via* les cellules de lieu, de grille et parfois de direction. La géométrie structurelle d'un environnement constitue un repère particulièrement saillant car elle est très stable, très visible, elle peut être détectée *via* les informations tactiles et contraindre (plus ou moins) les mouvements des animaux. Toutes ces propriétés offrent à l'animal la possibilité de délimiter son environnement et d'utiliser ces limites pour s'orienter et ancrer sa carte cognitive. Les murs délimitant un environnement sont des repères proximaux qui peuvent définir le cadre de référence local, ils constituent donc des repères importants qui pour déterminer la position des champs d'activités de cellules de lieu et de grille et stabiliser leur l'activité.

Ainsi, chaque pièce peut être distinguée grâce aux repères proximaux, tels que les limites formées par les murs, mais aussi grâce aux portes, à l'orientation des pièces, le comportement etc. Dans un environnement composé de plusieurs pièces connectées, chaque pièce constitue donc un cadre de référence local. Au contraire, les repères distaux, qui peuvent être visibles depuis toutes les positions de l'environnement, constituent des repères stables pouvant orienter et lier les pièces les unes par rapport aux autres dans un cadre de référence unique, aussi appelé cadre de référence global. En absence de repère distal, les informations de mouvement peuvent permettre de relier toutes les pièces en une représentation commune. Les cadres de références local et global semblent nécessaires pour qu'un animal se déplace efficacement d'une pièce à une autre dans la mesure où ils lui permettent de former une représentation de chaque pièce[4] (cadre de référence local), et une représentation de tout l'environnement (cadre de référence global). Une question qui se pose alors consiste à déterminer si, et de quelle manière, les cadres de référence locaux sont liés entre eux. Les lieux permettant le passage d'une pièce à l'autre, tels que des portes, des escaliers ou des couloirs, formant la topologie des environnements, seraient un moyen de lier les cadres de référence locaux. Est-ce qu'il existe des corrélats neuronaux des informations topologiques dans des environnements composés d'espaces connectés ?

[4] Dans l'environnement naturel des rats il s'agirait plutôt de galeries, situées dans leur terrier (Calhoun, 1963) mais, dans le cadre d'études en laboratoire le terme de « pièce » est plus approprié aux environnements dans lesquels les animaux sont placés.

La topologie

Alvernhe *et al.* (2008) font apparaître des raccourcis dans un couloir en épingle à cheveux pour étudier l'effet de la topologie sur les cellules de lieu (**Figure 27.A**). 70% des cellules recodent spatialement lorsque leur champ d'activité se trouve à proximité du changement (au niveau du raccourci) tandis que celles dont le champ est éloigné présentent un recodage fréquentiel (80%) et ne concernent que les cellules de CA3. De même, Alvernhe *et al.* (2011) placent des rats dans un environnement similaire à celui utilisé par Tolman et Honzik (1930) : les animaux trouvent très rapidement les trajectoires les plus directes (voir chapitre 1 : « **La topologie** ») et les cellules de lieu modifient leur activité (majorité de recodage fréquentiel) principalement lorsque leurs champs sont proches des modifications topologiques (**Figure 27.B**). Paz-Villagràn *et al.* (2004) habituent des rats à explorer individuellement deux arènes de formes différentes, puis ils connectent les deux arènes par un couloir. La majorité des cellules reste stable en maintenant la même activité que celle observée avant la connexion des arènes (**Figure 27.C**). Certaines cellules dont les champs sont proches du couloir présentent toutefois une modification de leur activité (recodage spatial). Ces changements d'activité montrent que les cellules sont sensibles à la topologie mais pas à la modification globale de l'environnement (avec l'apparition d'une nouvelle arène dans l'environnement). Au contraire, la carte hippocampique semble être principalement activée et mise à jour en fonction de l'environnement local du rat et les modifications topologiques sont spécifiquement codées par les cellules de lieu lorsque leur champ se trouve à proximité de la modification. Les changements de la topologie peuvent donc induire une représentation légèrement différente, en accord avec les théories d'un codage hippocampique de la topologie (Tolman, 1948 ; Poucet, 1993).

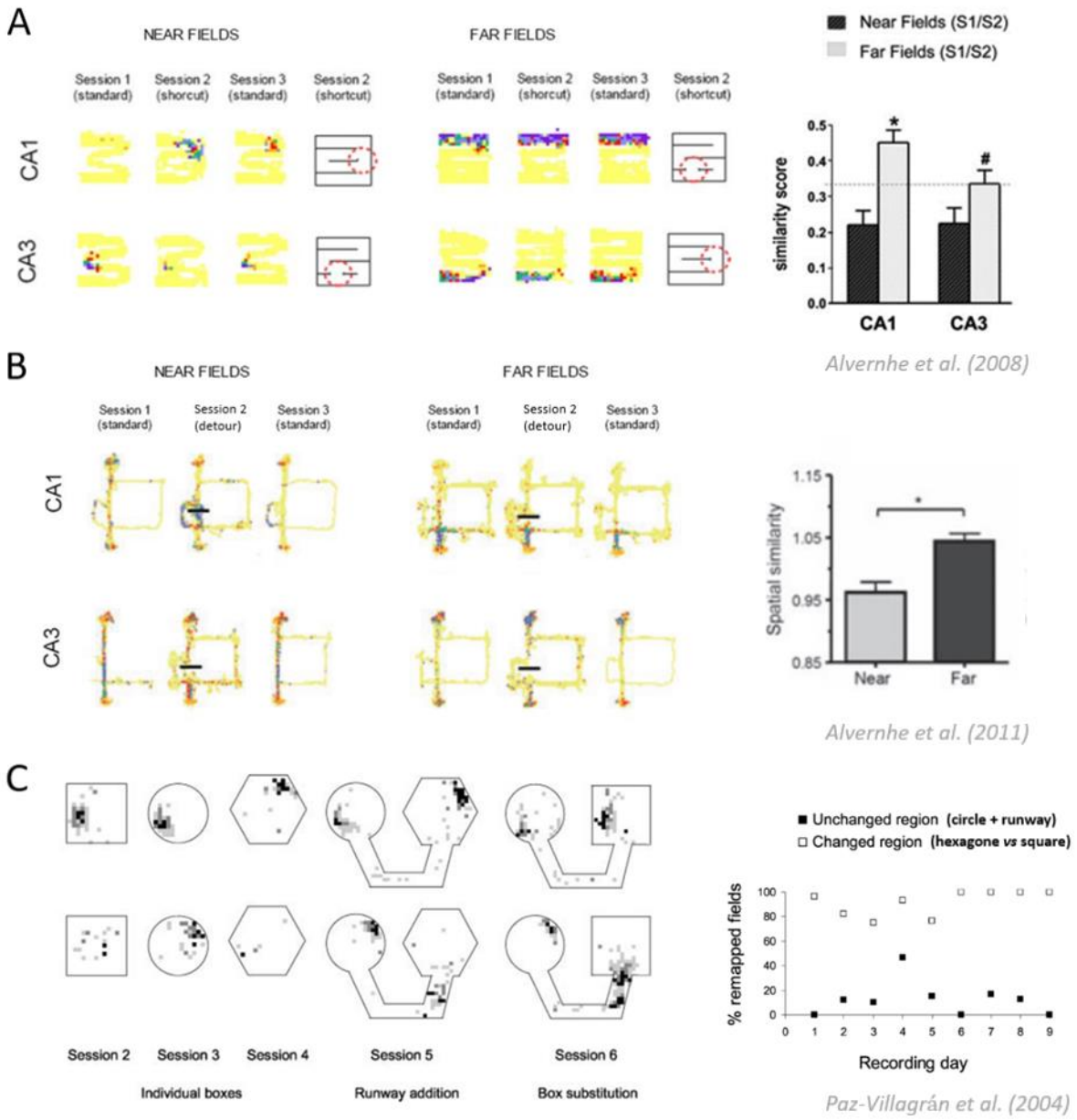


Figure 27. Les cellules de lieu répondent à des changements de topologie à proximité de leur champ

A. Gauche : cartes de fréquence de cellules de lieu (CA1 et CA3) au cours d'un protocole de trois sessions d'enregistrement dans un environnement où un raccourci apparaît (cercle rouge en pointillé) dans la deuxième session (« *Session 2 (shortcut)* »). Le jaune indique une absence d'activité et le violet la fréquence maximale. Les champs proches des raccourcis sont plus fortement affectés que les champs éloignés. Droite : scores de similarité moyens (± erreur standard) pour les champs proches et éloignés, des cellules CA1 et CA3. Les coefficients de corrélation entre les cartes de fréquence entre les sessions 1 et 2, sont utilisés comme indice de similarité. La ligne en pointillé fixée à 0,33 indique le seuil au-delà duquel les champs sont considérés altérés par le raccourci. *Figure issue de Alvernhe et al. (2008).*

B. Gauche : cartes de fréquence des cellules de lieu au cours des trois sessions d'un protocole, dans lequel une voie (sur 3) est condamnée (« *Session 2 (detour)* »). La ligne noire indique

l'emplacement de la barrière pendant la session de déviation. Droite : la similarité spatiale moyenne des champs proches et éloignés (± erreur standard) entre la session standard (« *Session 1* ») et la session de déviation (« *Session 2* »). Les champs proches sont plus affectés que les champs lointains. *Figure issue de Alvernhe et al. (2011).*
C. Gauche : les cartes de fréquence de deux cellules de lieu dans 3 arènes individuelles (« *Sessions 2 à 4* ») connectées *via* l'ajout d'un couloir entre deux arènes (« *Session 5 et 6* »). Le changement de topologie n'a qu'un effet minime sur la deuxième cellule, où un nouveau champ apparaît dans le couloir mais l'activité au sein des arènes reste inchangée. Après la substitution d'une arène (« *Session 6* »), la cellule de lieu recode spatialement uniquement dans l'arène modifiée. Droite : le recodage des cellules est observé presque exclusivement dans l'arène remplacée (corrélation entre les sessions 5 et 6). Ainsi, les cellules de lieu maintiennent une activité locale propre à chaque arène, qu'elles soient connectées par un couloir ou non. *Figure issue de Paz-Villagran et al. (2004).*

En revanche, Duvelle *et al.* (2021) n'observent aucune modification de l'activité des cellules de lieu à la suite de la fermeture de portes ou lorsque le passage de portes devient unidirectionnel (même pour les champs à proximité des portes). Cette différence de résultat peut s'expliquer par la présence de repères distaux très saillants, placés en dehors de l'arène expérimentale et sur tous les murs de la pièce. Les animaux peuvent alors utiliser ces repères distaux pour ancrer leur position dans un cadre de référence global, stable, quelle que soit leur position dans l'environnement. Cet ancrage sur les repères distaux peut réduire l'importance des portes pour maintenir un sens de l'orientation stable, et donc limiter les changements d'activité des cellules de lieu lors des modifications topologiques. Au contraire, en absence de repères distaux les portes deviendraient des repères très pertinents dans un environnement où toutes les pièces sont identiques, elles deviennent alors indispensables pour se repérer.

Dudchenko et Zinyuk (2005) montrent que des cellules de direction changent de direction préférentielle entre deux pièces isolées. Mais, lorsque les pièces sont connectées et que les animaux peuvent se déplacer activement d'une pièce à l'autre, la direction préférentielle devient stable et unique entre les pièces (**Figure 28**). Ainsi, l'apprentissage de la disposition des pièces et de la topologie amène les animaux à percevoir les pièces comme faisant partie d'un environnement commun et à les placer dans un cadre de référence global (plutôt que d'avoir une activité ancrée sur chaque pièce et donc sur des cadres de références locaux). C'est grâce aux déplacements actifs des animaux entre les pièces qu'une activité directionnelle uniforme se développe dans l'environnement. Les informations idiothétiques permettent donc

probablement aux cellules de direction de former une représentation globale d'un environnement connecté.

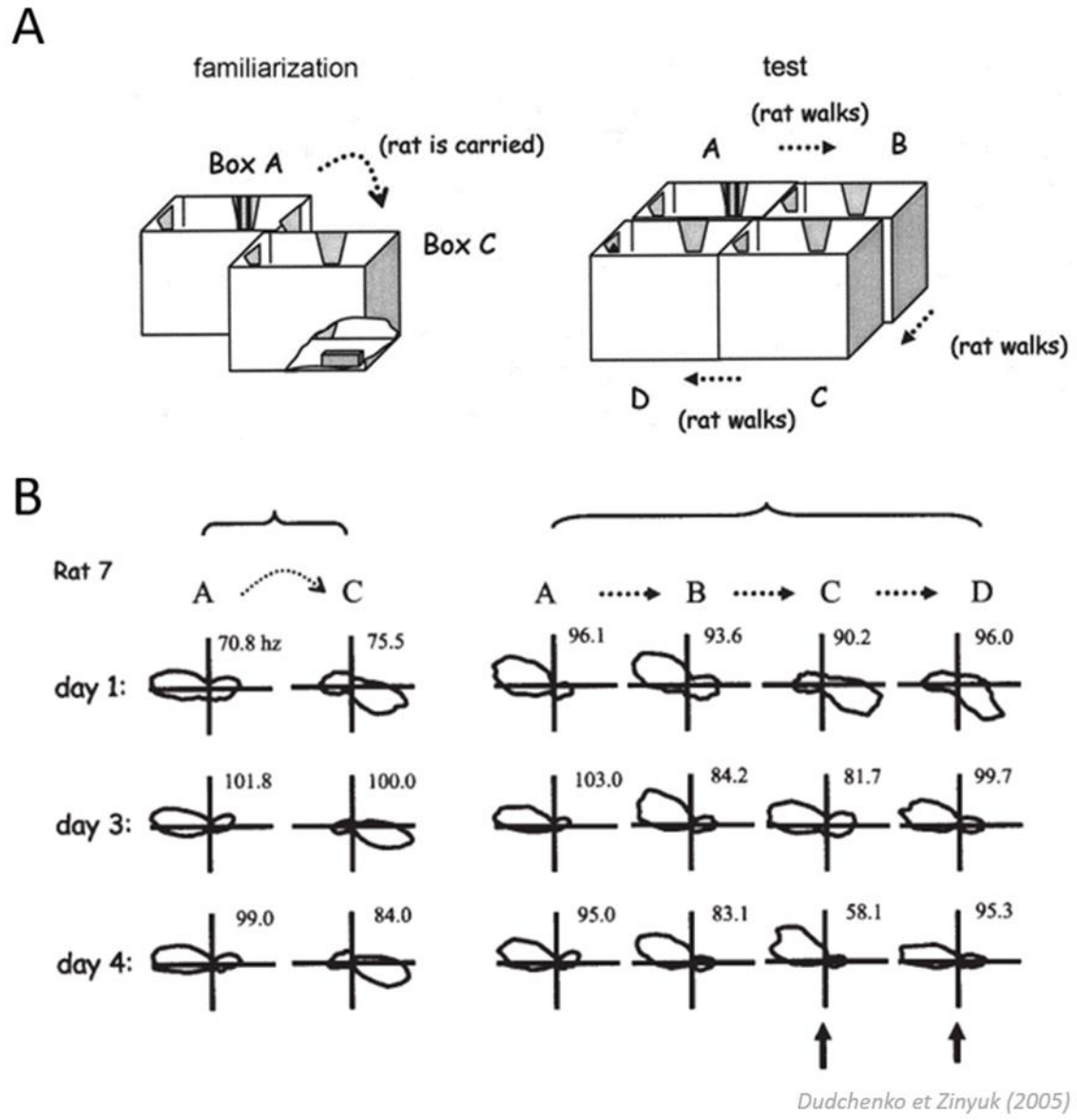


Figure 28. Les cellules de direction sont unidirectionnelles et stables entre les pièces d'un environnement connecté

A. Schéma de l'environnement composé de quatre pièces. Lors de la phase de familiarisation (à gauche), le rat est placé dans la pièce A pendant 15 minutes, puis transporté jusqu'à la pièce C pendant 15 minutes. Lors de la phase de test (à droite), le rat est replacé dans la boîte A pendant 8 minutes, puis les portes reliant les pièces entre elles sont ouvertes et il peut se déplacer dans la boîte adjacente (B puis C puis D).

B. Exemple de l'activité d'une cellule de direction. La cellule de direction change de direction entre les pièces A et C, lorsque le rat est transporté de l'une à l'autre (« *familiarization* »). Le premier jour, dans l'environnement où les quatre pièces sont accessibles, la cellule change de direction préférentielle lorsque le rat passe de la boîte B à la boîte C. Cependant, lors des troisième et quatrième expositions, la cellule maintient une direction similaire entre toutes les

pièces. Les flèches mettent en évidence le changement de direction de cette cellule dans les pièces C et D. *Figures issue de Dudchenko et Zinyuk (2005).*

Les changements de topologie d'un environnement peuvent donc moduler localement l'activité des cellules de lieu. Au contraire, les cellules de direction ne sont pas affectées et, à ma connaissance, l'impact de la topologie sur l'activité des cellules de grille n'a jamais été rapporté.

Une question qui reste en suspens : les cellules spatiales intègrent-elles et traitent-elles les différents cadres de références ?

Les environnements connectés

Comme nous l'avons vu, l'activité des cellules de lieu semble ancrée dans un cadre de référence local dans un environnement composé de pièces connectées. Lorsque les pièces sont identiques et orientées dans la même direction, les cellules de lieu présentent des champs d'activité répétés à l'identique entre les pièces (Skaggs et McNaughton, 1998 ; Fuhs *et al.*, 2005 ; Spiers *et al.*, 2015 ; Grieves *et al.*, 2016 ; **Figure 29.A-B**). Cette répétition d'activité des cellules de lieu ne permet donc pas de discriminer les différentes pièces entre elles. Frank *et al.* (2000, 2001) et Singer *et al.* (2010) observent une augmentation de la répétition des champs d'activité au fur et à mesure de l'exposition à un environnement composé de plusieurs couloirs identiques et parallèles. Il a été proposé que l'activité répétée dans un environnement comportant des pièces (ou des couloirs) identiques, permet de généraliser plusieurs lieux. Ainsi, les activités répétées seraient bien adaptées pour coder les similitudes entre des lieux.

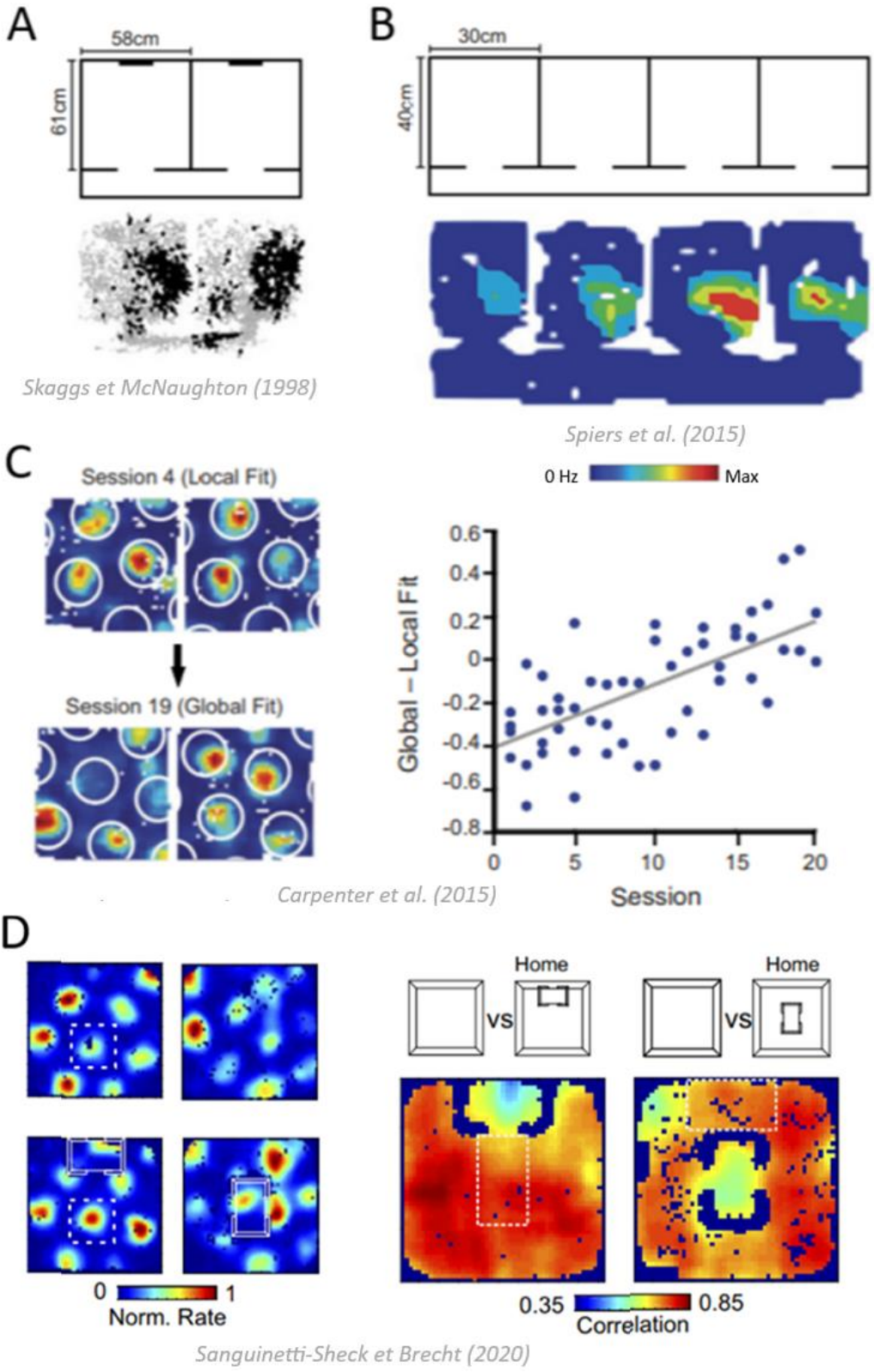


Figure 29. Représentations locales et globales des environnements connectés
A. Exemple de l'activité d'une cellule de lieu qui présente une activité répétée entre les deux pièces parallèles d'un environnement connecté. *Figure issue de Skaggs et McNaughton (1998)*.
B. Exemple de la carte de fréquence d'une cellule de lieu. Elle présente une activité répétée entre les 4 pièces parallèles de l'environnement connecté. *Figure issue de Spiers et al. (2015)*

C. Gauche : exemple d'une cellule de grille enregistrée dans le même environnement que celui de la figure **A** (les pièces sont plus grandes afin que la structure en grille puisse être bien observée). Lors des premières sessions, la structure en grille est répétée entre les deux pièces parallèles (« *Session 4* ») mais lorsque l'environnement est devenu familier, la structure en grille s'étend entre les deux pièces, comme si le mur les séparant était absent. Droite : le nuage de point représente l'ajustement de l'activité des cellules de grille à un modèle théorique (local *vs* global), au fur et à mesure des sessions. Au fil du temps, leur représentation devient de plus en plus globale, et la droite de régression présente donc une augmentation linéaire. *Figure issue de Carpenter et al. (2015)*.
D. Gauche : exemple de cartes de fréquence d'une cellule de grille dans une arène ouverte (cartes du haut) et dans la condition d'une cage placée au centre ou au nord de l'arène (cartes du bas).
Droite : analyse de corrélation spatiale pour toutes les cellules de grille entre l'arène simple et l'arène contenant la cage (au centre ou au nord). La corrélation moyenne est plus faible à l'emplacement de la cage dans *les deux cas. Figure issue de Sanguinetti-Sheck et Brecht (2020).*

Dans des environnements similaires, les cellules de grille présentent dans un premier temps une grille répétée à l'identique entre les deux pièces parallèles, comme observé avec les cellules de lieu (Carpenter *et al.,* 2015). Cependant, lorsque l'environnement devient familier par une exposition prolongée aux pièces, une représentation globale se forme peu à peu : l'activité en grille devient continue entre les deux pièces (**Figure 29.C**). L'apparition d'une grille continue suggère que les informations idiothétiques, issues des déplacements entre les pièces, permettent de les relier et former une représentation globale. L'intégration des trajets pourrait donc jouer un rôle clé dans l'apparition de cette activité. De même, Wernle *et al.* (2018) enregistrent, dans un premier temps, des cellules de grille entre deux pièces isolées par un mur : une activité en grille est observée dans chaque pièce. Lorsque le mur séparant les pièces est retiré, la structure en grille tend à devenir continue entre les pièces, *via* un réarrangement de la position des champs proches du mur retiré. Une fois que les limites de l'environnement sont repérées par l'animal, l'activité des cellules de grille semble donc s'ancrer sur tout l'environnement global. Toutefois, Sanguinetti-Scheck et Brecht (2020) mettent en évidence que la structure uniforme et continue des cellules de grille peut être rompue après l'ajout d'une pièce, accessible *via* deux portes, dans une grande arène. Ils observent que les champs d'activité se distordent spécifiquement au niveau de la pièce ajoutée (**Figure 29.D**). En revanche, partout ailleurs les cellules maintiennent leur structure en grille régulière, une orientation et une phase de la grille stable ainsi qu'un même écart entre les champs. De plus, l'ajout d'un couloir dans l'arène produit la même distorsion locale. Mais contrairement à

l'étude de Carpenter *et al.*, la structure en grille ne devient pas continue avec le temps. Cette différence pourrait s'expliquer par le manque de familiarité, dans la mesure où Sanguinetti-Sheck et Brecht déplacent la boîte (ou le couloir) lors de chaque session. Il se pourrait alors qu'à chaque session les cellules de grille forment deux représentations locales (une dans l'arène et une autre dans la pièce rajoutée ou le couloir) et qu'elles n'aient pas le temps de former une représentation globale avec une grille uniforme et continue sur tout l'environnement. Dans tous les cas, même si ce n'est pas la présence d'un nouveau lieu au sein de l'environnement qui provoque cette déformation, la rupture de la géométrie de l'arène peut être à l'origine d'une déformation locale de la grille. En revanche, les cellules de direction ne sont pas affectées par ces changements, elles restent stables dans tout l'environnement. Encore une fois, l'activité des cellules de direction, insensibles aux changements locaux, serait ancrée sur un cadre de référence global.

Dans les environnements composés de pièces identiques connectées en parallèle, la vue locale (c'est-à-dire les caractéristiques de la pièce avec ses repères visuels, olfactifs et tactiles, sa géométrie, ses portes, sa taille…) est la même pour toutes les pièces. Cette similarité est certainement responsable de l'activité répétée des cellules de lieu entre les pièces identiques. En effet, lorsque la vue locale devient différente dans une des pièces (avec un sol et des murs distincts ou une forme géométrique différente), un recodage spatial est observé spécifiquement dans la pièce modifiée, alors que l'activité reste répétée entre les autres pièces (**Figure 30** ; Spiers *et al.*, 2015 ; Pàz-Villagran *et al.*, 2004). Ces études confirment bien que le codage spatial des cellules de lieu est local et que la vue locale au sein de chaque pièce permet de dissocier (ou non) l'activité des cellules de lieu entre les pièces.

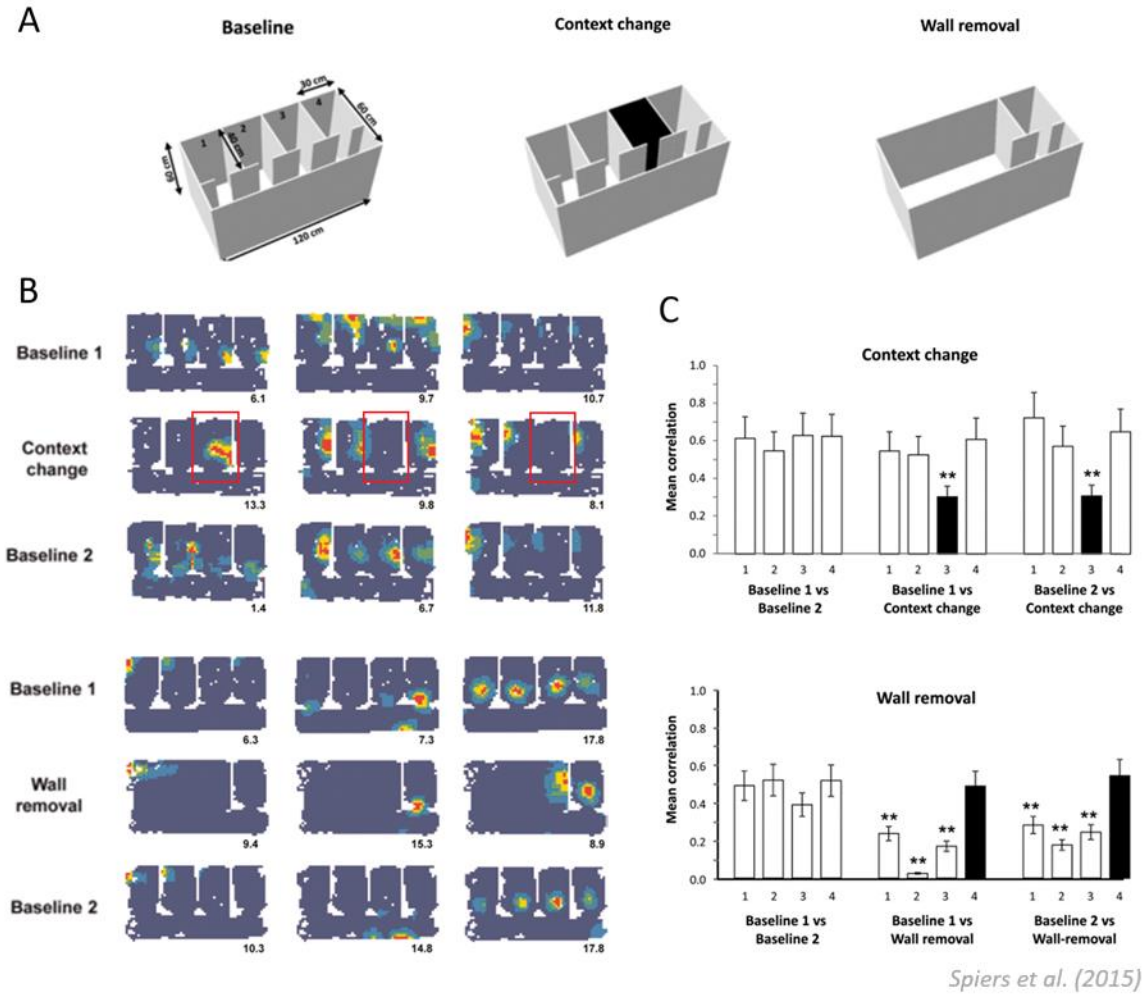


Figure 30. Activité locale des cellules de lieu dépendante des repères visuels et de la géométrie de la pièce

A. L'environnement standard contient quatre pièces parallèles identiques, reliées par un long couloir (Baseline). Au cours d'un protocole, les murs et sols blancs sont changés en noir dans l'une des pièces centrales (« *Context change* »). Au cours d'un second protocole, deux murs sont retirés de sorte qu'une seule pièce reste inchangée (à une extrémité de l'environnement) et qu'une seconde pièce devienne grande (« *Wall removal* »).

B. Deux protocoles, au cours desquels a lieu un changement contextuel dans une des pièces (« *Context change* » ; la pièce modifiée est encadrée en rouge) soit un changement de la géométrie des pièces (« *Wall removal* »). Les cellules de lieu présentent des activités répétées entre les pièces dans l'environnement standard (« *Baseline 1 et 2* ») mais dans les sessions où l'environnement est modifié elles recodent spécifiquement dans la pièce transformée.

C. Les corrélations moyennes de chaque pièce (± écart type), entre les différentes conditions confirment que les recodages spatiaux sont spécifiques aux pièces modifiées. Les compartiments d'intérêt sont marqués par des barres noires : dans le protocole de changement de contexte, il s'agit de la pièce 3 : les corrélations de cette pièce chutent de manière significative. Dans le protocole de changement de la géométrie des pièces, il s'agit de la pièce 4, qui est la seule à ne pas être modifiée, et de fait, c'est la seule dont les corrélations ne chutent pas par rapport à la « *Baseline* ». *Figures issues de Spiers et al. (2015).*

Plusieurs études montrent un recodage spatial des cellules de lieu entre des pièces connectées identiques qui ont des orientations différentes (Tanila *et al.,* 1999 ; Fuhs *et al.,* 2005 ; Paz-Villagràn *et al.*, 2006 ; **Figure 31.A-B**). Le signal directionnel pourrait donc moduler l'activité des cellules de lieu car la relation « vue locale » et « signal directionnel » est distincte pour chaque pièce. Ainsi, des cartes indépendantes sont recrutées pour chaque pièce. Au contraire, quand les pièces sont parallèles, la relation « vue locale » et « signal directionnel » est toujours la même entre les pièces, ce qui a pour conséquence de recruter la même carte entre toutes les pièces. Confirmant cette hypothèse, des cellules de lieu, dans un labyrinthe en forme de spirale, présentent des champs d'activité qui se répètent entre les différents tours de la spirale, toujours à des positions voisines et toujours dans une même direction (Nitz *et al.*, 2011 ; **Figure 31.C**). Mais lorsque l'animal parcourt la spirale en sens inverse, les cellules de lieu recodent vers une autre position. Le système directionnel pourrait donc moduler le codage spatial des cellules de lieu. De même, dans un labyrinthe composé de couloirs parallèles, le motif hexagonal des cellules de grille se rompt pour former une activité linéaire régulière et répétée entre les couloirs orientés dans la même direction (Derdikman *et al.*, 2009), comme si leur activité était réinitialisée à chaque virage et que la représentation des cellules de grille fragmente l'environnement en cartes locales répétées en fonction de leur orientation (**Figure 31.D**). Confirmant cette hypothèse, la modification de l'un des segments (sa réduction) affecte la décharge des cellules de grille uniquement dans le segment concerné (au niveau local). À l'inverse, les cellules de direction restent stables dans tous les segments du labyrinthe, fournissant surement ce signal aux cellules de lieu et de grille leur permettant de dissocier les segments de directions opposées (Whitlock et Derdikman, 2012 ; **Figure 31.E**). De même, les cellules conjointes présentent une activité régulière mais dépendante de la direction du segment du labyrinthe tandis que le signal de direction reste stable.

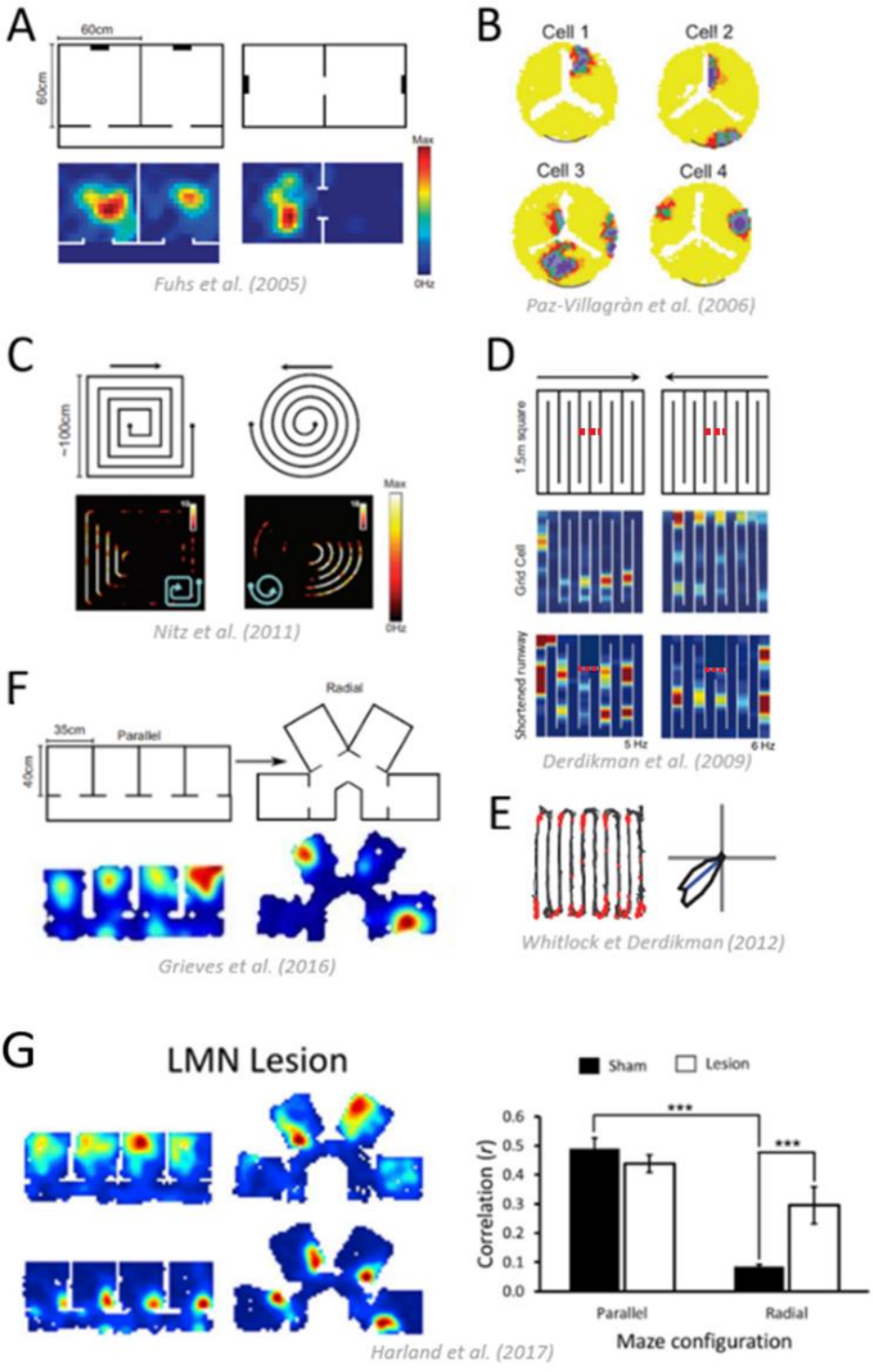


Figure 31. Activité des cellules de lieu et de grille dépendante des informations de direction dans des environnements connectés

A. Haut : schémas des environnements. Bas : exemples des cartes d'activité d'une cellule de lieu dont les champs sont répétés entre les pièces parallèles et identiques (gauche) et différents lorsque les pièces sont tournées de 90° et juxtaposées. *Figure issue de Fuhs et al. (2005).*

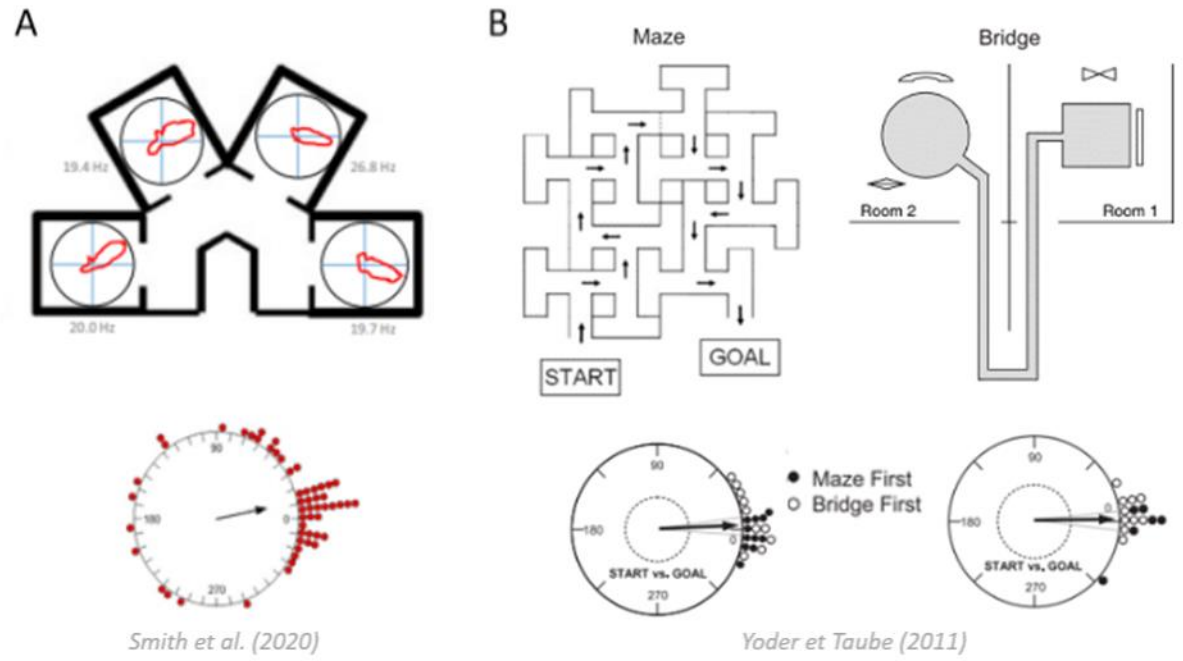
B. Cartes de fréquence de quatre cellules de lieu dans un environnement composé de trois « pièces » (deux identiques et une distincte par la présence d'un repère sur la paroi) orientées

à 120° les unes par rapport aux autres. Les cellules présentent des activités différentes entre chaque pièce. *Figure issue de Paz-Villagrán (2006).*
C. Haut : schémas des environnements : des couloirs en spirale de forme carrée (gauche) ou circulaire (droite). Bas : dans les deux environnements, les cartes d'activité révèlent que les cellules de lieu ont plusieurs champs qui se répètent lorsque l'animal fait face à la même direction. *Figure issue de Nitz (2011).*
D. Haut : schéma de l'environnement constitué d'un couloir en épingle à cheveux que les animaux parcourent de la gauche vers la droite (gauche) ou inversement (droite).
Bas : exemple de la carte de fréquence d'une cellule de grille présentant une activité répétée entre les bras de même direction (« *Grid cell »*). Lorsque le couloir est parcouru dans le sens inverse, les cellules changent d'activité. La carte de fréquence en dessous, montre que l'activité change spécifiquement dans le bras rétréci (représenté par la ligne rouge pointillée), ce qui suggère une activité locale propre à chaque bras du couloir (« *Shortened runway »*). *Figure issue de Derdikman et al. (2009).*
E. Dans le même environnement que celui de la figure **D**, les cellules de direction de la tête maintiennent la même direction préférentielle partout dans l'environnement. *Figure issue de Whitlock et Derdikman (2012).*
F. Haut : environnements composés de pièces identiques, parallèles (gauche) ou radiales (droite). Bas : exemple d'une cellule de lieu dont les champs sont répétés entre les pièces parallèles (gauche) et différents entre les pièces radiales. *Figure issue de Grieves et al. (2016).*
G. Gauche : dans les deux environnements présentés dans la figure E, des cellules de lieu sont enregistrées chez des animaux atteints de lésions des noyaux mamillaires latéraux (« *LMN Lesion* »). Les animaux *Sham* présentent des activités des cellules de lieu similaires à celles d'animaux contrôle (voir **panel E**) alors que les animaux lésés présentent une répétition des champs d'activité, à la fois dans les pièces parallèles et radiales. Droite : dans les pièces parallèles, les cartes de fréquence sont fortement corrélées pour les animaux *Sham* et lésés tandis que dans les pièces radiales, les animaux lésés montrent des corrélations plus élevées entre les pièces par rapport au groupe *Sham*. Les barres indiquent les moyennes pour chaque groupe d'animaux (± l'erreur standard). *Figure issue de Harland et al. (2017).*

Afin d'évaluer plus spécifiquement l'impact de l'orientation des pièces, Grieves *et al.* (2016) enregistrent des cellules de lieu dans un environnement composé de quatre pièces connectées, soit parallèlement, soit radialement (**Figure 31.F**). Ils constatent que, dans l'organisation en parallèle, les champs d'activité sont répétés dans chaque pièce alors que dans la configuration radiale, les cellules de lieu changent leur activité entre les pièces. La simple différence d'orientation des pièces permet donc de lever l'ambiguïté d'une activité répétée des cellules de lieu malgré des vues locales identiques. Le signal directionnel devrait jouer un rôle majeur dans cette distinction car c'est lui qui informe sur l'orientation des pièces. Harland *et al.* (2017) examinent précisément l'impact du signal directionnel sur l'activité des cellules de lieu. Ils réalisent une lésion des noyaux mamillaires latéraux, ce qui a pour conséquence

d’abolir le signal directionnel. Cette lésion induit, dans les pièces organisées radialement, une répétition des champs d’activité des cellules de lieu (**Figure 31.G**). Ainsi, le signal directionnel, dans le noyau mamillaire latéral, forme un signal global cohérent dans tout l’environnement, qui est transmis aux cellules de lieu de l'hippocampe. Les informations directionnelles, fournies par les cellules de direction, semblent essentielles pour lever l’ambiguïté de l’activité des cellules de lieu entre des pièces visuellement identiques.

Récemment, en utilisant les mêmes environnements (parallèle et radial), il a été montré que les cellules de direction maintiennent une direction préférentielle homogène dans les quatre pièces sans déviation importante (Smith *et al.*, 2021 ; **Figure 32.A**). Les informations idiothétiques permettraient de lier toutes les pièces les unes aux autres, offrant la possibilité de représenter toutes ces pièces dans un cadre de référence global. Pour maintenir une activité directionnelle stable au sein de tout l’environnement, le système doit être ancré sur un cadre de référence global, et ce dernier pourrait permettre d’unifier toutes les pièces. De même, d’autres études mettent en évidence que la direction préférentielle d’une cellule de direction reste stable entre deux pièces différentes, connectées par un couloir en U (Taube et Burton, 1995 ; Yoder et Taube, 2011) ainsi que dans un labyrinthe plus complexe doté de nombreux virages et intersections (Yoder et Taube, 2011 ; **Figure 32.B**). Les animaux peuvent maintenir une orientation cohérente grâce aux informations idiothétiques, comme le confirme la stabilité des cellules de direction dans le noir, et au contraire, leur instabilité lorsque les rats sont déplacés passivement (dans une petite boite à roulette, ce qui supprime les informations proprioceptives et la copie d’efférence ; Yoder et Taube, 2011 ; Stackman *et al.* 2003). Les informations idiothétiques paraissent donc les meilleurs candidats pour permettre une activité stable du signal directionnel dans toutes les pièces. Ces études confirment aussi le fait que les repères visuels, s’ils sont stables, peuvent être utilisés pour recalibrer la direction préférentielle des cellules lorsque l’activité directionnelle dérive. Les repères locaux présents dans les pièces se trouvent donc intégrés au signal directionnel global.



Figue 32. Les cellules de direction maintiennent une activité stable dans les environnements connectés

A. Haut : exemple d'une cellule de direction de tête, dont l'activité reste relativement stable à travers les pièces orientées radialement de l'environnement. Bas : distribution moyenne des décalages de direction entre les pièces. La flèche pleine représente la longueur et la direction du vecteur moyen. Globalement, les cellules restent très stables et des légers décalages, qui sont également observés dans l'environnement comportant des pièces parallèles (non montrée). Les cellules de direction de tête maintiendraient donc une référence directionnelle globale. *Figure issue de Smith et al. (2020).*

B. Haut : schémas des environnements connectés, un labyrinthe en T à 14 unités (gauche « *Maze* » ; les flèches indiquent le chemin entre le départ et le but à atteindre) et une arène carrée reliée par un long couloir à une arène circulaire, chacune située dans une pièce adjacente (droite « *Bridge* »). Bas : distribution des décalages dans la direction de décharge préférée des cellules enregistrées dans le labyrinthe en T (gauche) et dans les arènes connectées (droite). Pour les deux graphiques polaires, 0° représente la direction préférentielle de chaque cellule lors de la première session d'enregistrement. Les cellules de direction sont stables dans les deux environnements. *Figure issue de Yoder et Taube (2011).*

De plus, Grieves *et al.* (2016) montrent que, lors d'une tâche de discrimination d'odeurs entre les pièces, les animaux réalisent de meilleures performances quand les pièces sont orientées radialement, plutôt que parallèlement. Ce résultat suggère que l'ambiguïté d'une activité répétée des cellules de lieu aurait un corrélat fonctionnel. Au contraire, des cartes bien distinctes entre les pièces induisent une meilleure discrimination de chaque pièce. De plus, l'information spatiale des cellules de lieu est plus faible lorsque leur activité est répétée entre

les pièces (Spiers *et al.*, 2015). Une analyse de décodage (où la décharge des cellules de lieu est utilisée pour déduire la position de l'animal) met en évidence que de multiples positions peuvent être obtenues à partir de l'activité d'une seule cellule dans les pièces parallèles, alors que dans des pièces radiales, le décodage est meilleur. L'activité des cellules de lieu « fonctionne » donc mieux dans des conditions où la différence d'orientation des pièces est maximale. Dans ce type d'environnement connecté, le signal directionnel contribuerait ainsi à la capacité de l'animal à distinguer des pièces visuellement identiques.

Plus récemment, Cheng *et al.* (2024) enregistrent des cellules de lieu, chez des rats qui explorent un environnement composé de deux pièces connectées par une porte centrale, chacune polarisée à l'opposé par un repère visuel placé sur un mur. Les pièces sont donc ambiguës, car totalement identiques, mais des repères olfactifs et la position de repères visuels, à différentes orientations, permettent de les distinguer. Etant donné l'orientation opposée entre les deux pièces, la plupart des cellules de lieu (86%) changent d'activité entre les deux pièces (voir aussi Skaggs et McNaughton, 1998). Cependant, 13% des cellules présentent une activité répétée entre les pièces. De manière similaire, Duvelle *et al.* (2021) observent que dans un environnement composé de quatre pièces orientées orthogonalement, les cellules de lieu présentent en grande majorité une activité spécifique à chaque pièce (recodage spatial entre les pièces), mais quelques-unes présentent aussi une activité répétée entre les pièces. Il se pourrait que certaines cellules de lieu soient moins modulées par les signaux directionnels. En outre, bien qu'une activité répétée des cellules de lieu puisse induire un signal ambigu, elle pourrait tout de même permettre une généralisation entre des lieux similaires, permettant un codage plus efficace, notamment dans le cas d'apprentissage commun à plusieurs pièces.

Dans les environnements connectés, les cellules de direction restent très stables, conservant une activité ancrée sur un cadre de référence global. Ces signaux directionnels, en relation avec la vue locale de chaque pièce, semblent jouer un rôle majeur dans la modulation de l'activité des cellules de lieu et de grille. Les cellules de lieu représentent les environnements connectés par plusieurs activités ancrées sur des cadres de référence locaux (répétées ou différentes entre les pièces). Les cellules de grille semblent présenter, dans un premier temps, des activités ancrées sur un cadre de référence local puis, une fois l'environnement devenu familier, elles s'ancrent sur un cadre de référence global.

Des activités directionnelles hors du commun

Toutefois, une étude de 2017 montre que les cellules de direction n'ont pas toujours une activité unidirectionnelle dans les environnement connectés… D'irréductibles cellules de direction résistent encore et toujours au système d'attracteur seul.

En 2017, Jacob *et al.* placent des rats dans un environnement composé de deux pièces visuellement identiques connectées *via* une porte centrale et orientées à l'opposé par deux repères visuels identiques, placés dans chaque pièce sur des murs opposés. Cette organisation spatiale crée un conflit entre les directions locales des pièces ancrées sur les repères visuels et la direction globale ancrée sur l'ensemble de l'environnement. Deux odeurs différentes (vanille et citron) permettent toutefois de distinguer les pièces. Les auteurs enregistrent des cellules de direction dans le noyau antérodorsal du thalamus, le postsubiculum et le cortex rétrosplénial : elles présentent classiquement une activité unidirectionnelle stable entre les deux pièces.

Cependant, dans cette même étude un autre type de cellules de direction a également été identifié : des cellules bidirectionnelles qui présentent deux directions préférentielles, à l'opposé l'une de l'autre (**Figure 33**). Ces cellules spécifiques à la partie dysgranulaire du cortex rétrosplénial, représentent 11% de toutes les cellules enregistrées (**Figure 33.E**).

La population de cellules bidirectionnelles a été divisée en deux sous-groupes sur la base de leur activité au sein de chaque pièce :

- Les cellules bidirectionnelles « inter-pièces » (40 %) sont unidirectionnelles dans chaque pièce individuelle. La direction préférentielle bascule dans la direction opposée dès que l'animal traverse la porte et entre dans la pièce voisine.
- Les cellules bidirectionnelles « intra-pièces » (60 %), qui maintiennent une activité bidirectionnelle au sein même de chaque pièce.

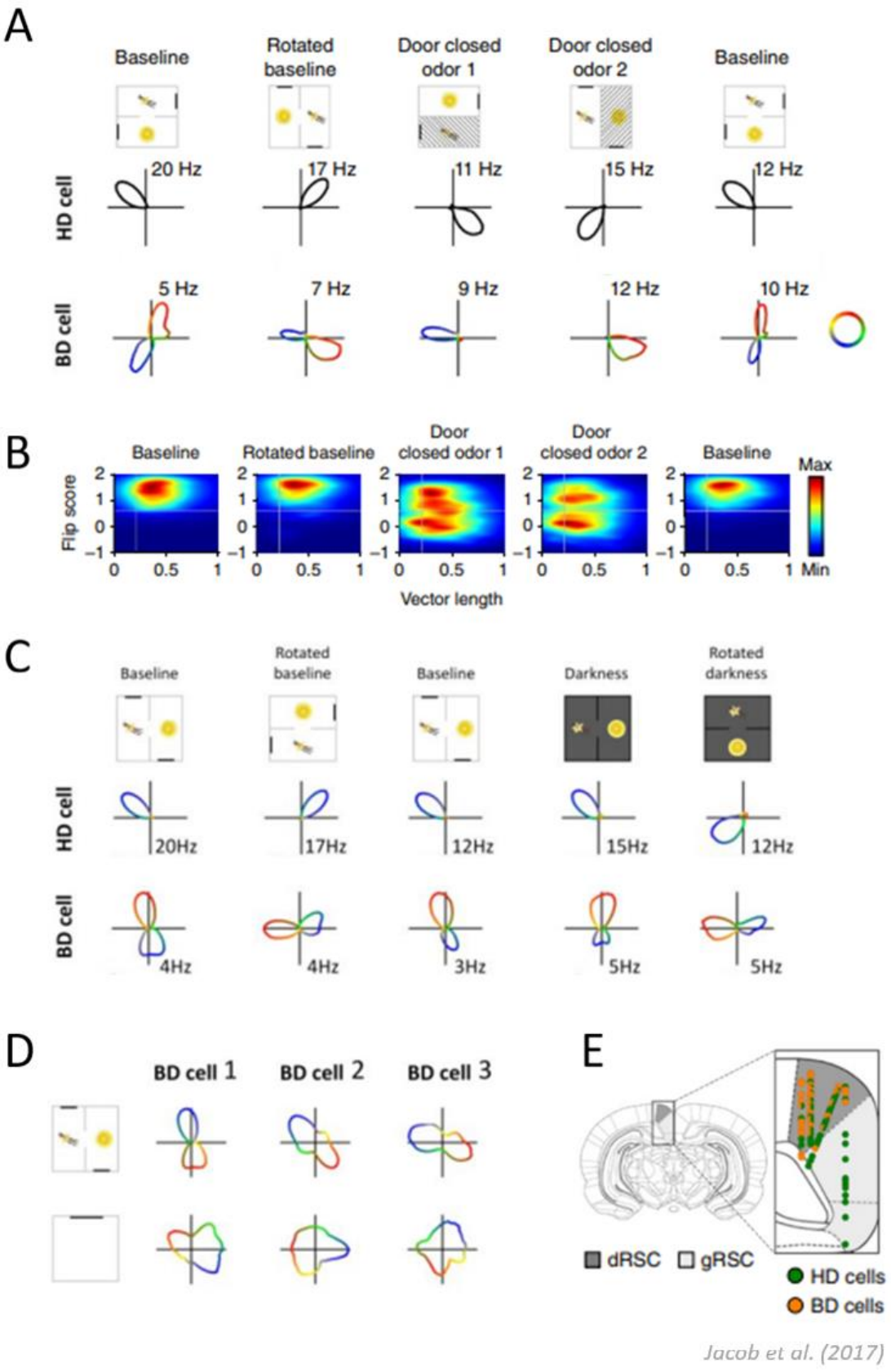


Figure 33. Deux populations de cellules de direction de la tête dans le cortex rétrosplénial
A. Exemple d'une cellule de direction de la tête canonique (« *HD cell* ») et d'une cellule bidirectionnelle (« *BD cell* »), dans un environnement composé de deux pièces. L'activité de

ces cellules est suivie lors de la rotation de l'environnement et de la fermeture de la porte. Les cellules de direction maintiennent une activité unidirectionnelle tandis que la cellule bidirectionnelle présente une direction préférentielle dans chaque pièce.
B. Graphiques de densité des cellules bidirectionnelle, des scores de bidirectionnalité (« *Flip score* », évaluant la bidirectionnalité) en fonction de la longueur du vecteur de Rayleigh (« *Vector length* », évaluant l'unidirectionnalité). Il est a noter que certaines cellules deviennent unidirectionnelles (avec un faible score de bidirectionnalité) lorsque la porte est refermée.
C. L'activité des cellules de direction et des cellules bidirectionnelles est inchangée dans l'obscurité (« *Darkness* » et « *Rotated darkness* »). Exemple d'une cellule de direction canonique (« *HD cell* ») et d'une cellule bidirectionnelle (« *BD cell* »).
D. Exemples de trois cellules bidirectionnelles enregistrées dans une arène ouverte carrée. Aucune activité directionnelle claire n'est apparente.
E. Sites d'enregistrement des cellules bidirectionnelles (orange) et de direction (vert) au sein de la région dysgranulaire (dRSC, gris foncé) et granulaire (gRSC, gris clair) du cortex rétrosplénial. Les cellules bidirectionnelles sont enregistrées en grande majorité dans la région dysgranulaire. *Figure issue de Jacob et al. (2017).*

En plus des cellules bidirectionnelles du cortex rétrosplénial, d'autres cellules bidirectionnelles ont été identifiées mais semblent plutôt modulées par les repères visuels.

Sit et Goard (2023) enregistrent, chez des souris placées dans une arène ouverte avec deux repères identiques opposés, les neurones du cortex rétrosplénial recevant des projections, soit du cortex visuel, soit du noyau antéro-dorsal du thalamus (**Figure 34.A**). Les neurones recevant des projections du cortex visuel peuvent être des cellules bidirectionnelles, lorsque les repères sont visibles, et les cellules recevant des entrées du noyau antéro-dorsal du thalamus sont unidirectionnelles (cellules de direction canoniques). Les auteurs identifient aussi un troisième type de cellules intermédiaires, qui sont bidirectionnelles à la lumière et deviennent unidirectionnelles dans l'obscurité. Ces résultats suggèrent que les repères visuels de l'environnement sont nécessaires à certaines activités directionnelles du cortex rétrosplénial.

Dans le parasubiculum et le cortex entorhinal médian de souris, Kornienko *et al.* (2018) identifient un petit nombre de cellules directionnelles modulées par des repères visuels dans une arène carrée. Ces cellules deviennent bidirectionnelles lorsque deux repères visuels sont placés sur la paroi. L'un des repères reste stable et l'autre alterne entre deux positions : sur le mur en face du repère stable ou sur le mur perpendiculaire à celui du repère stable. Les cellules décrites par les auteurs présentent deux pics d'activité présentant un décalage de 90° ou de 180° en fonction de la disposition des repères visuels (**Figure 34.B**). En décrivant les propriétés

de ces cellules, les auteurs montrent que les décharges intrinsèques ne sont pas modulées par un rythme thêta et ne sont pas cohérentes entre elles (à l'inverse des cellules de direction qui ont toujours un seul et unique pic d'activité directionnelle). Il est donc probable qu'elles soient principalement contrôlées par des repères visuels et moins dépendantes des informations idiothétiques.

Des cellules pouvant développer une activité bidirectionnelle ont été enregistrées dans le cortex postrhinal de rats (LaChance *et al.*, 2022). Ces neurones deviennent bidirectionnels lorsqu'un repère visuel familier est déplacé ou dupliqué sur un autre mur de l'environnement (**Figure 34.C**). Ces cellules permettraient d'intégrer les repères visuels dans un cadre spatial allocentré.

Olson *et al.* (2017) placent des rats dans un labyrinthe en forme de triple T, comportant de multiples voies. Des neurones du subiculum codent pour toutes les voies orientées dans une direction spécifique et sont actifs dans les deux sens de déplacement de l'animal, ce qui induit une activité bidirectionnelle opposée (**Figure 34.D**), similaire aux cellules bidirectionnelles de Jacob *et al.* Cependant, après une rotation du labyrinthe de 90°, la cellule maintient sa direction préférentielle (stable par rapport aux repères distaux de la pièce expérimentale) et décharge alors dans les voies perpendiculaires. Ces neurones encodent donc plutôt l'axe de déplacement des animaux et, contrairement aux cellules bidirectionnelles de Jacob *et al.*, elles n'ont pas une activité ancrée sur l'environnement local mais sur l'environnement global (la pièce expérimentale entourant le labyrinthe). En conséquence, ces neurones permettraient aux animaux d'orienter la trajectoire qu'ils empruntent par rapport au contexte environnemental global.

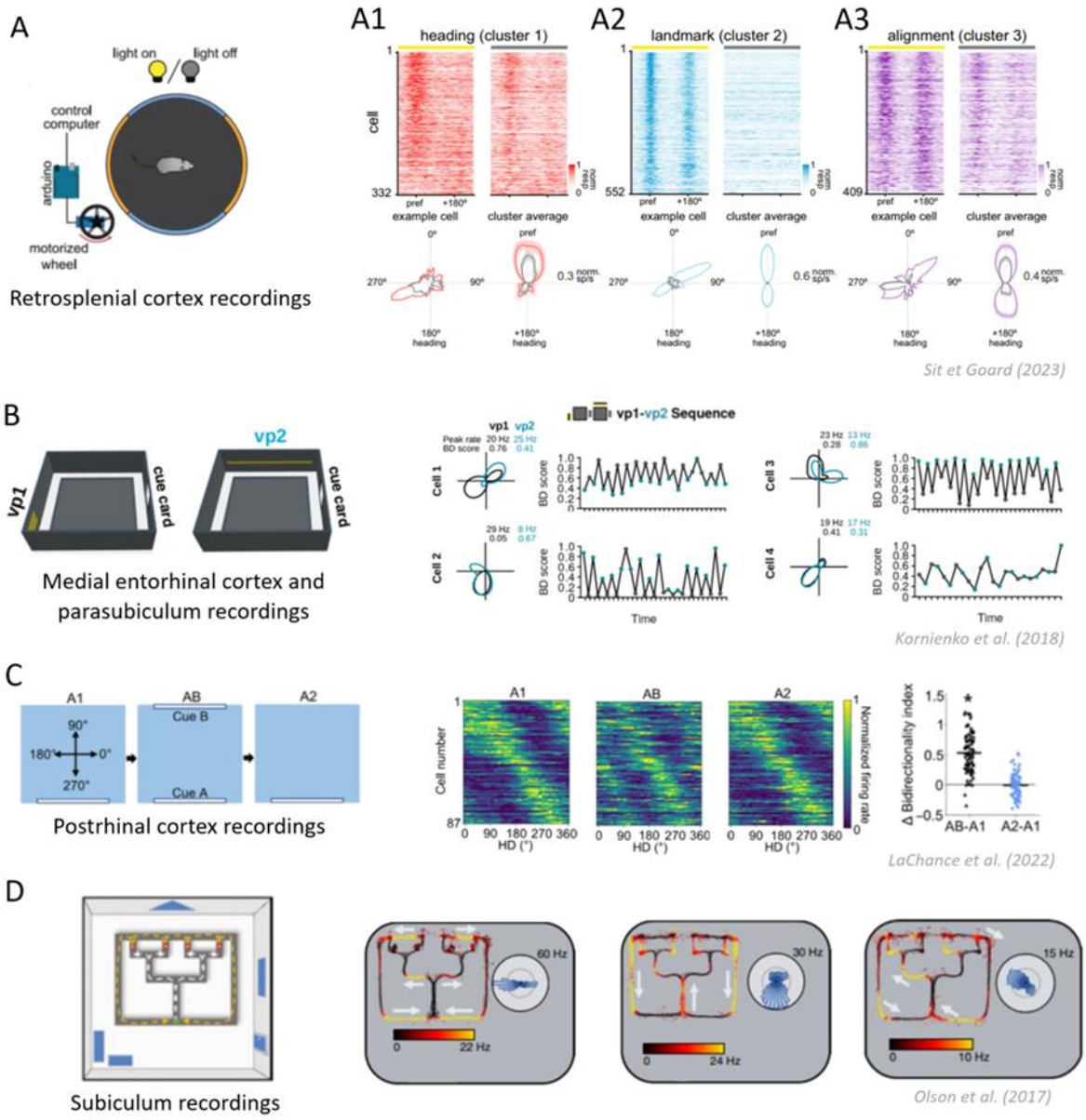


Figure 34. Cellules bidirectionnelles

A. Schéma du dispositif tête fixe permettant l'enregistrement des neurones du cortex rétrosplénial par imagerie à deux photons. Deux cartes sont placées à l'opposé dans la chambre flottante.

A1. Haut : fréquence directionnelle des cellules de direction canoniques (« *heading cluster 1* »), ordonnées par similarité avec la réponse moyenne du cluster.

Bas - gauche : exemple d'une cellule de direction dans les conditions : lumière allumée (rouge) et lumière éteinte (gris).

Bas - droite : réponses moyennes des neurones (± erreur standard) du cluster de direction dans les conditions : lumière allumée (rouge) et lumière éteinte (gris).

A2. Les neurones sont bidirectionnels dans la session à la lumière mais dans l'obscurité ces neurones perdent toute activité directionnelle (« *landmark cluster 2* »).

A3. Identique à **A2**, mais deviennent unidirectionnels dans l'obscurité (« *alignment cluster 3* »).

Figure issue de Sit et Goart (2023).

B. Gauche : schéma d'une arène carrée comportant des repères visuels distincts (vp1 et vp2) composés de bandes LED, fixées sur des murs adjacents entre vp1 et vp2. Les animaux sont

enregistrés grâce à des tétrodes implantées dans le cortex entorhinal médian et le parasubiculum. Droite : quatre exemples de cellules bidirectionnelles montrant des modifications selon la position des repères. L'évolution du score bidirectionnelle est indiquée au cours d'une session pour chaque cellule. *Figure issue de Kornienko, (2018).*
C. Gauche : schéma d'une arène carrée contenant un seul repère (A1 et A2) ou deux identiques et opposés (AB). Milieu : fréquence directionnelle des cellules répondant aux repères visuels en A1, AB et A2 (enregistrées grâce à des tétrodes dans le cortex postrhinal). Droite : comparaison du score de bidirectionnalité entre la session initiale A1 et les sessions AB et A2, montrant une augmentation de la bidirectionnalité pendant la session AB. *Figure issue de LaChance et al. (2022).*
D. Gauche : schéma de l'environnement composé de multiples labyrinthes en T.
Droite : trois exemples de neurones répondant à une orientation spécifique (enregistrés grâce à des tétrodes implantées dans le subiculum). Chaque panneau représente la fréquence spatiale dans l'environnement. Des flèches blanches indiquent les directions et positions avec les fréquences les plus élevées. Les graphiques polaires montrent la fréquence moyenne en fonction de l'orientation de la tête. *Figure issue de Olson et al. (2017).*

Dans la mesure où, jusqu'à présent, les cellules bidirectionnelles ont été observées uniquement dans des régions corticales, il est possible que différentes régions du cerveau possèdent différents types de cellules de direction. Ainsi, un mélange de cellules bidirectionnelles et directionnelles canoniques peut être trouvé dans les régions corticales, tandis qu'au niveau sous-cortical, les cellules de direction canoniques sont les seules observées (comme dans le noyau tegmental dorsal, le noyau mamillaire latéral ou le thalamus antérieur). Cette distinction n'est pas absolue, car seules des cellules directionnelles canoniques ont été enregistrées dans le postsubiculum, qui est une région corticale (Jacob *et al.*, 2017).

Les régions contenant ces cellules, étant fortement interconnectées (Wyss et Van Groen, 1992), peuvent représenter de manière redondante les mêmes informations, d'autant que toutes les cellules bidirectionnelles présentent des activités très similaires, et sont souvent très sensibles aux repères visuels. Ces activités bidirectionnelles pourraient également s'avérer complémentaires. Par exemple, différentes aires visuelles peuvent fournir des informations différentes aux structures en aval, qui peuvent alors intégrer ensemble des informations visuelles avec des signaux de direction.

Toutefois, les cellules bidirectionnelles enregistrées par Jacob *et al.* semblent spécialisées : elles apparaissent uniquement dans les environnements composés de deux pièces connectées, elles restent bidirectionnelles dans l'obscurité, indiquant qu'elles ne répondent

pas simplement à des repères visuels de l'environnement (**Figure 34.C**). Zhang *et al.* (2022) enregistrent ces mêmes cellules dans un environnement composé de quatre pièces connectées identiques, orientées orthogonalement (deux pièces comportant une odeur de vanille et les deux autres une odeur de citron). Les auteurs rapportent que ces cellules présentent alors une activité tétradirectionnelle. Le nombre de pièces semble directement influencer l'activité des cellules, comme l'indique le nombre de directions préférentielles de ces cellules, suggérant qu'elles sont soit dépendantes de la structure de l'environnement, soit ancrées sur des cadres de références locaux (les pièces). De plus, dans une arène ouverte (donc une pièce unique), la modulation directionnelle de ces cellules est perdue ou alors devient unidirectionnelle (**Figure 34.D**). La présence de plusieurs pièces connectées dans l'environnement semble donc requise pour faire émerger ces activités multidirectionnelles. L'enregistrement simultané de ces cellules bidirectionnelles avec des cellules de direction canoniques, qui maintiennent une seule direction préférentielle dans tout l'environnement, suggère qu'une représentation locale de l'information directionnelle coexiste avec une représentation globale, dans la même région cérébrale, le cortex rétrosplénial.

Mais qu'est ce qui rend le cortex rétrosplénial si particulier et capable d'intégrer des signaux à la fois ancrés sur des cadres de références locaux et globaux ?

4. Le cortex rétrosplénial

Le cortex rétrosplénial contient deux populations de cellules directionnelles, dont les activités sont observées lorsque des animaux explorent des environnements composés de pièces connectées. Le cortex rétrosplénial, qui est impliqué dans la formation de cartes cognitives et dans la mémoire spatiale et contextuelle, pourrait donc jouer un rôle particulier dans les environnements complexes connectés. Dans ce chapitre nous tenterons de comprendre comment des signaux directionnels canoniques et multidirectionnels peuvent coexister simultanément dans le cortex rétrosplénial et plus largement, l'implication de cette structure dans la cognition spatiale.

Le cortex rétrosplénial tire son nom de sa position dans le cerveau : « retro » qui signifie à l'arrière, et « splénial » fait référence au splénium, la partie postérieure du corps calleux. Comme son nom l'indique, le cortex rétrosplénial longe la partie médio-postérieure du corps calleux. Il constitue la partie postérieure du cortex cingulaire (Vogt et Peters, 1981), recouvrant la moitié de l'axe antéro-postérieur et remontant jusqu'à la surface du cerveau, ce qui en fait l'une des plus grandes régions corticales du rat (**Figure 35**).

Le cortex rétrosplénial fait partie d'un réseau interconnecté comprenant des régions corticales, hippocampiques et thalamiques, dont les connexions sont indispensables aux apprentissages spatiaux (Sugar *et al.*, 2011 ; Wyss et Van Groen, 1992). Environ 78% des connexions reçues par le cortex rétrosplénial proviennent d'autres régions du cortex rétrosplénial lui-même (Mitchell *et al*, 2018 ; Kobayashi et Amaral, 2003). Grâce à une position centrale dans ce réseau, le cortex rétrosplénial se trouve en mesure de traiter et de moduler les informations spatiales, tout en intégrant des signaux provenant des systèmes sensoriels et moteurs. Il constitue donc un carrefour majeur, lui permettant d'intégrer une multitude d'informations liées à l'action, aux informations visuelles, ainsi qu'à la position et à l'orientation (Epstein, 2008 ; Vann *et al.*, 2009 ; Mitchell *et al.*, 2018 ; Alexander *et al.*, 2020). Le cortex rétrosplénial joue également un rôle dans le traitement de la mémoire, à la fois dans l'encodage et la récupération des souvenirs. Il fait également partie du réseau du « mode par

défaut », qui regroupe un ensemble de régions cérébrales activées lors d'états « hors ligne », lorsqu'un individu se remémore, imagine ou anticipe des actions et des résultats passés, présents ou futurs, qu'ils soient réels ou hypothétiques.

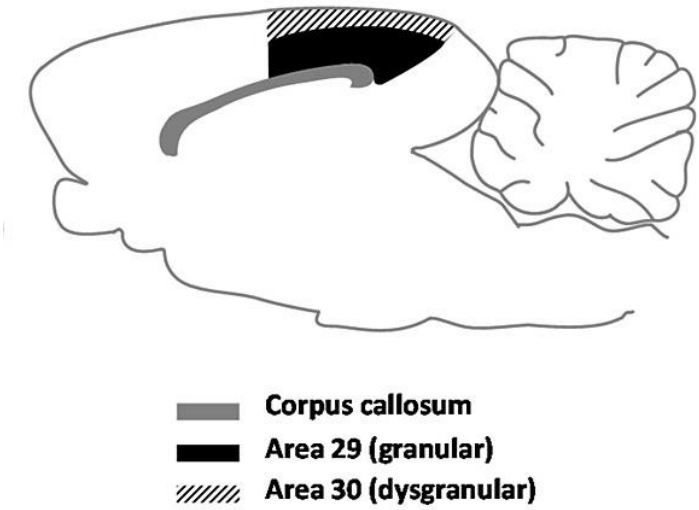


Figure 35. Schéma du cortex rétrosplénial
Coupe sagittale du cortex rétrosplénial chez le rat. Il est situé en arrière du corps calleux (région grisée) et se divise en deux sous-régions : dysgranulaire (aire 30 de Brodmann, région hachurée) et granulaire (aire 29 de Brodmann, région noire).

Neuroanatomie

Deux sous-régions

Le cortex rétrosplénial peut être séparé en deux régions : la région dysgranulaire (aire de Brodmann 30) qui est la plus dorsale et la région granulaire (aire de Brodmann 29), plus ventrale (Wyss et Sripanidkulchai, 1984 ; Van Groen et Wyss, 1992). Les couches granulaire et dysgranulaire se distinguent par l'agencement et la densité des neurones dans leurs couches laminaires : les neurones de la partie dysgranulaire (grands neurones pyramidaux) sont peu denses, rendant les couches II/III et V plus larges, tandis que dans la partie granulaire, les neurones de la couche II sont plus denses (Vogt et Peters, 1981 ; Wyss *et al.*, 1990).

Comme abordé dans le chapitre précédent, cette séparation granulaire-dysgranulaire correspond aussi à la ségrégation entre les cellules multidirectionnelles, majoritaires dans la région dysgranulaire (76%) et les cellules directionnelles canoniques, qui sont légèrement majoritaires dans la région granulaire (59%), bien que la ségrégation de ces dernières soit moins marquée (Zhang *et al.*, 2021 ; **Figure 36**).

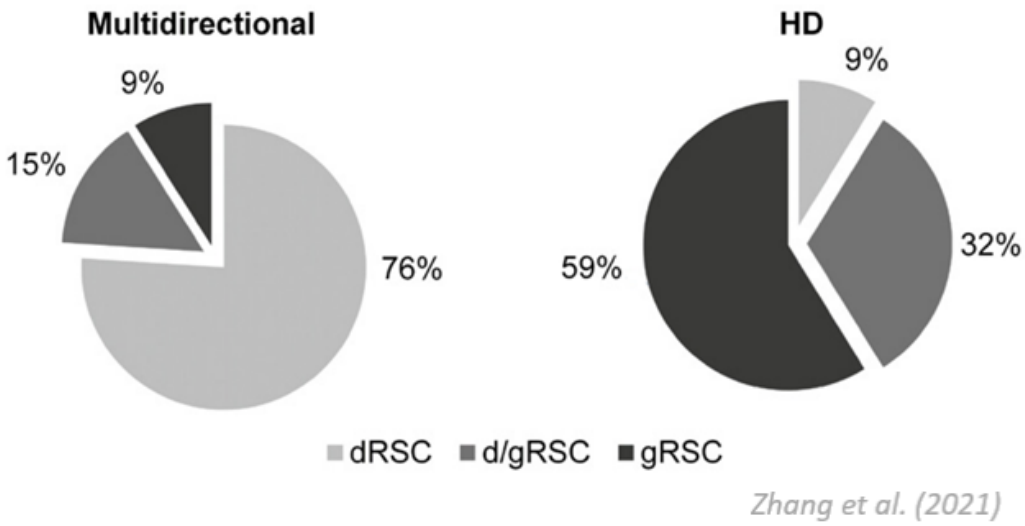


Figure 36. Distribution des cellules multidirectionnelles et directionnelles canoniques dans les sous-régions du cortex rétrosplénial
Proportion de cellules multidirectionnelles (« *Multidirectional* », n = 115) et cellules de direction canoniques (« *HD* », n = 102) dans les régions granulaire et dysgranulaire du cortex rétrosplénial. *Figure issue de Zhang et al. (2021).*

Zhang *et al.* (2021) analysent les distinctions neurophysiologiques des cellules multidirectionnelles et unidirectionnelles : les cellules de direction canoniques présentent une forme de potentiel d'action plus étroite (latence entre le pic et le creux plus courte). Cette différence semble suggérer que les cellules de direction canoniques seraient principalement des interneurones tandis que les cellules multidirectionnelles dont la forme de potentiel d'action est plus large, seraient principalement composées de neurones pyramidaux (Buzsaki et Eidelberg, 1982 ; Csicsvari *et al.*, 1999a ; Fox et Ranck, 1981). Il est intéressant de noter que Keshavarzi *et al.* (2021) signalent qu'environ 20 % des cellules de direction du cortex rétrosplénial enregistrées dans une arène circulaire sont des cellules possiblement inhibitrices. En outre, les cellules de direction canoniques présentent une amplitude de

potentiel d'action plus faible, une décharge plus tonique que celles des cellules multidirectionnelles et montrent une relation légèrement plus faible entre les potentiels de champs locaux thêta et leurs potentiels d'actions. Ces observations suggèrent que les cellules multidirectionnelles du cortex rétrosplénial sont susceptibles de constituer un type de cellules distinct des cellules de direction canoniques. Leur différence d'activité est associée à une ségrégation anatomique dans le cortex rétrosplénial, mais les entrées reçues par ces deux populations demeurent inconnues. Toutefois, il existe des distinctions connues entre les voies d'entrée des régions granulaire et dysgranulaire. La région dysgranulaire se caractérise par des entrées principalement visuelles par rapport à la région granulaire alors que la région granulaire reçoit plutôt des informations spatiales et contextuelles (Van Groen et Wyss 1990, 1992, 2003 ; Vann *et* Aggleton, 2005 ; Yamawaki *et al.*, 2019 ; Pothuizen *et al.*, 2009).

Formation hippocampique et parahippocampique

Les connexions provenant de la formation hippocampique[5] constitueraient la différence majeure des projections reçues par les régions dysgranulaire et granulaire. En effet, le subiculum dorsal, qui est la principale source des projections de l'hippocampe vers le cortex rétrosplénial chez le rat, envoie des efférences directes denses vers la région granulaire et beaucoup moins vers la région dysgranulaire. Environ la moitié de ces neurones du subiculum dorsal qui projettent vers la région granulaire du cortex rétrosplénial se divisent et envoient également des projections vers les corps mamillaires médians (Kinnavane *et al.*, 2018 ; **Figure 37**). Le cortex rétrosplénial et les corps mamillaires médians reçoivent donc les mêmes modulations hippocampiques *via* les entrées du subiculum dorsal.

[5] La formation hippocampique comprend les régions de l'hippocampe (gyrus denté, CA1, CA2 et CA3) ainsi que le subiculum (Burwell et Witter, 2002). Et le complexe parahippocampique contient le cortex postrhinal, perirhinal et le cortex entorhinal.

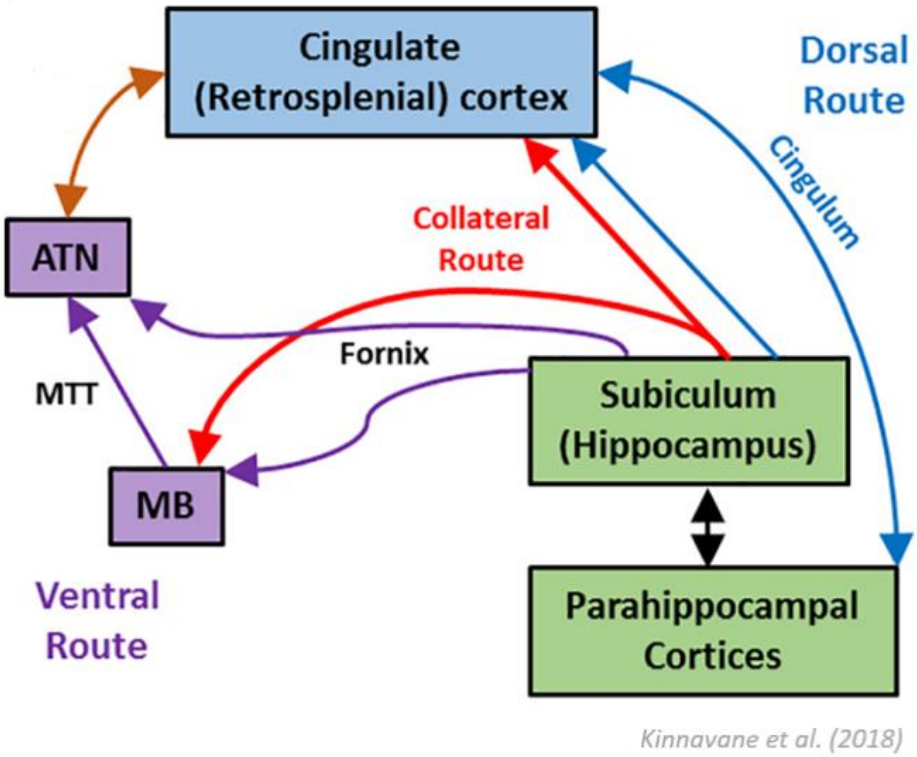


Figure 37. Connectivité du réseau hippocampique au cortex rétrosplénial granulaire
Les projections du subiculum atteignent les corps mamillaires (contra et ipsilatéral) et la région granulaire du cortex rétrosplénial (ipsilatérale). Les voies ventrales sous-corticales (« *Vantral Route* »), dorsales cingulaires (« *Dorsal Route* ») et les nouvelles voies « collatérales » (« *Collateral Route* »). ATN : noyaux thalamiques antérieurs ; MTT, faisceau mammillo-thalamique. *Figure issue de Kinnavane et al. (2018).*

Une autre population de cellules du subiculum dorsal projette vers les noyaux thalamiques antéro-médians et antéro-ventraux, ces mêmes noyaux thalamiques recevant des entrées denses des corps mamillaires médians, parallèlement à leurs connexions réciproques avec les régions dysgranulaire et granulaire (le réseau hippocampe-rétrosplénial-thalamus se dessine déjà ici). Alors que le subiculum contient des neurones aux diverses propriétés spatiales, notamment des cellules s'activant spécifiquement sur les bords, des cellules de lieu, des cellules présentant des structures d'activité en grille et des cellules qui codent pour l'axe de déplacement (Lever *et al.*, 2009 ; Brotons-Mas *et al.*, 2010 ; Olson *et al.*, 2017 ; O'Mara et Aggleton, 2019 ; Poulter *et al.*, 2021). L'importance fonctionnelle des diverses efférences subiculaires a été mise en évidence dans des études récentes : les projections du subiculum contribuerait au traitement des informations allothétiques et à l'encodage d'un contexte (Yamawaki *et al.*, 2019 ; Nelson *et al.*, 2020).

Parallèlement aux entrées du subiculum, il existe de plus petites projections hippocampiques et parahippocampique partant de CA1, du postsubiculum, du présubiculum et du cortex entorhinal vers le cortex rétrosplénial et ces projections ciblent de nouveau préférentiellement la région granulaire (Yamawaki *et al.*, 2019b ; Wyss et Van Groen, 1992 ; Kononenko et Witter, 2012 ; Van Groen et Wyss, 1990). La connexion anatomique au réseau hippocampique-entorhinal garantit un échange d'informations spatiales entre le cortex rétrosplénial et le système hippocampique. En effet, des études lésionnelles montrent que l'hippocampe influence l'activité spatiale de la région dysgranulaire dans la mesure où les entrées hippocampiques sont indispensables à l'émergence d'une activité spatiale dans le cortex rétrosplénial (Mao *et al.*, 2018). L'absence de connexion directe entre l'hippocampe et la région dysgranulaire suggère que les informations hippocampiques peuvent être transférées *via* la région granulaire ou *via* les noyaux thalamiques antérieurs. Les projections de CA1 sont inhibitrices : ce sont des neurones GABAergiques qui projettent dans la couche I de la région granulaire. Ils permettraient la régulation des entrées excitatrices provenant des noyaux thalamiques antérieurs ainsi que du subiculum, dont beaucoup projettent dans cette même couche (Yamawaki *et al.*, 2019).

Les entrées hippocampiques denses vers la région granulaire contrastent avec l'absence, presque totale, de projections retour du cortex rétrosplénial vers la formation hippocampique (Sugar *et al.*, 2011). De plus, les lésions du cortex rétrosplénial ont peu voire aucun effet, sur l'expression de *c-fos* (un marqueur de l'activité neuronale) dans la formation hippocampique (Powell *et al.*, 2018). Par conséquent, les influences retour du cortex rétrosplénial sont indirectes, *via* la région parahippocampique et les noyaux thalamiques antérieurs (Prasad et Chudasama, 2013). En effet, les régions parahippocampiques, que sont le cortex postrhinal, le présubiculum, le parasubiculum et le cortex entorhinal médian, qui possèdent des cellules ayant des activités spatiales, reçoivent des entrées denses provenant du cortex rétrosplénial (Jones et Witter, 2007 ; Sugar *et al.*, 2011 ; Kononenko et Witter, 2012 ; Czajkowski *et al.*, 2013). Il a été constaté que, dès le premier jour postnatal (P1), les entrées provenant de la couche V du cortex rétrosplénial dysgranulaire du rat atteignent toutes les couches du présubiculum et les couches plus profondes du cortex entorhinal médian. Ces projections arrivent à maturité vers P12, avant que des activités spatiales n'apparaissent (Sugar et Witter, 2016). Bien que la fonction de ces entrées reste inconnue, cette connexion peut faciliter le

développement des cellules présentant des activités spatiales dans les régions parahippocampiques notamment grâce aux entrées sensorielles apportées par le cortex rétrosplénial. De plus, une voie reliant la région dysgranulaire du cortex rétrosplénial au cortex entorhinal médian pourrait expliquer la présence de cellules bidirectionnelles dans le cortex entorhinal médian et le parasubiculum (Kornienko *et al.*, 2018), qui partagent certaines propriétés avec les cellules du cortex rétrosplénial dysgranulaire (Jacob *et al.*, 2017).

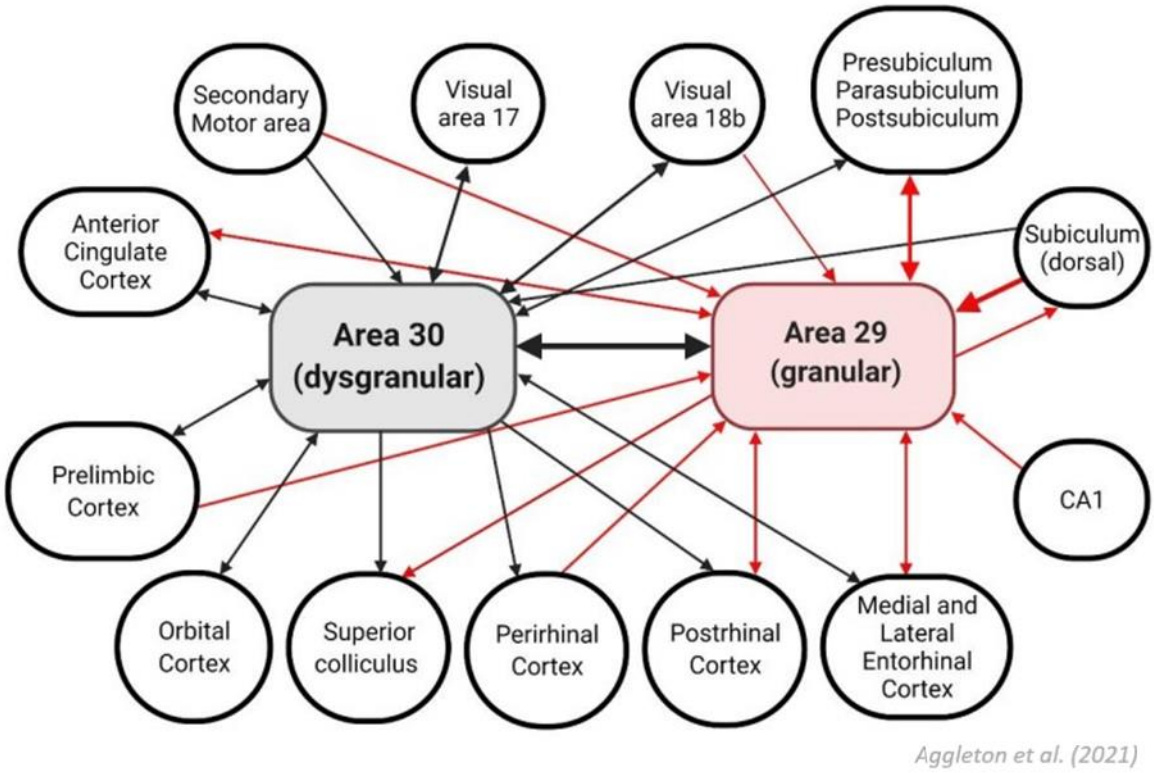


Figure 38. Connectivité corticale et parahippocampique des régions granulaire et dysgranulaire du cortex rétrosplénial
La figure met en évidence les nombreuses différences entre les régions granulaire (« *Area* 29 ») et dysgranulaire (« *Area 30* »), notamment les connexions importantes de la région dysgranulaire avec les aires visuelles. L'épaisseur des flèches donne une indication de la force des connexions. *Figure issue de Aggleton et al. (2021).*

Connexions corticales

Alors que la partie granulaire reçoit en grande majorité les entrées hippocampiques directes vers le cortex rétrosplénial, ainsi que de nombreuses entrées parahippocampiques, la partie dysgranulaire semble particulièrement critique pour le traitement des stimuli visuels. En effet,

la région dysgranulaire du cortex rétrosplénial est interconnectée avec les aires visuelles 17 et 18b (cortex visuel primaire et secondaire), tandis que la région granulaire n'est que légèrement connectée avec l'aire 18b, et pas du tout avec l'aire 17 (Van Groen et Wyss 1990a, 1992a, 2003 ; **Figure 38**). Le cortex rétrosplénial ne répond pas simplement aux informations visuelles, il est aussi impliqué dans leur traitement pour la navigation chez les humains (Auger *et al.*, 2012 ; Epstein et Vass, 2014) et les rongeurs (Fischer *et al.*, 2020 ; Powell *et al.*, 2020 ; Mao *et al.*, 2020b), en particulier en ce qui concerne l'encodage de la direction (Knight *et al.*, 2014 ; Jacob *et al.*, 2017). Par conséquent, le cortex rétrosplénial est impliqué dans le traitement des informations relatives aux repères visuels pour maintenir le sens de l'orientation. Ce point sera développé plus en détail par la suite.

Le cortex rétrosplénial possède également de denses connexions avec les cortex préfrontal (Shibata *et al.*, 2004), auditif (Vogt et Miller, 1983 ; Todd *et al.*, 2016), cingulaire (Jones *et al.*, 2005), pariétal postérieur (Olsen *et al.*, 2017) et moteur secondaire (Yamawaki *et al.*, 2016). La connexion avec de multiples zones sensorielles suggère que le cortex rétrosplénial est impliqué dans le traitement multisensoriel.

Connexions thalamiques

Le cortex rétrosplénial est réciproquement connecté avec des régions sous-corticales (Mathiasen *et al.*, 2017), notamment le thalamus, dont les noyaux font partie du circuit directionnel (Van Groen et Wyss, 1990 ; 1992 ; Taube, 2007). Une des différences de connectivité entre les régions granulaire et dysgranulaire concerne leurs connexions thalamiques respectives, qui semblent former deux voies distinctes (**figure 39**).

La partie dysgranulaire est plus fortement connectée au noyau thalamique antéro-médian (Sripanidkulchai *et al.*, 1986 ; Van Groen et Wyss, 1990, 1992a-b, 2003 ; Lomi *et al.*, 2021), au noyau dorsal latéral du thalamus (bien qu'il soit interconnecté avec les deux régions). Ce dernier noyau contient de nombreuses cellules de direction de la tête (Mizumori et Williams, 1993) et reçoit des entrées des cortex visuels primaire et secondaire, ainsi que d'autres entrées de régions fortement associées aux informations visuelles, comme le colliculus supérieur et les noyaux géniculés latéraux (Thompson et Robertson, 1987a-b). La région dysgranulaire du cortex rétrosplénial reçoit majoritairement, par rapport à la région

granulaire, des entrées du noyau thalamique postérieur latéral (Kamishina *et al.*, 2009). Ce noyau thalamique est considéré comme un noyau visuel clé, recevant des entrées visuelles à la fois du cortex visuel primaire et d'autres aires corticales de la voie dorsale, ainsi que des entrées sous-corticales du colliculus supérieur et du noyau géniculé dorsal latéral (Roth *et al.*, 2016 ; Bennett *et al.*, 2019). Il a été suggéré que les efférences de ce noyau signaleraient les changements dans la scène visuelle (Roth *et al.*, 2016). Le cortex rétrosplénial dysgranulaire reçoit donc probablement de fortes influences visuelles de la part des noyaux thalamiques (en plus des entrées des cortex visuels) ce qui pourrait se répercuter sur l'activité des cellules de direction.

De son côté, la partie granulaire s'avère plus étroitement connectée aux noyaux antéro-dorsal et antéro-ventral du thalamus (Van Groen et Wyss, 1990b ; Shibata, 1993 ; Lomi *et al.*, 2021). Le noyau antéro-dorsal est connu pour contenir de nombreuses cellules de direction de la tête (Taube, 1995), tandis que le noyau antéro-ventral en comprend une plus petite proportion (Tsanov *et al.*, 2011). Le noyau antéro-dorsal reçoit les informations directionnelles directement depuis les noyaux mamillaires latéraux (Blair *et al.*, 1999), qui eux-mêmes reçoivent des signaux vestibulaire, tels que la vitesse de déplacement de la tête (Bassett et Taube, 2001 ; Vann et Aggleton, 2004). Le noyau antéro-dorsal serait donc susceptible de propager des signaux presque purement idiothétiques dans la région granulaire du cortex rétrosplénial.

En retour, les neurones de la couche VI du cortex rétrosplénial dysgranulaire et granulaire projettent vers les noyaux antérieurs et latéral dorsal du thalamus (Aggleton, 2021), établissant une voie essentielle afin que les informations visuelles parviennent au circuit directionnel. Ces entrées visuelles assurent certainement l'ancrage des cellules de direction aux repères visuels, permettant le maintien de la stabilité directionnelle à long terme. Cette connexion vers le thalamus antérieur peut expliquer que les lésions du cortex rétrosplénial perturbent le contrôle des repères visuels sur l'activité des cellules de direction de la tête dans le noyau antéro-dorsal du thalamus (Clark *et al.*, 2010). En outre, il a été rapporté que le cortex rétrosplénial envoie des entrées synaptiques excitatrices vers le noyau réticulaire du thalamus, qui peut moduler les entrées sensorielles et l'activité des cellules directionnelles dans les noyaux antérieurs du thalamus (Vantomme *et al.*, 2020).

En résumé, les études neuroanatomiques présentées montrent l'abondance des connexions corticales et sous-corticales vers le cortex rétrosplénial, ce qui en fait une région multimodale et un centre d'intégration idéalement placé pour traiter les informations idiothétiques et allothétiques provenant de différentes modalités. Les connexions avec de nombreuses régions du cerveau donnent des indications sur les fonctions possibles du cortex rétrosplénial, telles que l'intégration d'informations sensorielles pouvant faciliter notamment le traitement des repères externes (via les connexions corticales), les fonctions spatiales et cognitives (via les circuits hippocampiques-parahippocampiques) et le traitement du signal directionnel (via les noyaux du thalamus). Compte tenu de ces diverses entrées, le cortex rétrosplénial joue un rôle essentiel dans le maintien et le traitement des signaux de direction mais aussi d'autres signaux spatiaux (Roth *et al.*, 2016). Il est constitué d'une région dysgranulaire plutôt modulée par les informations visuelles (mais qui reçoit aussi des entrées de régions associatives) et d'une région granulaire plutôt modulée par les informations idiothétiques et de contexte spatial. Bien que la ségrégation de ces régions ne soit pas stricte étant donné leur forte interconnexion et des entrées communes, les projections qu'elles reçoivent et leur répartition constituent une différence notable. Nous verrons que cette séparation granulaire-dysgranulaire peut parfois se retrouver sur le plan comportemental et neurophysiologique, notamment pour le traitement des informations visuelles.

Ces entrées distinctes entre les régions granulaire et dysgranulaire correspondent à la proportion plus importante de cellules de direction canoniques dans la partie granulaire (recevant principalement des signaux directionnels originaires du système vestibulaire) et des cellules multidirectionnelles dans la partie dysgranulaire (recevant principalement des informations visuelles)[6]. Les cellules de direction canoniques maintiennent une activité stable entre toutes les pièces connectées d'un environnement, ce qui concorde à un contrôle de l'activité par les informations idiothétiques. Au contraire, les cellules multidirectionnelles, plus sensibles aux informations allothétiques, changent d'activité dans chacune des pièces (qui sont visuellement identiques), et peuvent donc être contrôlées préférentiellement par des informations externes visuelles.

[6] La ségrégation de ces cellules n'est pas stricte, les voies de communication entre la région granulaire et dysgranulaire permettent certainement une certaine perméabilité de l'activité des cellules directionnelles entre les deux régions.

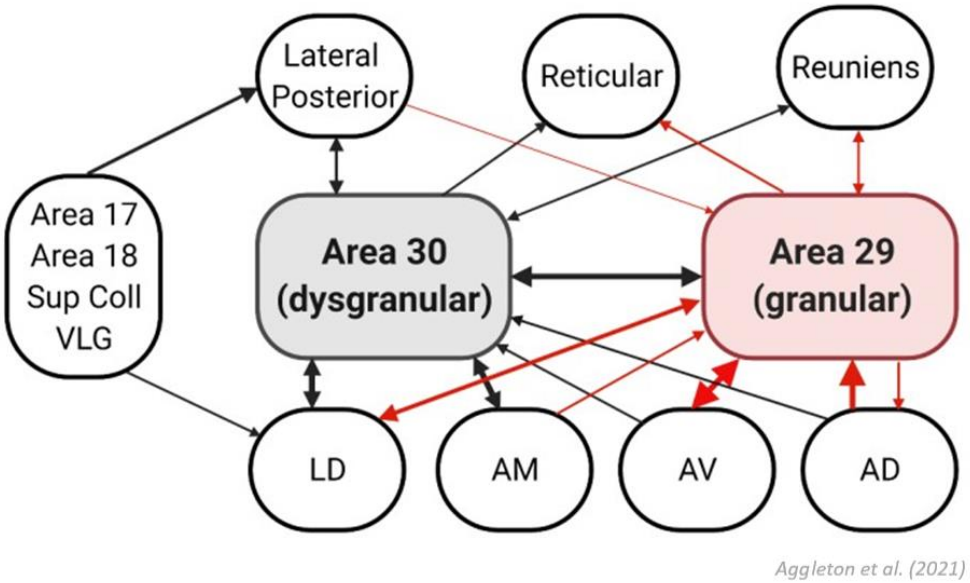


Figure 39. Connectivité thalamique des régions granulaire et dysgranulaire du cortex rétrosplénial
La figure met en évidence les nombreuses différences entre les régions dysgranulaire (« *Area 30* ») et granulaire (« *Area 29* »), notamment la plus grande implication de la région dysgranulaire avec les aires visuelles thalamiques et sous-corticales. Abréviations : AD, noyau antérodorsal ; AM, noyau antéro-médial ; AV, noyau antéro-ventral ; LD, noyau latéral dorsal ; Sup Coll, colliculus supérieur ; VLG, noyau géniculé latéral ventral. L'épaisseur des flèches donne une indication de la force des connexions. *Figure issue de Aggleton et al. (2021).*

Rôles du cortex rétrosplénial

Codage spatial et navigation

Le cortex rétrosplénial permettrait d'intégrer des informations spatiales participant à la formation d'une représentation de l'environnement. De multiples études, chez le primate et le rongeur, montrent qu'il est impliqué de manière importante dans la mémoire, dont l'accès aux informations spatiales de l'environnement (Hindley *et al.*, 2014 ; Aggleton, 2010). Il a alors été proposé que le cortex rétrosplénial contribue à de multiples formes d'apprentissage spatial. Effectivement, des lésions du cortex rétrosplénial suffisent à perturber un apprentissage spatial, que ce soit à la lumière ou dans l'obscurité (Harker et Whishaw, 2004 ; Vann et Aggleton, 2004 ; Pothuizen *et al.*, 2010). Par conséquent, le cortex rétrosplénial s'avère nécessaire à l'utilisation de stratégie de navigation basée sur une carte cognitive. De

plus, les lésions du cortex rétrosplénial empêchent un conditionnement contextuel à la peur (Keene et Bucci, 2008). La stimulation par optogénétique des neurones du cortex rétrosplénial exprimant du *c-fos* dans un contexte de conditionnement, réactive le comportement de peur par un comportement de *freezing* (Cowansage *et al.*, 2014). Ces études suggèrent donc un rôle du cortex rétrosplénial dans le codage du contexte spatial.

Des découvertes d'activité neuronales, ayant des corrélats spatiaux dans le cortex rétrosplénial, viennent renforcer son implication dans la représentation spatiale, notamment depuis la découverte d'un code de « type lieu », confortant l'hypothèse que le cortex rétrosplénial intègre des informations spatiales et participe à la formation d'une carte cognitive. Dans le cortex rétrosplénial, des activités neuronales peuvent signaler la direction de la tête de l'animal (Chen *et al.*, 1994), les mouvements de l'animal (Cho et Sharp, 2001), la présence de bords dans l'environnement (Alexander *et al.*, 2020 ; Van Wijngaarden *et al.*, 2020), la vitesse de mouvement de la tête (Keshavarzi *et al.*, 2021) et également des activités neuronales codant la position comme les cellules de lieu de l'hippocampe (Cho et Sharp, 2001). La comparaison des cellules positionnelles du cortex rétrosplénial avec les cellules de lieu hippocampiques révèle quelques différences (Cho et Sharp, 2001 ; Smith *et al.*, 2012). Les cellules hippocampiques ont généralement des champs de lieu plus focaux, comparés aux champs d'activité des cellules du cortex rétrosplénial qui sont bien plus larges, certains champs pouvant même couvrir l'ensemble d'un couloir dans un labyrinthe en croix (Smith *et al.*, 2012). Outre l'amélioration de la discrimination entre les différents bras du labyrinthe, l'activité des neurones du cortex rétrosplénial peut aussi refléter la trajectoire vers le bras récompensé (Miller *et al.*, 2019 ; Vedder *et al.*, 2017). Il est donc possible que le cortex rétrosplénial représente des contextes distincts au sein d'un environnement, autrement dit il représente un espace local de l'environnement. Aussi, Miller *et al.* (2021) montrent que l'activité spatiale et fréquentielle des cellules du cortex rétrosplénial dissocie deux environnements (c'est-à-dire deux contextes globaux différents ; **Figure 40**). De façon analogue, les cellules bidirectionnelles peuvent présenter des activités locales entre les pièces et les cellules de direction canoniques présentent des activités globales à tout l'environnement. Ces représentations locales et globales pourraient exister au niveau spatial (positionnel), dans le cortex rétrosplénial. Comme les cellules de lieu hippocampiques, l'activité spatiale des cellules du cortex rétrosplénial reste stable à travers de multiples

expositions à une tâche de navigation spatiale (labyrinthe radial). De plus, la stabilité de ces activités est prédictive de la performance de la tâche (Milczarek *et al.*, 2018), ce qui suggère à nouveau un rôle important du cortex rétrosplénial dans la consolidation ainsi que dans l'acquisition de la mémoire spatiale.

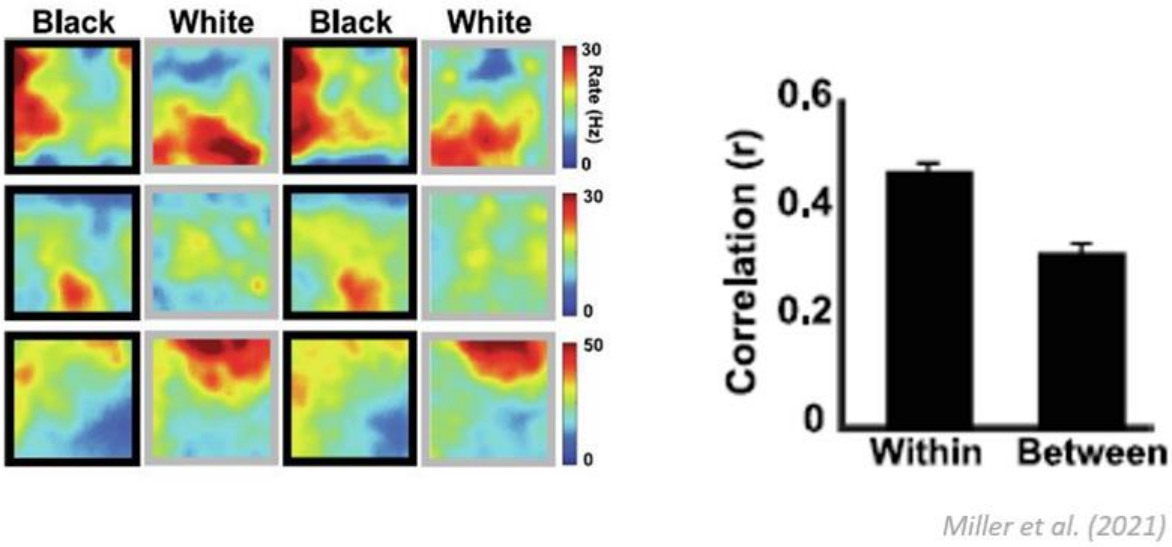


Figure 40. Codage spatial des neurones du cortex rétrosplénial spécifique au contexte
Gauche : trois cartes de fréquence spatiales dans des arènes noire (« *Black* ») et blanche (« *White* »). Ces neurones présentent des activités localisées dans l'espace qui dépendent du contexte. Droite : les corrélations spatiales moyennes pour un même contexte (« *Within* ») sont significativement plus élevées que les corrélations entre contextes (« *Between* »). *Figure issue de Miller et al. (2021).*

Grâce à des études lésionnelles chez les rongeurs, dans une tâche de la piscine de Morris, Sutherland et Hoesing (1993) démontrent l'importance des interactions rétrosplénial-hippocampiques et rétrosplénial-thalamus antérieur dans l'apprentissage spatial. L'inactivation optogénétique des efférences hippocampique-rétrosplénial entraîne une altération de l'acquisition d'une mémoire contextuelle (Opalka et Wang, 2020). En outre, Opalka *et al.* (2020) montrent que les *ripples* hippocampiques activent les interneurones du cortex rétrosplénial pendant le sommeil lent et provoquent une inhibition temporaire du cortex rétrosplénial. Cette étude présente une preuve directe de la médiation des signaux hippocampiques vers le cortex rétrosplénial, peut-être dans le but d'affiner les informations intégrées dans le cortex rétrosplénial (Ranganath et Ritchey, 2012). De plus, Mao *et al.* (2018) montrent que les activités de type « lieu » dans le cortex rétrosplénial se trouvent altérées par

des lésions bilatérales de l'hippocampe, renforçant ainsi l'hypothèse d'un lien fonctionnel entre le cortex rétrosplénial et le système spatial hippocampique. En retour, une inactivation du cortex rétrosplénial induit un recodage spatial de l'activité des cellules de lieu hippocampiques (Cooper et Mizumori, 2001). Cette perte de la stabilité des cellules de lieu suggère que les informations spatiales traitées par le cortex rétrosplénial peuvent probablement mettre à jour la représentation spatiale formée dans l'hippocampe.

Nous verrons par la suite que le cortex rétrosplénial intègre et traite les repères externes stables et pertinents de l'environnement à partir desquels il ancre les activités spatiales des neurones. Le cortex rétrosplénial semble permettre une cartographie spatiale dans laquelle les informations allothétiques peuvent donner accès à la position et à l'orientation dans l'environnement. Les informations idiothétiques semblent également primordiales à l'émergence de ces activités spatiales et peuvent les stabiliser en l'absence de repères externes. Toutes ces informations peuvent être intégrées selon différents points de vue (égocentré ou allocentré) et à différentes échelles (locale ou globale) au sein de la représentation spatiale du cortex rétrosplénial.

Repères visuels

Compte tenu des nombreuses projections visuelles parvenant au cortex rétrosplénial, les lésions de ce dernier impactent probablement tout comportement de navigation et d'orientation, s'appuyant sur les informations visuelles. En effet, les rats présentant des lésions du cortex rétrosplénial rencontrent des difficultés dans une tâche de labyrinthe radial : les animaux ne parviennent pas à réaliser la tâche lorsqu'ils doivent s'appuyer sur des repères visuels distaux (Pothuizen *et al.*, 2008). De même, la capacité à intégrer l'emplacement d'une plateforme cachée dans une piscine de Morris, à partir de repères distaux, se trouve altérée à la suite de lésions du cortex rétrosplénial (Harker et Whishaw, 2004 ; Vann et Aggleton, 2004). Enfin des lésions de la partie dysgranulaire du cortex rétrosplénial, qui reçoit la grande majorité des informations visuelles, empêchent les animaux de naviguer sur la base de repères visuels, les forçant à utiliser une stratégie motrice (Vann et Aggleton, 2005).

De manière similaire, des patients humains souffrant d'une lésion du cortex rétrosplénial ne parviennent pas à s'orienter à partir de repères visuels, bien que ces repères soient familiers

et que les patients parviennent à les reconnaître correctement (Takahashi *et al.*, 1997). Ils sont incapables d'utiliser des repères pour se déplacer dans un environnement familier et d'apprendre de nouveaux itinéraires (voir la revue de Maguire, 2001), ce qui suggère que le cortex rétrosplénial est essentiel pour s'orienter sur la base des repères visuels, également chez l'humain.

D'un point de vue électrophysiologique, des études chez les rongeurs ont montré un encodage des repères spatiaux dans le cortex rétrosplénial. Dans une tâche de labyrinthe en T, dans laquelle l'emplacement d'une récompense est signalé par un repère lumineux, les neurones du cortex rétrosplénial augmentent leur fréquence d'activité lorsque le repère s'allume (Vedder *et al.*, 2017). Plus spécifiquement, Pothuizen *et al.* (2009) démontrent que le cortex rétrosplénial dysgranulaire serait impliqué dans le traitement des repères visuels, comme en atteste une augmentation de l'expression de *c-fos* dans une tâche spatiale dans un labyrinthe radial en présence de repères visuels. Alors que le cortex rétrosplénial granulaire serait impliqué à la fois dans le traitement des repères visuels et non visuels.

Bien que les informations visuelles parviennent massivement au cortex rétrosplénial, elles ne semblent pas être les seules à pouvoir moduler son activité. Les informations issues du mouvement, probablement intégrées en majorité dans le cortex rétrosplénial granulaire, peuvent aussi être traitées et participeraient à la modulation des activités spatiales du cortex rétrosplénial, en cohérence avec les informations visuelles.

Informations visuelles et idiothétiques

Plusieurs études mettent en évidence que la cohérence des signaux visuels et idiothétiques donnent lieu à une activité spatiale et directionnelle, dans le cortex rétrosplénial. En effet, l'activité des cellules de direction du cortex rétrosplénial est modulée par des repères visuels mais aussi par la vitesse angulaire de la tête (Lozano *et al.*, 2017). Fischer *et al.* (2020) analysent l'activité cérébrale chez des souris en réalité virtuelle qui sont engagées dans une tâche de recherche de nourriture dont l'emplacement peut être identifié grâce à des repères visuels. Les auteurs constatent que les repères servent de points de référence pour la plupart des neurones présentant une activité spatiale dans l'environnement. Dans le but de provoquer un conflit entre les informations visuelles et idiothétiques, les expérimentateurs découplent

la vitesse de mouvement des images de l'environnement virtuel avec celle de la locomotion des souris. Ce conflit entre les informations visuelles et idiothétiques entraîne une perte de sélectivité spatiale des cellules et fournit une preuve que ces activités, dans le cortex rétrosplénial, résultent d'une intégration des informations visuelles et idiothétiques. Dans une tâche en réalité virtuelle, Mao *et al.* (2020) observent que, lorsque les informations du flux optique deviennent les seules disponibles (sans repère visuel distinctif) et qu'elles sont dissociées de la locomotion de l'animal, l'activité des cellules est contrôlée par les informations idiothétiques et non par le flux optique. Ce résultat suggère que l'activité spatiale des neurones du cortex rétrosplénial repose sur la cohérence des repères visuels et idiothétiques et, qu'en fonction de la disponibilité des repères et de leur fiabilité, l'activité spatiale peut être altérée ou certaines informations peuvent prendre le contrôle sur d'autres.

D'un point de vue comportemental, Elduayen et Save (2014) constatent que, dans une tâche d'intégration des trajets, le cortex rétrosplénial est indispensable dans l'obscurité. Aussi, dans une tâche d'alternance dans un labyrinthe en T, des lésions du cortex rétrosplénial empêchent les animaux d'alterner correctement leurs trajectoires entre les voies dans l'obscurité (Pothuizen *et al.*, 2008). Ce résultat suggère qu'au-delà du traitement des repères visuels, le cortex rétrosplénial est également nécessaire à l'intégration des informations idiothétiques, pour naviguer correctement et d'autant plus en absence de repères allothétiques.

Toutes ces études mettent en évidence que le cortex rétrosplénial serait indispensable au traitement d'informations spatiales de nature visuelle et idiothétique. D'autres études suggèrent également que d'autres informations allothétiques peuvent être intégrées par le cortex rétrosplénial.

Intégrations multisensorielles

Au regard des connexions du cortex rétrosplénial avec des cortex associatifs (comme le cortex préfrontal et pariétal) ainsi que les structures sous-corticales, il est particulièrement bien placé pour intégrer les différents types de repères allothétiques afin de former une représentation spatiale stable de l'environnement.

Hindley *et al.* (2014) montrent que des rats, présentant des lésions du cortex rétrosplénial dysgranulaire, se trouvent dans l'incapacité de reconnaître un objet exploré dans l'obscurité lorsqu'ils le perçoivent à la lumière, et inversement, ce qui met en évidence le rôle du cortex rétrosplénial dans le transfert de modalité (visuel à tactile et inversement). L'étude de Mao *et al.* (2017) vient renforcer l'hypothèse d'un traitement des informations tactiles par le cortex rétrosplénial, en observant que, le long d'un couloir virtuel, l'encodage de la position des animaux est ancré spatialement sur des repères tactiles (placés au sol sur un tapis roulant). Lande *et al.* (2023) montrent également un codage important de la position à partir de repères tactiles détectés par le mouvement des vibrisses[7]. Les informations tactiles de l'environnement peuvent alors, comme les repères visuels, contrôler l'activité spatiale des neurones du cortex rétrosplénial.

Le cortex rétrosplénial semble donc capable d'intégrer les informations allothétiques pertinentes, à partir desquelles des activités de position peuvent être ancrées, en cohérence avec les informations idiothétiques. Cependant, pour s'orienter à partir de repères allothétiques il faut identifier les repères stables, et dans ce sens, plusieurs études chez l'animal et l'humain suggèrent fortement que le cortex rétrosplénial est sensible à la stabilité des repères.

Stabilité des repères

L'utilisation de repères stables peut fournir des informations essentielles pour s'orienter et pour ancrer des activités spatiales. Lozano *et al.* (2017) montrent que les cellules de direction du cortex rétrosplénial de rats maintiennent une direction préférentielle stable par rapport à des repères visuels, ce qui indique que ces cellules peuvent s'orienter de manière fiable grâce aux repères stables de l'environnement. De plus, à la suite de lésions du cortex rétrosplénial, Clark *et al.* (2010) constatent une diminution de la stabilité des cellules de direction du noyau antérodorsal du thalamus, ainsi qu'une réduction de l'influence des repères visuels sur leur direction préférentielle (**Figure 41**). Aussi, Murakami *et al.* (2015) trouvent, chez la souris, de fortes réponses neuronales à la présentation visuelle de motifs de grille se déplaçant à faible

[7] Ces signaux des vibrisses proviennent surement du cortex à tonneaux qui projette sur le cortex pariétal postérieur qui lui-même projette vers le cortex rétrosplénial, ou *via* le cortex entorhinal, le perirhinal, le claustrum ou le noyau spinal du trijumeau qui projette sur le noyau latero-dorsal du thalamus.

vitesse. Cette activité parait indiquer une disposition à coder des informations visuelles stables dans une scène visuelle.

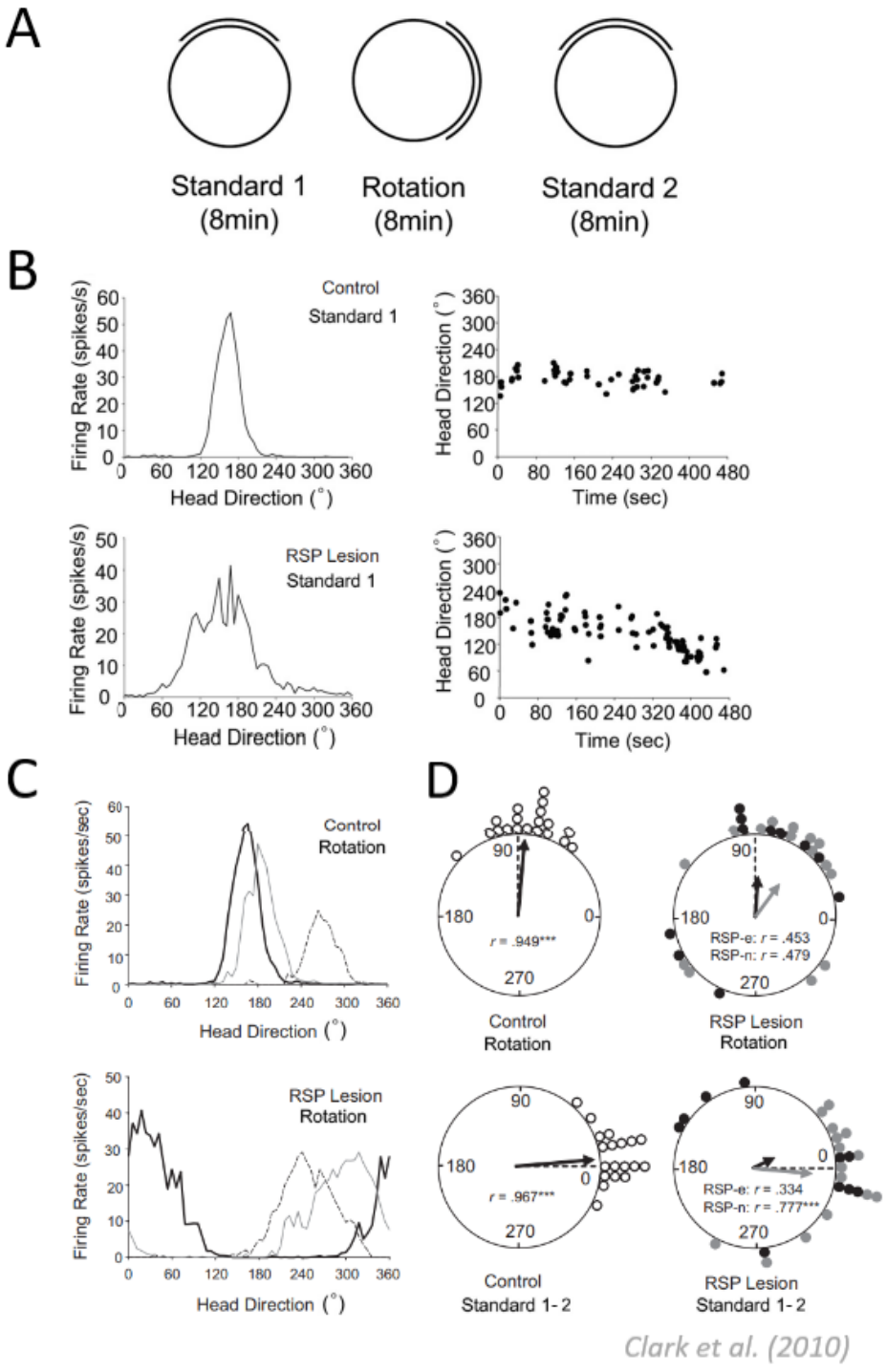


Figure 41. Perte de la stabilité des cellules de directions du thalamus antérodorsal par suite des lésions du cortex rétrosplénial

A. Protocole de rotation de 90° du repère visuel placé sur la paroi lors de la deuxième session (« *Rotation* »).

B. Gauche : exemples de deux cellules de direction de la tête au cours de la session « *Standard 1* » d'un animal contrôle (haut) et d'un animal présentant une lésion électrolytique du cortex

rétrosplénial (bas). Droite : direction préférentielle de la cellule en fonction du temps (mesurée sur toute la session de 8 minutes). La direction préférentielle de l'animal contrôle est très stable au cours de la session « *Standard 1 »*. En revanche, chez l'animal lésé, la direction préférentielle de la cellule dérive significativement au cours de la session.
C. Exemples de deux cellules de direction de la tête d'un animal contrôle (en haut) et d'un animal présentant une lésion du cortex rétrosplénial (en bas) lors du protocole de rotation du repère visuel. Les lignes noires pleines indiquent les sessions « *Standard 1 »*, les lignes grises pleines indiquent les sessions « S*tandard 2 »*, et les lignes en pointillé représentent la session de « *Rotation* ». La direction préférentielle de la cellule de l'animal contrôle se décale de 90° en suivant le repère lors de la session « *Rotation »*. En revanche, la direction préférentielle de la cellule du rat lésé ne suit pas le repère puisqu'elle tourne dans le sens opposé et ne revient pas à son orientation initiale lors de la session « *Standard 2* ».
D. Haut : graphiques polaires montrant le décalage angulaire de la direction préférentielle entre les sessions « *Standard 1* » et « *Rotation* » chez les rats contrôle (gauche) et les rats lésés (droite). Pour le groupe avec lésion, les cercles noirs représentent les valeurs de décalage des animaux ayant subi des lésions électrolytiques, tandis que les cercles gris représentent les valeurs de décalage pour les rats ayant subi des lésions neurotoxiques. Les flèches indiquent l'angle du vecteur moyen observé, et la ligne en pointillé indique le vecteur attendu à 90° si les valeurs du décalage angulaire étaient parfaitement prédites par la rotation du repère. Les valeurs de longueur du vecteur moyen (r) sont indiquées dans le graphique et représentées par la longueur de la flèche. Bas : graphiques polaires montrant le décalage angulaire de la direction préférentielle des cellules de direction entre les sessions « *Standard 1 »* et « *Standard 2* » chez les rats contrôles (gauche) et les rats lésés (droite). Le point 0° indique le vecteur attendu si les valeurs du décalage sont parfaitement prédites par la rotation du repère. Les longueurs des vecteurs moyens sont considérablement plus faibles pour les deux groupes d'animaux lésés lors de la session de rotation, ainsi que pour le groupe avec lésion électrolytique lors de la deuxième session standard. *Figure issue de Clark et al. (2010).*

Chez l'humain, des études d'imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle montrent que des repères perçus comme stables induisent une réponse spécifique du cortex rétrosplénial (Auger *et al.*, 2012, 2018 ; Epstein et Vass, 2014) et des patients atteints de lésions du cortex rétrosplénial perdent la capacité à utiliser des repères pour s'orienter (Iaria *et al.*, 2007). Les rats présentant des lésions du cortex rétrosplénial ne parviennent pas à utiliser des repères spatiaux allocentrés pour naviguer (Vann et Aggleton, 2005).

Grâce à des recherches en imagerie cérébrale chez l'humain (Park et Chun, 2009 ; Epstein et Vass, 2014) et chez les macaques (Kornblith *et al.*, 2013), il a été montré que le cortex rétrosplénial fait partie d'un réseau impliqué dans le traitement des scènes visuelles et comprenant les aires parahippocampiques et le cortex occipital. Ces études révèlent que le

cortex rétrosplénial est impliqué dans l'intégration de scènes visuelles similaires, ce qui s'avère cohérent avec son rôle dans l'intégration des repères stables (Park et Chun, 2009).

Cette activité ancrée à la stabilité des repères peut permettre de lier plusieurs vues locales contenant des repères communs fiables et d'intégrer toutes ces vues locales dans une représentation allothétique. Des repères perçus d'un point de vue égocentré peuvent alors être transformés dans un système de coordonnées allocentré, facilitant ainsi la formation d'une représentation stable et une orientation flexible dans l'environnement.

Cadres de référence égocentré et allocentré

Le cortex rétrosplénial est connu pour jouer un rôle dans la transformation des informations spatiales perçues dans un référentiel égocentré (comme une scène visuelle) en un référentiel allocentré (Dhindsa *et al.*, 2014 ; Robertson *et al.,* 2016 ; Byrne *et al.*, 2007 ; Bicanski et Burgess, 2018 ; Clark *et al.*, 2018). En effet, un grand nombre d'études en imagerie chez l'humain montrent des réponses du cortex rétrosplénial lorsque les sujets s'orientent selon différents points de vue (Epstein *et al.*, 2017).

Des données provenant d'enregistrements unitaires confirment également le rôle du cortex rétrosplénial dans la transformation des cadres de référence spatiaux dans la navigation. Lorsque des animaux parcourent des labyrinthes identiques (en forme de « W »), situés à différentes positions dans une pièce, Alexander et Nitz (2015) constatent que les neurones du cortex rétrosplénial encodent à la fois des informations de position au sein du labyrinthe, les séquences de virage, l'emplacement du labyrinthe dans la salle expérimentale et la direction de la tête (**Figure 42**). Les auteurs concluent que le cortex rétrosplénial est unique, en ce sens qu'il possède des neurones dont l'activité spatiale est simultanément sensible aux cadres de référence allocentré (centrés sur le labyrinthe ou sur la pièce expérimentale) et égocentré (les virages). Les auteurs identifient le cortex rétrosplénial comme une structure clé pouvant médier de multiples formes d'informations spatiales, ce qui permet probablement des déplacements flexibles et efficaces, surtout dans des environnements complexes.

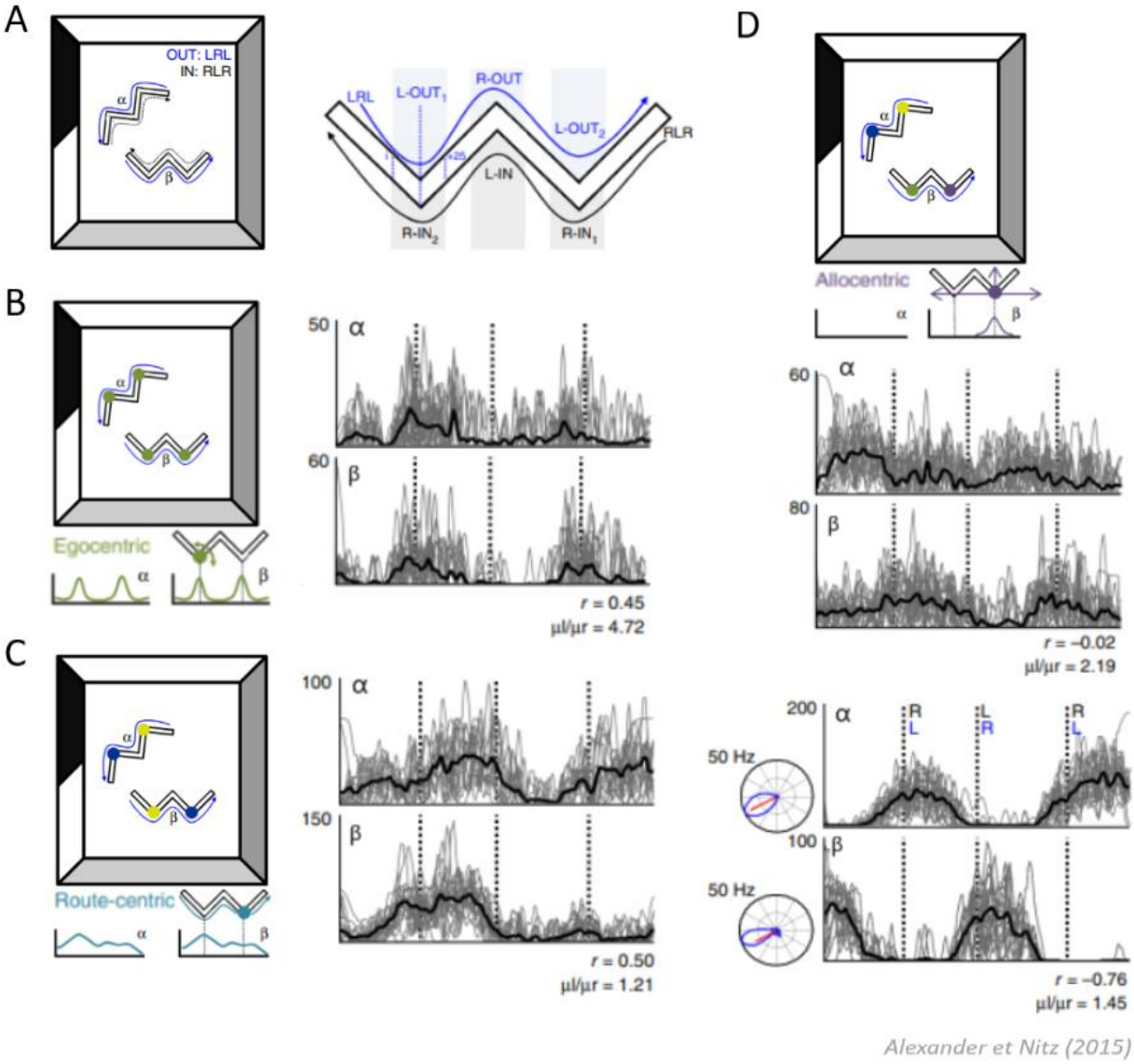


Figure 42. Sensibilité des neurones du cortex rétrosplénial à différents cadres de référence
A. Les animaux parcourent dans un labyrinthe en forme de « W », dans les deux sens de trajectoire (gauche-droite-gauche : « *LRL* » et droite-gauche-droite : « *RLR* »). Le labyrinthe est positionné à deux emplacements distincts (« α » et « β ») de la pièce expérimentale.
B-D. Gauche : schéma de l'activité hypothétique d'un neurone ancré sur (**B**) un cadre de référence égocentré (dépendant des virages à gauche ou à droite ; « *Egocentric* »), (**C**) un cadre de référence centré sur le labyrinthe (dépendant de la position dans le labyrinthe ; « *Route-centric* ») et sur (**D**) un cadre de référence allocentré (dépendant de la position dans la pièce expérimentale ; « *Allocentric* »). Droite : l'activité moyenne (tracés épais) et les essais individuels (tracés fins) au cours d'une trajectoire à travers le labyrinthe, enregistrée aux emplacements α et β de la pièce expérimentale. Pour chaque neurone, les corrélations α/β et les ratios de l'activité aux virages (gauche/droite) sont également indiqués.
B. Exemple d'un neurone sensible au cadre de référence égocentré, avec des pics d'activité accompagnant systématiquement les virages à droite aux deux emplacements du labyrinthe dans la pièce expérimentale.

C. Exemple d'un neurone sensible au cadre de référence centré sur le labyrinthe, avec des activités dépendantes de la position de l'animal dans le labyrinthe, mais pas de la position du labyrinthe dans la pièce expérimentale.
D. Les deux graphiques du haut montrent l'activité d'un neurone différenciant les emplacements α et β du labyrinthe (cadre de référence allocentré). Les deux graphiques du bas montrent un neurone qui répond à la direction de la tête de l'animal, dans un cadre de référence allocentré (les graphiques polaires de l'activité directionnelle pour chaque emplacement α et β sont affichés à gauche). *Figures issues de Alexander et Nitz (2015).*

Une preuve directe de la transformation des référentiels égocentré et allocentré provient de la découverte d'un type particulier de cellules du cortex rétrosplénial, principalement enregistrées dans la région dysgranulaire : des cellules ayant simultanément des corrélats d'activité égocentrée et liée aux limites d'un environnement (Van Wijngaarden *et al.*, 2020). Ces cellules s'activent lorsque l'animal se trouve à une certaine distance des murs d'un environnement. Leur activité s'avère indépendante du contexte et se maintient dans l'obscurité ou après le retrait des murs (le vide devant être perçu comme une limite). Ces activités de bord ou de limite sont probablement fournies par le cortex entorhinal médian, car son inactivation provoque la perte de ces activités conjointes égocentrées et de bord dans le cortex rétrosplénial (Van Wijngaarden *et al.*, 2020 ; **Figure 43**). Parmi ces cellules, 40% s'activent en fonction de la distance de l'animal par rapport aux murs mais aussi, de sa direction par rapport aux murs. Ces « *egocentric boundary vector cells* » encodent donc un signal conjoint de limite et de direction (Alexander *et al.*, 2020).

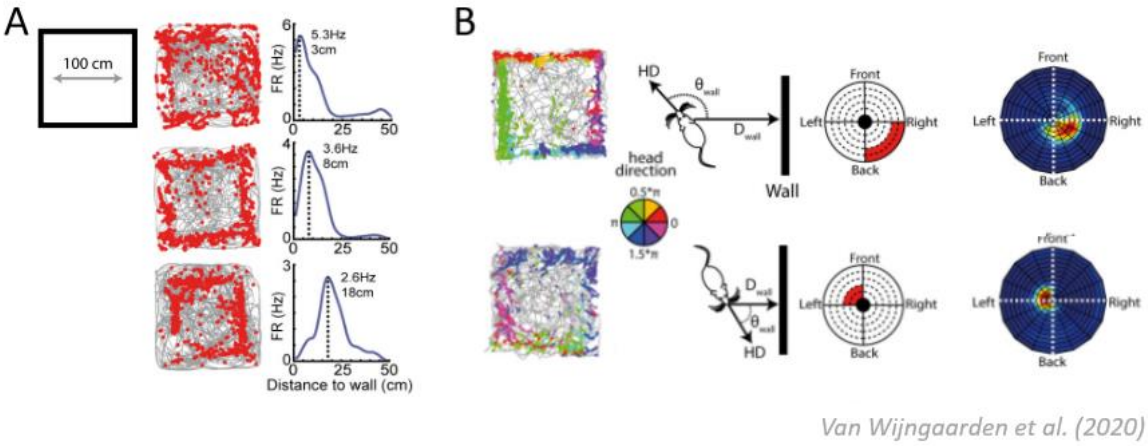


Figure 43. Cellules de bord du cortex rétrosplénial
A. Gauche : les animaux explorent librement une arène carrée. Milieu : trois exemples de trajectoires (ligne grise) avec la position de l'animal à chaque potentiel d'action émis par une cellule de bord (points rouges). Droite : la fréquence d'activité de chaque cellule en fonction de la distance du mur le plus proche.
B. Certaines cellules de bord du cortex rétrosplénial présentent une activité égocentrée. Gauche : deux exemples de trajectoires (ligne grise) dont chaque point représente la position de l'animal et la direction de sa tête (selon le code couleur) pour chaque potentiel d'action émis par une cellule de bord égocentrée. Milieu : les données de trajectoire sont projetées sur un graphique polaire centré sur le corps par rapport au mur, où les coordonnées indiquent la distance (« *D wall* ») et la direction (« θ *wall* ») du mur le plus proche par rapport à la position et la direction de la tête de l'animal, respectivement. Droite : cartes de fréquence dans cet espace de bord. *Figure issue de Van Wijngaarden et al. (2020).*

L'existence même de ces cellules met en évidence une transformation entre les référentiels égocentré et allocentré dans le cortex rétrosplénial. Une telle activité renforce donc l'hypothèse selon laquelle le cortex rétrosplénial forme une représentation conjointe égocentrée et allocentrée. Dans un environnement connecté, ces points de vue égocentré et allocentré peuvent eux-même être placés dans un cadre de référence local (au sein d'une pièce) ou global (dans tout l'environnement).

Cadres de références locaux et globaux

Parallèlement aux transformations entre les référentiels égocentré et allocentré, le cortex rétrosplénial semble pouvoir supporter des représentations locale et globale.

Dans une étude d'IRM fonctionnelle, réalisée par Marchette *et al.* (2014), les auteurs demandent aux participants d'explorer un environnement virtuel composé de plusieurs pièces ayant des orientations différentes. Chaque pièce possède des repères qui, bien que différents (objets et tableaux), sont disposés de manière similaire entre les pièces, ce qui leur confère une orientation interne similaire. L'activité du cortex rétrosplénial montre une activité similaire entre les pièces, pour une position et une orientation donnée au sein de chaque pièce (référentiel local). Ces résultats suggèrent que le cortex rétrosplénial encode principalement les caractéristiques locales de l'environnement. Cette activité locale peut rappeler celle des cellules bidirectionnelles du cortex rétrosplénial.

Cependant, il est possible, dans l'étude de Marchette *et al.,* que les sujets ne mettent pas en place une représentation globale de l'environnement car la tâche ne le nécessite pas. En effet, il est probable que les repères des différentes pièces n'aient pas besoin d'être mis en relation les uns avec les autres dans un cadre de référence global. Une activité globale soutenue par le cortex rétrosplénial n'est donc pas à exclure. Dans l'étude de Shine *et al.* (2016), des sujets explorent un environnement virtuel composé de plusieurs pièces contenant divers repères et à l'extérieur des pièces, des repères distaux permettent de lier les pièces dans un cadre de référence global (à la différence de l'étude de Marchette *et al.*). En outre, avant de commencer les tests, pour s'assurer que les sujets ont bien appris à se repérer dans l'environnement, les expérimentateurs leur demandent de pointer la direction des repères distaux lorsqu'ils se trouvent dans une pièce (les obligeant à mettre en relation l'orientation de chaque pièce avec les repères extérieurs distaux). Lors du test, les sujets doivent indiquer l'orientation d'un repère de l'environnement par rapport à un autre. Dans cette situation, des réponses relatives à l'orientation globale sont identifiées dans le cortex rétrosplénial. Cette activité serait, cette fois, plutôt comparable à celle des cellules de direction canoniques, qui maintiennent une activité stable entre les pièces dans l'étude de Jacob *et al.* (2017). De même, Kim et Maguire (2018) demandent à des sujets d'apprendre l'emplacement de tableaux dans une galerie virtuelle, composée de plusieurs pièces réparties sur plusieurs niveaux, entre lesquelles ils peuvent naviguer. Les résultats en IRM fonctionnelle révèlent que le cortex rétrosplénial dissocie les pièces au sein du bâtiment. Il se pourrait donc que, selon le type d'environnement, de repères et de tâche comportementale à réaliser, les représentations locale et globale coexistent dans le cortex rétrosplénial. L'apparition d'un cadre de référence global dans un

environnement connecté dépend très probablement de l'utilisation des informations de mouvement. En effet, il faut se déplacer entre les différentes pièces locales pour pouvoir les relier et les orienter les unes par rapport aux autres et ainsi former une représentation globale les contenant toutes. Dans ce sens, Lei *et al.* (2019) identifient que des sujets peuvent développer des représentations globales de plusieurs environnements locaux grâce à une navigation active entre les différentes pièces. Un cadre de référence local se distingue donc d'un cadre de référence global par les informations de bord, qui séparent les différents espaces et contraignent les mouvements. Au contraire, les mouvements pouvant de relier plusieurs pièces locales, ainsi que les informations de topologie, permettent de former un cadre de référence global. Le codage de la topologie, qui consiste à représenter des éléments reliant différents espaces locaux (l'exemple le plus simple de ces éléments serait les portes), s'accord au rôle du cortex rétrosplénial dans la représentation de repères stables. Ces représentations sont susceptibles de varier en fonction des exigences comportementales de la tâche et des repères disponibles, les repères distaux pouvant remplacer ou compléter la signification des repères topologiques.

Alexander et Nitz (2017) montrent qu'après un entraînement intensif, certains neurones du cortex rétrosplénial présentent des pics d'activité périodiques, au cours de de la trajectoire de l'animal, autour du bord et des coins d'un labyrinthe. L'activation périodique à différentes échelles (quart, moitié et itinéraire complet), laisse suggérer que le cortex rétrosplénial encode simultanément plusieurs espaces locaux. D'un autre côté, cette activité répétée, reflète également la structure globale du labyrinthe. De même, dans l'étude de Alexander et Nitz (2015), des cellules présentent une activité dépendante de la position de l'animal au sein du labyrinthe, et d'autres, de la position du labyrinthe au sein de la pièce expérimentale. Il semble donc possible que le cortex rétrosplénial intègre la position d'un animal dans des cadres de référence locaux et globaux simultanément. Ce type d'activité spatiale locale et globale viendrait compléter la découverte de cellules bidirectionnelles enregistrées en même temps que des cellules de direction canonique (Jacob *et al.*, 2017).

Pour conclure, le cortex rétrosplénial est défini comme une structure indispensable à l'orientation et la navigation, surtout lorsqu'elle est basée sur une stratégie reposant sur une carte cognitive, c'est-à-dire quand l'intégration et l'utilisation des repères allothétiques est

indispensable. L'activité du cortex rétrosplénial se montre sensible aux informations visuelles, mais traite aussi des informations auditives et tactiles afin d'extraire leur stabilité et ancrer des activités spatiales et directionnelles sur ces repères. Le cortex rétrosplénial permet aussi la transformation des cadres de référence selon différents points de vue (égocentré et allocentré) ou différentes échelles (locale et globale). Cette variété de l'intégration des informations spatiales dans le cortex rétrosplénial constitue certainement sa singularité fonctionnelle au niveau de la cognition spatiale. C'est pourquoi le cortex rétrosplénial présenterai un grand intérêt pour la représentation d'environnements complexes, comme les environnements connectés. Il semble être une région clé permettant de naviguer de manière efficace et flexible dans de tels environnements, et la découverte de cellules multidirectionnelles dans les environnements connectés peut renforcer ce rôle.

Se pose alors la question de l'implication des cellules bidirectionnelles et directionnelles classiques dans la représentation d'environnements connectés. Le cortex rétrosplénial est sensible à la stabilité des repères et à la répétition de scènes visuelles, par conséquent l'ambiguïté d'un environnement composé de deux pièces visuellement identiques (comme dans l'étude de Jacob *et al.,* 2017) pourrait induire ces activités bidirectionnelles. Leur activité constituerait donc surtout une réponse aux repères de pièces identiques et opposées, d'autant que ces cellules bidirectionnelles sont majoritairement enregistrées dans la région dysgranulaire, qui reçoit des entrées visuelles massives. Au contraire, les cellules de direction canoniques de la région granulaire stables et unidirectionnelles, seraient plutôt modulées par les informations idiothétiques (bien que les repères visuels permettent très probablement de maintenir une direction stable). L'un des objectifs de mon travail de recherche a consisté à comprendre si, et de quelle manière, les activités générées au sein du cortex rétrosplénial permettraient de se repérer, s'orienter et se déplacer dans des environnements complexes.

Contributions expérimentales

Les travaux développés dans les chapitres précédents démontrent que les propriétés électrophysiologiques des neurones de la cognition spatiale varient selon de multiples facteurs. De simples facteurs internes, tels que l'état attentionnel ou l'engagement dans une tâche, peuvent déjà impacter l'activités des cellules spatiales. Il apparaît alors qu'au sein d'un environnement peuvent exister de multiples représentations. Aussi, des facteurs externes, comme les caractéristiques environnementales (les repères disponibles, la taille de l'environnement, sa géométrie, sa topologie…) peuvent également influencer l'activité des neurones spatiaux. La notion traditionnelle de carte cognitive, définie comme une représentation interne rigide des relations spatiales et des caractéristiques de l'environnement, devient insuffisante pour expliquer l'activité des cellules spatiales dans des environnements ou lors de comportements plus complexes. En effet, dès que des animaux sont engagés dans des tâches ou se déplacent dans des environnements plus naturels, les cellules spatiales ne se contentent plus de coder de manière statique les positions ou orientations dans l'environnement. Dans leur milieu naturel, les animaux se trouvent constamment confrontés à des changements, et une carte flexible capable d'intégrer de multiples paramètres peut donc s'avérer indispensable à leur survie.

L'objectif de cette thèse consiste donc à montrer que la complexité d'un environnement, qu'elle résulte de caractéristiques spatiales ou des comportements des animaux, peut moduler l'activité des neurones spatiaux et révéler des propriétés inconnues de ces cellules. Etudier les activités neuronales dans des environnements et des tâches complexes, proches de conditions naturelles, devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent les représentations internes de l'environnement ou du contexte ainsi que les processus neuronaux de la navigation.

Mes travaux principaux de thèse portent sur la représentation d'environnements composés de pièces connectées, en explorant les activités électrophysiologiques du cortex rétrosplénial et de l'hippocampe. Comme présenté dans les chapitres précédents, la découverte d'une nouvelle classe de cellules de direction dans les environnements connectés (Jacob *et al.*, 2017)

soulève des questions cruciales sur leurs propriétés et leur rôle dans la représentation de ces environnement complexes.

Dans une seconde partie, je présenterai ma contribution à une étude qui examine comment les cellules de lieu et les cellules de grille représentent une zone saillante de l'environnement qui est dissociée de la position de la récompense. Cette étude permet, d'une part, de mieux comprendre comment l'engagement dans une tâche dirigée vers un but peut influencer l'activité de ces cellules spatiales, et d'autre part, de déterminer comment un but purement spatial est encodé.

Etude 1 : Représentation d'environnements composés de pièces connectées

Dans son environnement naturel, un rongeur doit se déplacer entre les galeries de son terrier ou les souterrains d'une ville. Ces environnements sont constitués de plusieurs espaces connectés que les animaux doivent connaître afin de se déplacer vers leurs divers buts. Comprendre comment le cerveau traite l'information spatiale dans ce type d'environnement complexe s'avère crucial pour expliquer comment une navigation efficace et flexible peut se mettre en place. Ces environnements connectés peuvent se rapprocher d'environnements dans lesquels les humains évoluent tous les jours, tels qu'une maison composée de plusieurs pièces connectées ou un couloir donnant accès à plusieurs bureaux de travail. Le travail central de cette étude est d'analyser les corrélats neuronaux de la position et de la direction selon plusieurs échelles spatiales, de la pièce (*i.e.* local) à l'ensemble des pièces connectées (*i.e.* global). Pour ce faire, nous avons étudié des rats qui se déplaçaient dans des environnements composés de pièces connectées. Afin de se repérer, un animal doit identifier et distinguer chaque pièce (référentiel local) et simultanément connaître la structure de l'environnement entier (référentiel global). J'ai émis l'hypothèse que le cerveau présentait simultanément des activités locales distinctes entre chaque pièce et des activités globales maintenues à travers tout l'environnement. Les différents signaux de direction de la tête découverts récemment dans le cortex rétrosplénial, pointent cette région du cerveau comme support possible à la fois d'une activité spatiale locale, notamment avec les cellules multidirectionnelles, et globale avec les cellules de direction classiques. Nous avons testé cette hypothèse en enregistrant les neurones du cortex rétrosplénial dans des environnements constitués de deux ou quatre pièces connectées, identiques ou différentes .

Hypothèse :

Dans un environnement composé de plusieurs pièces connectées, les cellules multidirectionnelles soutiennent-elles des représentations locales de l'environnement et les cellules de direction canoniques soutiennent-elles une représentation globale ?

Dans cette étude j'ai confectionné les implants cérébraux, les animaux ont été opérés par Pierre-Yves Jacob et moi-même. J'ai réalisé les enregistrements électrophysiologiques et les analyses. J'ai écrit et interprété les résultats en collaboration avec David Smith, Francesca Sargolini et Pierre-Yves Jacob : les auteurs de l'article, soumis à la revue *iScience*.

Le cortex rétrosplénial encode à la fois des espaces locaux et globaux dans des environnements connectés

Introduction

Des études récentes ont décrit de nouvelles classes de neurones codant l'environnement spatial dans le cortex rétrosplénial, notamment les cellules multidirectionnelles (MDCs[8]) qui ne peuvent être observées que dans des environnements complexes composés de pièces connectées (Alexander *et al.*, 2020 ; Jacob *et al.*, 2017 ; Subramanian et Smith, 2024 ; Zhang *et al.*, 2022). Contrairement à une cellule de direction de la tête (HDC) classique, qui maintient une activité directionnelle préférentielle unique (PFD) à travers différentes pièces connectées, une MDC change de PFD entre les pièces, ce qui entraine au niveau de l'activité directionnelle globale une décharge bidirectionnelle dans un environnement connecté composé de 2 pièces connectées ou tétradirectionnelle dans un environnement connecté composé de 4 pièces connectées. De plus, un environnement unique et homogène tel qu'une arène fermée par 4 murs ou circulaire ne suffit pas à révéler l'activité multidirectionnelle des MDCs.

Le rôle fonctionnel des MDCs dans le cortex rétrosplénial reste inconnu. D'un point de vue plus large, le cortex rétrosplénial est impliqué dans un ensemble de fonctions cognitives, dont la navigation et la mémoire épisodique (Miller *et al.*, 2019 ; Mitchell *et al.*, 2018 ; Sherril *et al.*, 2013 ; Takahashi *et al.*, 1997 ; Vedder *et al.*, 2016). Les découvertes de ces fonctions ne sont pas surprenantes compte tenu des connexions anatomiques entre le cortex rétrosplénial, le cortex entorhinal médial et l'hippocampe, qui sont des structures clés de la cognition spatiale (Cenquizca et Swanson, 2007 ; Czajkowski *et al.*, 2013 ; Jones et Witter, 2007 ; Naber *et al.*, 2001 ; Sugar et Witter, 2016 ; Van Groen et Wyss, 1992, 2003 ; Vogt et Miller, 1983).

En outre, le cortex rétrosplénial reçoit des projections fortes des aires visuelles primaires (Vogt et Miller, 1983 ; Wyss et Van Groen, 1992, 2003 ; Yoder *et al.*, 2011). Étant donné que la vision joue un rôle majeur dans la navigation, il est probable que le cortex rétrosplénial traite des caractéristiques visuelles de l'environnement afin d'ancrer le système directionnel à différents

[8] MDC est utilisé dans la littérature comme acronyme de « *multidirection cell* », je l'emploie donc par convention. Les acronymes « HDC », « BDC » et « PFD » sont également issus de la littérature, respectivement pour « *head direction cell* », « *bidirection cells* » et « prefered firing direction ».

cadres de référence. Les résultats des études d'imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle chez l'humain confirment cette hypothèse, mais sont contradictoires. Certaines études mettent en évidence un rôle spécifique du cortex rétrosplénial dans le codage d'une représentation spatiale selon des cadres de références locaux, tandis que d'autres soulignent son implication dans le codage de l'espace selon un cadre de référence global (Kim et Maguire, 2018 ; Marchette *et al.*, 2014 ; Peer *et al.*, 2019 ; Shine *et al.*, 2016 ; Sulpizio *et al.*, 2013). L'existence des HDCs et des MDCs au sein du cortex rétrosplénial permet peut-être de concilier ces deux points de vue opposés. Puisque les MDCs changent leur PFD entre des pièces connectées, elles pourraient être le support d'un cadre de référence local. Inversement, les HDCs peuvent aider à construire un cadre de référence global puisque leur PFD reste stable à travers les différentes pièces connectées.

Les études précédentes sur les MDCs ont été réalisées en utilisant des pièces connectées visuellement et tactilement identiques, ce qui rend ces pièces spatialement ambiguës et donc probablement difficiles à distinguer. Cette ambigüité de pièces identiques opposées ou orthogonales pourrait générer une activité multidirectionnelle artificielle. Pour évaluer spécifiquement si les propriétés directionnelles des MDCs résultent d'une dissociation entre les différentes pièces, des neurones du cortex rétrosplénial ont été enregistrés dans des environnements composés de 2 ou 4 pièces connectées qui sont différentes visuellement et tactilement. Nous avons observé que les cellules bidirectionnelles sont présentes lorsque l'animal évolue dans un environnement composé de 2 pièces connectées. Dans un environnement constitué de 4 pièces connectées, des cellules tétradirectionnelles sont enregistrées. De plus, les cellules initialement bidirectionnelles dans l'environnement de 2 pièces semblent adopter une activité tétradirectionnelle lorsque l'animal navigue dans un environnement de 4 pièces connectées. En revanche, les HDCs restent unidirectionnelles dans tous les environnements.

Nous avons également observé que les neurones sans activité spatiale apparente (pas d'activité directionnelle ni de champs d'activité spatiaux marqués), montrent néanmoins des « *patterns* » spatiaux similaires entre les pièces mais opposés ou orthogonaux dans les environnements connectés de 2 et 4 pièces respectivement. Enfin, nous avons enregistré dans les mêmes environnements les cellules de lieu hippocampiques et observé qu'elles recodent

spatialement entre les pièces ou répètent leurs champs d'activité entre les pièces, suggérant qu'elles peuvent être ancrées différemment à des repères locaux ou globaux.

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en lumière le rôle du cortex rétrosplénial dans la formation de représentations spatiales et suggère qu'il constitue une structure clé pour représenter les environnements selon différents cadres de référence spatiaux, ce qui peut être crucial pour la navigation dans des espaces complexes.

Matériels et méthodes

Sujets

Pour mener à bien cette expérience, un total de 15 rats Long Evans adultes (12 males et 3 femelles) provenant du centre d'élevage Charles River et pesant entre 250 et 350 g à leur arrivée ont été utilisés. Ils ont d'abord été hébergés par deux dans des cages de 40 x 26 x 16 cm avec de la nourriture et de l'eau à volonté, dans une pièce à température contrôlée (20°C +/- 2°C) avec un cycle lumière/obscurité naturel. Une semaine après leur arrivée, les animaux ont été manipulés quotidiennement par l'expérimentateur pendant 7 jours. Pendant cette période, ils ont été habitués à la pièce et au dispositif expérimental qu'ils ont exploré pendant 10 à 20 minutes chaque jour.

Implant et chirurgie

L'activité des neurones est captée par un implant constitué de 4 ou de 8 tétrodes (chaque tétrode est composée de quatre fils torsadés) de platine-iridium (90% - 10%) recouvertes de polyimide et d'un diamètre de 25 µm (California Fine Wire, CA) et fixées à un micro-descendeur Axona (Axona Ltd, St Albans, UK).

La chirurgie est réalisée dans des conditions stériles et sous anesthésie générale (Isoflurane, 4% pour l'induction, puis 2% à 0,5% pour l'entretien), un analgésique opioïde (Buprénorphine, 0,05 mg/kg, SC) étant administré 30 minutes avant le début de la chirurgie. Les tétrodes sont

ensuite insérées par chirurgie stéréotaxique dans le cortex rétrosplénial (aux coordonnées suivantes à partir du Bregma : AP -5,0 – 5,5mm, ML +/- 0,75 - 1,0mm et DV -0,4 -0,5mm sous la dure-mère) et/ou dans l'hippocampe dorsal (n = 4 rats ; aux coordonnées suivantes à partir du Bregma : AP -3,8 mm, ML +/- 3,0mm et DV -1,8mm sous la dure-mère). À l'issue de l'opération, les rats reçoivent un traitement postopératoire qui consiste en une injection d'antibiotique (Oxytétracycline, 10 mg/kg) et d'anti-inflammatoire/analgésique (Carprofen, 5 mg/kg). Après la chirurgie, les rats bénéficient d'une période de récupération de 7 jours avant le début de l'expérience. Ils sont ensuite soumis à une restriction alimentaire contrôlée dans leur cage d'hébergement, afin de les motiver à se déplacer pour récupérer de la nourriture durant l'expérience, qui complète la quantité alimentaire journalière.

Dispositif expérimental

Les animaux explorent des environnements composés de 2 ou 4 pièces connectées. Les pièces connectées sont créées à partir d'une arène carrée (de 150 x 150 cm) composée de murs gris (de 60 cm de haut) et d'un sol en plastique de couleur grise pouvant être nettoyé avec une éponge afin de neutraliser les odeurs entre les sessions d'enregistrement. L'arène est isolée de la pièce expérimentale par un rideau circulaire opaque de 260 cm de diamètre. Des plafonniers éclairent de manière homogène tout l'environnement et un appareil radio fixé au plafond permet de masquer les sons directionnels non contrôlés. Enfin, un distributeur de nourriture, placé au-dessus des arènes, libère des granulés de 20 mg, à des positions aléatoires au sol, afin d'inciter les animaux à explorer l'ensemble de l'environnement. Le contrôleur du distributeur de nourriture, le système d'enregistrement électrophysiologique (amplificateurs et panneaux de connexions) et l'ordinateur d'acquisition des données électrophysiologiques sont installés dans une pièce adjacente.

<u>Environnements constitués de 2 pièces connectées</u> :

Afin de créer 2 pièces connectées de taille identique et visuellement opposées, l'arène est divisée en 2 pièces rectangulaires (75 x 150 cm) en insérant un mur (60 cm de haut) doté d'une porte centrale (une ouverture de 10 cm à la base et 15 cm en haut). Les 2 pièces peuvent être

soit 1- identiques avec l'utilisation de feuilles blanches (30 x 40 cm) placées sur l'un des murs les plus courts, à l'opposé entre les 2 pièces et un sol commun (**Figure 44**), soit 2- différentes avec l'utilisation de feuilles (30 x 40 cm) ayant des couleurs et motifs distincts, toujours placées sur l'un des murs les plus courts et à l'opposé entre les deux pièces. Les sols sont couverts d'un revêtement plastique avec des textures et un motif visuel différent (**Figure 44**).

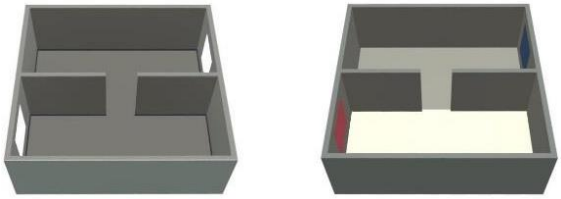


Figure 44. Environnements constitués de 2 pièces connectées
Les animaux explorent un environnement connecté constitué de 2 pièces identiques, comportant des repères visuels opposés et des sols identiques, ou 2 pièces différentes, comportant des repères opposés et des sols différents. Cette disposition des 2 pièces opposées crée une symétrie de rotation de 180°. Ces environnements sont entourés de rideaux noirs, empêchant l'utilisation de repères distaux.

Environnements constitués de 4 pièces connectées :

Afin de créer 4 pièces connectées de tailles égales et orthogonales, l'arène est divisée en 4 pièces carrées (75 x 75 cm) en insérant deux murs perpendiculaires (60 cm de haut) dotés chacun de deux portes permettant de connecter chaque pièce aux deux pièces adjacentes. Les 4 pièces orientées orthogonalement sont soit 1- identiques avec l'utilisation de feuilles blanches (30 x 40 cm), disposées orthogonalement entre les pièces adjacentes et un sol commun (**Figure 45**) ; soit 2- différentes avec l'utilisation de feuilles (30 x 40 cm) de couleurs et motifs distincts, disposées orthogonalement entre les pièces adjacentes. Les sols sont couverts d'un revêtement en plastique de différentes textures et motifs visuels (**Figure 45**).

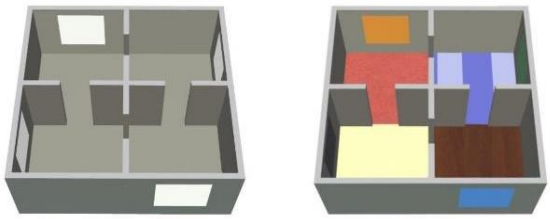


Figure 45. Protocole - Environnements constitués de 4 pièces connectées
Les animaux explorent un environnement connecté constitué de 4 pièces identiques comportant des repères visuels orthogonaux et des sols identiques, ou 4 pièces différentes comportant des repères orthogonaux et des sols différents. Cette disposition des 4 pièces orthogonales crée une symétrie de rotation de 90°. Ces environnements sont entourés de rideaux noirs, empêchant l'utilisation de repères distaux.

Système d'enregistrement

Les enregistrements sont effectués dans une pièce expérimentale. Un câble accompagné d'un contrepoids est relié, à l'une des extrémités, à un collecteur tournant (permettant aux animaux de se déplacer librement) et à l'autre extrémité, à la « pièce de tête » (qui sera reliée à l'implant cérébral des animaux) contenant un amplificateur à transistor à effet de champ pour chaque fil de tétrode. Les signaux de chaque électrode sont amplifiés 10 000 fois avec des amplificateurs Neuralynx (Neuralynx, Bozeman, MT, USA), filtrés dans une bande passante entre 0,3 et 3 kHz, échantillonnés à 32 kHz et enregistrés par le système d'acquisition DataWave Sciworks (DataWave Technologies, Longmont, CO, USA). Deux LEDs, fixées sur la pièce de tête, émettent une lumière (l'une rouge et l'autre verte), ce qui permet de connaître la position et l'orientation de la tête du rat en temps réel. Les positions des LEDs sont enregistrées à l'aide d'une caméra CCD fixée au plafond qui échantillonne les déplacements des LEDs à une fréquence de 25 Hz.

Protocole d'enregistrement

Une semaine après l'opération, les enregistrements quotidiens des animaux peuvent commencer. Lorsqu'aucune activité unitaire ne peut être isolée ou en fin de protocole, les tétrodes sont descendues de 50 µm. Dès lors qu'une ou des activités neuronales sont identifiées, un protocole complet est effectué. Trois protocoles ont été réalisés :

1. Une session dans l'environnement de 2 pièces identiques suivi d'une session dans l'environnent de 2 pièces différentes

2. Une session dans l'environnement de 4 pièces identiques suivi d'une session dans l'environnent de 4 pièces différentes

3. Une session dans l'environnement de 2 pièces différentes suivi d'une session dans l'environnent de 4 pièces différentes

Chaque session dure 10 à 20 minutes. Entre des sessions successives, les rats sont retirés de l'arène sans être débranchés pour être placés dans une boîte pendant que l'expérimentateur lave les sols et les murs puis change les repères et les sols si besoin. Les animaux sont ensuite légèrement désorientés puis remis dans l'arène à une position aléatoire pour la session suivante.

Analyses des données

Toutes les analyses de données (à l'exception du *spike sorting*) ont été effectuées avec des scripts personnalisés sur Matlab®.

Spike sorting

Dans un premier temps, il importe d'identifier et séparer l'activité de chaque neurone à partir du signal enregistré. Le *spike sorting a été* effectué manuellement à l'aide du logiciel de séparation de clusters Offline Sorter (Plexon). Les neurones sélectionnés pour l'analyse doivent être bien discriminés avec des potentiels d'action clairement dissociés du bruit de fond. Tous les neurones ayant des intervalles de temps entre les potentiels d'action inférieurs à 2 ms (période réfractaire) sont éliminés. Afin d'éviter des enregistrements répétés de la même cellule au fil des jours, les clusters qui reviennent sur les mêmes tétrodes dans le même espace de *cluster* ne sont analysés qu'une seule fois.

Activité directionnelle

La direction de la tête d'un rat est calculée pour chaque position des deux LEDs sur le plan horizontal (toutes les 40 ms). Puis, la fréquence d'activité de chaque cellule est calculée en fonction de la direction de la tête de l'animal : pour chaque direction de la tête (par pas de 6°), le nombre de potentiels d'action émis par une cellule est divisé par le temps total passé dans cette direction. La direction préférentielle (PFD) des cellules correspond à la moyenne circulaire de l'activité directionnelle. Les cellules dont le pic de fréquence est inférieur à 1Hz sont éliminées des analyses. Il faut alors sélectionner les cellules de direction canoniques, c'est-à-dire les cellules ayant une activité spécifique à une direction de la tête de l'animal.

Sélection des cellules de direction de la tête

La longueur du vecteur de Rayleigh peut être utilisée pour évaluer la spécificité directionnelle d'une cellule de direction. Les cellules dont la longueur du vecteur de Rayleigh est supérieure à 0,2 sont identifiées comme cellules de direction.

Les cellules sont caractérisées comme bidirectionnelles (BDCs) lorsqu'elles possèdent un score bidirectionnel supérieur à 0,6 comme dans l'étude de Jacob *et al.* (2017). Pour le calculer, une autocorrélation circulaire de l'activité directionnelle est réalisée pour chaque cellule, par intervalle de 6°. Le score bidirectionnel pour chaque cellule est défini comme la différence entre les corrélations au pic attendu (180°) et au creux attendu (90°).

Les cellules multidirectionnelles (MDCs) ont été définies comme des cellules présentant une activité multidirectionnelle dans l'environnement composé de 4 pièces connectées, mais montrant une activité unipolaire dans les pièces analysées individuellement. Les MDCs sont sélectionnées selon un critère : le score du vecteur de Rayleigh calculé à partir de l'activité directionnelle dans chacune des 4 pièces doit dépasser 0,2 dans au moins l'une des 4 pièces.

Stabilité des activités des BDCs et des HDCs

La maintenance de l'activité bidirectionnelle ou unidirectionnelle entre les environnements connectés composés de 2 pièces identiques et de 2 pièces différentes est testée en comparant le score de bidirectionnalité et la longueur du vecteur de Rayleigh entre les environnements. Pour les cellules bidirectionnelles, la longueur du vecteur de Rayleigh est calculée à la suite d'une procédure de doublage d'angle, qui consiste à transformer une distribution bimodale opposée en une distribution unimodale. La stabilité entre les environnements est analysée en calculant pour chaque cellule la corrélation circulaire de l'activité directionnelle entre les environnements de 2 pièces identiques et de 2 pièces différentes. À partir de la corrélation circulaire, sont extraits le coefficient de corrélation maximal et l'angle correspondant. La distribution de tous les angles est ensuite calculée séparément pour les cellules bidirectionnelles et les cellules de direction, et le test de Rayleigh est utilisé pour évaluer l'uniformité de la distribution et calculer la direction circulaire moyenne. Pour les coefficients de corrélation, nous avons calculé les valeurs moyennes séparément pour les cellules bidirectionnelles et les cellules de direction, et avons testé s'ils différaient significativement de 0 en réalisant soit un test t de Student, soit un test de Wilcoxon pour un échantillon.

Caractérisation de l'activité des cellules multidirectionnelles

Nous avons calculé la longueur du vecteur de Rayleigh et la direction préférentielle des cellules dans chaque pièce des environnements connectés de 4 pièces, et avons comparé leurs valeurs entre les environnements de 4 pièces identiques et de 4 pièces différentes à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs (avec les environnements et les pièces comme facteurs principaux). Étant donné que les pièces, dans les environnements de 4 pièces connectées, sont disposées orthogonalement, nous avons testé si les directions préférentielles étaient elles aussi séparées de 90° entre les pièces. Pour chaque cellule, nous avons alors calculé les différences de direction préférentielle entre 2 pièces adjacentes et vérifié si elles étaient distribuées autour de 90°. À partir de la distribution de ces différences d'angle, nous extrayons la valeur moyenne circulaire et la longueur du vecteur de Rayleigh. Enfin, nous avons testé la stabilité multidirectionnelle entre les environnements connectés de 4 pièces identiques et de 4 pièces

différentes, en utilisant la même procédure d'autocorrélation que celle employée pour déterminer la stabilité des cellules bidirectionnelles et de direction (section précédente).

Comparaison entre les environnements connectés de 2 pièces différentes et de 4 pièces différentes

Nous avons examiné si les cellules modifiaient leur activité entre les environnements connectés de 2 et 4 pièces différentes en comparant les pics de fréquence ainsi que les scores de bidirectionnalité et les longueurs de vecteur de Rayleigh, respectivement pour les cellules bidirectionnelles et les cellules de direction de la tête, en utilisant une ANOVA à mesures répétées. Ensuite, nous avons évalué la stabilité des cellules de direction et des cellules bidirectionnelles entre les pièces ou les sessions comme décrit précédemment.

Cartes de fréquences spatiales et sélection des cellules de lieu

Les cartes d'activité spatiale ont été générées en divisant l'environnement en pixels de 2,5 × 2,5 cm. Le nombre de potentiels d'action par case est divisé par le temps passé dans cette case afin de générer une carte de fréquence brute. Des cartes d'activité lissées sont ensuite générées à l'aide d'un filtre *Boxcar*. Une carte d'activité colorée est générée en attribuant un code couleur variant du bleu (fréquence la plus faible) au rouge (fréquence la plus forte). Sur ces cartes de fréquence colorées, les pixels qui n'ont pas été visités par le rat sont affichés en blanc.

Pour chaque carte, nous avons calculé deux mesures classiques de sélectivité spatiale :

- La **cohérence spatiale**, qui est l'autocorrélation spatiale du champ de lieu (brut), et indique dans quelle mesure la fréquence dans un pixel spécifique est prédite par la fréquence moyenne des huit cases voisines.
- Le **contenu d'information spatiale**, exprimé en bits par secondes, est calculé comme suit :

$$I = i \sum P(i) \left(\frac{\lambda i}{\lambda} log_2 \frac{\lambda i}{\lambda} \right)$$

Où $P(i)$ est la probabilité d'occupation de la case, λi est la fréquence moyenne dans la case, et λ est la fréquence moyenne globale.

Les cellules hippocampiques sont catégorisées comme cellules de lieu si elles remplissent ces 4 critères dans au moins une pièce des environnements connectés de 2 ou 4 pièces :

1. L'identification sur la carte d'activité brute d'un champ d'activité ayant au moins neuf pixels contigus dont la fréquence est supérieure à la fréquence moyenne calculée sur l'ensemble de l'environnement.
2. Le pic de fréquence doit être supérieur ou égal à 1Hz.
3. Le score de cohérence spatiale doit être supérieur ou égal à 0,4.
4. Le contenu d'information spatiale doit être supérieur ou égal à 1.

Corrélation spatiale

Afin d'analyser si les cellules de lieu de l'hippocampe et les cellules du cortex rétrosplénial présentent une activité spatiale répétée à l'identique, opposée ou différente entre les pièces, nous avons construit les cartes d'activité pour chaque cellule et pour chaque pièce séparée. Pour les environnements de 2 pièces connectées, nous avons calculé le coefficient de corrélation de Pearson entre les cartes d'activité spatiale brutes des deux pièces, soit non pivotées, soit pivotées de 180°, afin de faire correspondre la position de la porte et les repères visuels. Pour les environnements de 4 pièces connectées, nous avons calculé toutes les corrélations spatiales possibles entre toutes les paires de pièces (4 corrélations pour les pièces adjacentes et 2 corrélations pour les pièces opposées). Nous avons soit moyennées les valeurs de corrélation obtenues pour les comparaisons entre toutes les pièces ensemble, soit pour les comparaisons pour les pièces adjacentes ou pour les pièces opposées. Afin d'évaluer si les champs d'activité suivent l'orientation des pièces ou se répétaient entre les pièces, nous avons calculé la corrélation spatiale moyenne en gardant l'orientation des pièces inchangée ou en alignant les pièces (après avoir pivoté trois des quatre pièces de 90°, -90° et 180° pour faire correspondre la position des portes et des repères visuels).

Enfin, nous avons testé si l'activité des cellules de lieu changeait entre les environnements connectés composés de pièces identiques et différentes en calculant la corrélation spatiale entre les environnements de 2 pièces identiques et 2 pièces différentes, ainsi qu'entre les environnements de 4 pièces identiques et 4 pièces différentes.

Analyses statistiques

Les statistiques ont été effectuées avec GraphPad Prism 9® et ont inclus le test U de Mann-Whitney, le test de Wilcoxon pour un échantillon, le test t de Student pour un et deux échantillons, appariés ou non appariés, l'ANOVA à un ou deux facteurs et/ou à mesures répétées. Les tests post hoc de Tukey ont été réalisés lorsque cela était pertinent. Les tests de Rayleigh pour l'uniformité et les tests V circulaires ont été réalisés avec Matlab®.

Histologie

Les délimitations du cortex rétrosplénial et de l'hippocampe ont été identifiées grâce à l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 2009). Les sites d'enregistrement ont été identifiés à partir du point le plus profond des tétrodes.

À la fin de l'expérience, après induction d'une sédation profonde (Domitor, 500 µg/kg), les rats ont reçu une surdose de barbiturique (Euthasol, 200 mg/kg). Les cerveaux ont été prélevés puis congelés grâce à de l'isopentane refroidi à -80°C. Ensuite, des coupes coronales de 25 µm d'épaisseur sont montées sur lames (SuperFrost Plus®, ThermoFisher) et colorées à la thionine. La position des extrémités des électrodes a été déterminée à partir de photographies numériques, acquises avec un microscope Leica (Wetzlar, Allemagne), et importées dans un programme de manipulation d'images (Gimp 2.8, distribué sous General Public License).

Résultats

Les BDCs et les HDCs maintiennent leurs propriétés directionnelles dans un environnement composé de 2 pièces connectées visuellement différentes

Dans l'étude de Jacob *et al.* (2017), les auteurs décrivent les propriétés des BDCs du cortex rétrosplénial, dont l'activité à deux directions opposées est observée dans 2 pièces connectées visuellement identiques, symétriques et imprégnées d'odeurs différentes. Afin d'explorer comment les cadres de référence locaux et globaux influencent les BDCs et les HDCs, nous avons implanté des électrodes dans le cortex dysgranulaire du RSC de 9 rats (**figure supplémentaire 2**). Nous avons d'abord identifié les BDCs et les HDCs dans un environnement composé de 2 pièces identiques connectées et symétriques (S1-2id), mais sans les repères olfactifs qui étaient présents dans l'expérience originale (**figure 46.A, gauche**). Parmi les 1206 neurones du RSC, nous avons identifié 30 BDCs (**figure 46.B-C**) et 77 HDCs (**figure 46.D-E**). Le test de Rayleigh indique que les PFDs des BDCs et HDCs couvrent l'ensemble des 360° (**figure supplémentaire 3** ; test de Rayleigh pour les BDCs, Z = 0,45, p = 0,64 ; test de Rayleigh pour les HDCs, Z = 0,62, p = 0,54). Ces résultats indiquent que les odeurs ne sont pas cruciales pour l'activité des BDCs et des HDCs.

Ensuite, les animaux sont exposés à un environnement composé de 2 pièces différentes connectées (S2-2dif) (**figure 46.A, droite**). Nous avons alors comparé l'activité de 26 BDCs et 40 HDCs entre S1-2id et S2-2diff. Pour les BDCs, nous avons obtenu des scores de bidirectionnalité similaires entre les deux environnements (**Figure 46.F** : moyenne S1-2id = 0,94±0,34, moyenne S2-2diff = 0,77±0,43, test t non apparié, t(54) = 1,62, p = 0,11), bien que 6 BDCs aient perdu leur activité bidirectionnelle en S2-2diff. Entre les deux environnements, les BDCs maintiennent également une activité directionnelle similaire (**figure supplémentaire 4** ; moyenne S1-2id = 0,29±0,08, moyenne S2-2diff = 0,25±0,01, test t non apparié, t(54) = 1,53, p = 0,13) ainsi qu'une fréquence maximale stable (**Figure 46.F** : moyenne S1-2id = 4,54±4,05, moyenne S2-2diff = 3,77±2,90, test t non apparié, t(54) = 0,81, p = 0,42). Tout comme en S1-2id, en S2-2diff, les BDCs montrent une activité directionnelle uniformément répartie sur 360° (**figure supplémentaire 3** ; test de Rayleigh, Z = 1,27, p = 0,28). Nous avons ensuite testé la stabilité de chaque BDC entre S1-2id et S2-2diff en calculant la corrélation circulaire des fréquences par intervalles de 6°, à partir de laquelle nous avons extrait la valeur de corrélation

maximale et l'angle correspondant. La valeur moyenne des corrélations maximales est significativement supérieure à 0 (**Figure 46.G**, panel de gauche, moyenne = 0,67±0,13, test t pour un échantillon sur les valeurs de corrélation après transformation Fisher, $t(25) = 25,58$; $p < 0,0001$), et les angles de la corrélation maximale sont regroupés autour de 0° (**Figure 46.G**, panel de droite ; longueur moyenne du vecteur, VL = 0,72 ; direction moyenne, dir = 4° ; test V pour 0°, V = 18,83, $p < 0,001$), indiquant que les activités bidirectionnelles restent stables entre S1-2id et S2-2diff.

Des résultats similaires sont obtenus pour les 40 HDCs enregistrés en S1-2id et S2-2diff. La longueur du vecteur de Rayleigh (moyenne S1-2id = 0,29±0,11, moyenne S2-2diff = 0,33±0,19) et la fréquence maximale (moyenne S1-2id = 9,46±22,35, moyenne S2-2diff = 7,06±10,78) ne changent pas entre les deux environnements (**Figure 46.H** : test t non apparié pour la longueur du vecteur de Rayleigh, $t(115) = 1,23$, $p = 0,22$; test t non apparié pour la fréquence maximale, $t(115) = 0,64$, $p = 0,52$) et les PFDs sont uniformément distribuées (**figure supplémentaire 3** ; test de Rayleigh, $Z = 0,79$, $p = 0,46$). Les HDCs montrent une grande stabilité entre S1-2id et S2-2diff, bien que 5 d'entre elles perdent leur activité directionnelle en S2-2diff. La valeur moyenne des corrélations maximales entre S1-2id et S2-2diff est significativement supérieure à 0 (**Figure 46.I**, panel de gauche ; valeur moyenne = 0,74±0,19, test t pour un échantillon sur les valeurs de corrélation après une transformation de Fisher, $t(39) = 23,79$; $p < 0,0001$) et la distribution des angles de la corrélation maximale est regroupée autour de 0° (**Figure 46.I**, panel de droite ; longueur moyenne du vecteur, VL = 0,71 ; direction moyenne, dir = -7° ; test V pour 0°, V = 28,32, $p < 0,001$).

L'ensemble de ces résultats indique que l'ambiguïté visuelle causée par les 2 pièces identiques n'est pas à l'origine de l'activité des BDCs. L'activité bidirectionnelle dépendrait plutôt de la structure de l'environnement, ce qui renforce l'hypothèse selon laquelle les BDCs et les HDCs sont respectivement ancrées dans des cadres de référence locaux et globaux. Les enregistrements simultanés des BDCs et des HDCs au cours d'une même session, à la fois en S1-2id et en S2-2diff (**figure supplémentaire 5**) plaident également en faveur de cette hypothèse.

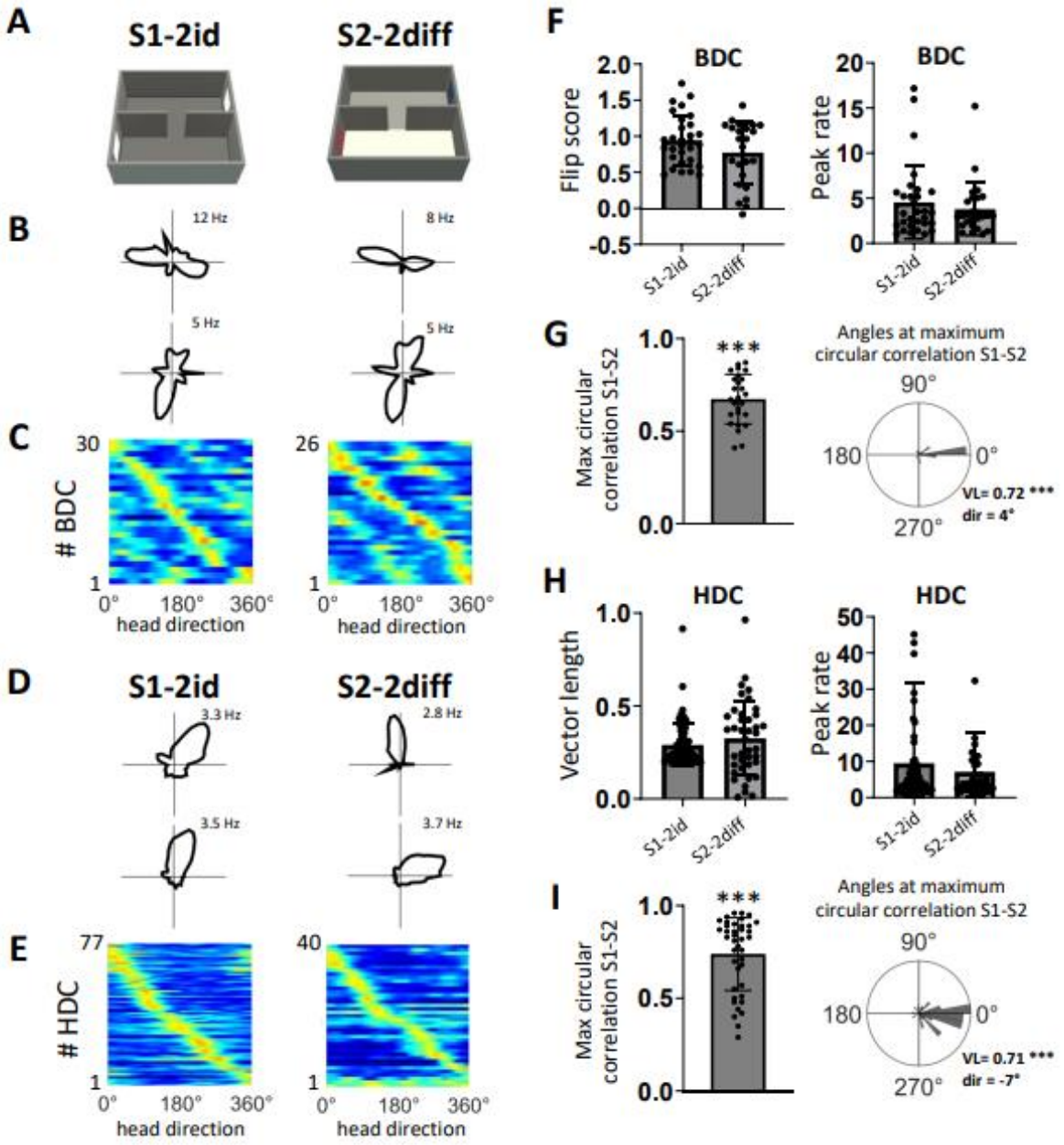


Figure 46. Les activités bidirectionnelles et de direction de la tête sont maintenues entre les environnements de 2-pièces-identiques et 2-pièces-différentes.

A. Les animaux explorent successivement deux environnements composés de 2 pièces connectées, soit identiques (S1-2id : mêmes repères visuels et même sol) ou différentes (S2-2diff : repères visuels et sols différents). **B.** Exemple de 2 BDCs enregistrées dans les deux environnements (exemple individuel en haut et en bas). Pour chaque cellule, la fréquence maximale est indiquée. **C.** Activité directionnelle des 30 BDCs enregistrées en S1-2id (à gauche) ; parmi ces cellules, 26 BDCs sont enregistrées successivement en S2-2diff (à droite). L'activité est codée par couleur, du bleu (absence d'activité) à l'orange (fréquence maximale) et les BDCs sont ordonnées selon leur PFD. **D.** Exemple de 2 HDCs enregistrées dans les deux environnements (exemple individuel en haut et en bas) ; la fréquence maximale est indiquée. **E.** Activité directionnelle codée par couleur des 77 HDCs enregistrées en S1-2id (à gauche) ; parmi ces cellules, 40 HDCs sont enregistrés successivement en S2-2diff (à droite). Les HDCs sont ordonnées selon leur PFD. **F.** Score moyen de bidirectionnalité (à gauche) et fréquence

maximale (à droite) des BDCs en S1-2id et S2-2diff. **G.** À gauche : la moyenne des corrélations circulaires maximales de l'activité des BDCs entre les deux environnements est significativement supérieure à 0. À droite : les angles aux valeurs de corrélation maximale sont regroupés autour de 0° (dir = 4°). **H.** Longueur moyenne du vecteur (à gauche) et fréquence maximale (à droite) des HDCs dans les deux environnements. **I.** Comme pour les BDCs, les HDCs montrent une valeur moyenne des corrélations circulaires maximales supérieure à 0 et une distribution des angles correspondants concentrés autour de 0° (dir = 7°). Les données individuelles sont représentées par des points noirs superposés aux histogrammes. VL : longueur du vecteur de Rayleigh ; dir : valeur moyenne des angles. *** $p < 0,001$ Test t pour un échantillon et test de Rayleigh.

Les neurones du cortex rétrosplénial (RSC) montrent une activité multidirectionnelle dans les environnements de 4 pièces connectées.

Pour vérifier l'hypothèse des cadres de référence locaux et globaux, nous avons enregistré l'activité des cellules du cortex rétrosplénial dans des environnements connectés composés soit de 4 pièces identiques (S1-4id), soit de 4 pièces différentes (S2-4diff) (**Figure 47.A**). Nous nous attendons à ce que certaines cellules montrent une activité multidirectionnelle, avec une PFD différente dans chaque pièce. Pour sélectionner les MDCs, nous avons calculé la longueur du vecteur de Rayleigh sur l'activité directionnelle des cellules indépendamment pour chaque pièce. Les cellules ayant une longueur de vecteur supérieure à 0,2 dans au moins une pièce sont sélectionnées comme MDCs. En S1-4id, 22 MDCs sont identifiées chez 3 rats, et l'activité de 11 de ces cellules est suivie en S2-4diff (**Figure 47.B-C-D**). La distribution des PFDs représente toutes les directions à 360° (**Figure 47.D** ; test de Rayleigh pour S1-4id, $Z = 0,23$, $p = 0,80$; S2-4diff, $Z = 0,43$, $p = 0,80$). L'inspection visuelle de l'activité directionnelle des MDCs dans la **figure 47.B** montre une activité tétradirectionnelle en S1-4id qui tend à devenir bidirectionnelle en S2-4diff. Cependant, il est possible que cette activité bidirectionnelle soit en réalité tétradirectionnelle, avec deux directions éclipsant les deux autres en raison de trop grands écarts de fréquences. Nous avons donc observé l'activité directionnelle au sein de chaque pièce (**Figure 47.C**) et constaté que les MDCs montrent une activité unipolaire ressemblant à l'activité « classique » des HDCs. Nous avons ensuite comparé les longueurs des vecteurs et la fréquence des MDCs entre les pièces (**Figure 47.E-F**) : l'ANOVA à deux facteurs montre un effet de la pièce, mais aucun effet de l'environnement (S1-4id x S2-4diff) et aucune interaction entre les deux facteurs (ANOVA à deux facteurs, longueur du vecteur : effet de la

pièce, F(3,93) = 3,36, p = 0,02 ; effet de l'environnement S1-4id x S2-4diff, F(1,31) = 0,11, p = 0,74 ; effet environnement x pièce, F(3,93) = 1,88, p = 0,14 ; fréquence maximale : effet de la pièce, F(3,93) = 5,08, p = 0,003 ; effet de l'environnement, F(1,31) = 0,28, p = 0,60 ; effet environnement x pièce, F(3,93) = 1,82, p = 0,15). Nous avons ensuite calculé pour chaque MDC la différence de PFD entre les 4 pièces en S1-4id et en S2-4diff (**Figure 47.G**). La distribution de ces différences de PFDs montre que les MDCs ont des PFDs orthogonales entre les pièces (S1-4id : longueur moyenne du vecteur, VL = 0,64 ; direction moyenne, dir = 95° ; Z = 36,45, p < 0,001 ; S2-4diff : longueur moyenne du vecteur, VL = 0,54 ; direction moyenne, dir = 90° ; Z = 13,11, p < 0,001), indiquant que les MDCs développent une activité tétradirectionnelle dans les environnements de 4 pièces.

Enfin, nous avons analysé la corrélation circulaire de l'activité des MDCs entre S1-4id et S2-4diff (**Figure 47.H**, panel de gauche). La médiane des corrélations circulaires maximales apparaît significativement supérieure à 0 (valeur médiane = 0,57 ; test de Wilcoxon pour un échantillon sur les valeurs de corrélation après une transformation de Fisher, W = 66, p = 0,001). De plus, la distribution des angles des corrélations maximales est regroupée près de 0° (**Figure 47.H**, panel de droite ; longueur moyenne du vecteur, VL = 0,96 ; direction moyenne, dir = 8° ; test de V pour 0°, V = 10,53, p < 0,001). Ces résultats indiquent que le cortex rétrosplénial possède des neurones développant une activité multidirectionnelle dans les environnements connectés de 4 pièces différentes.

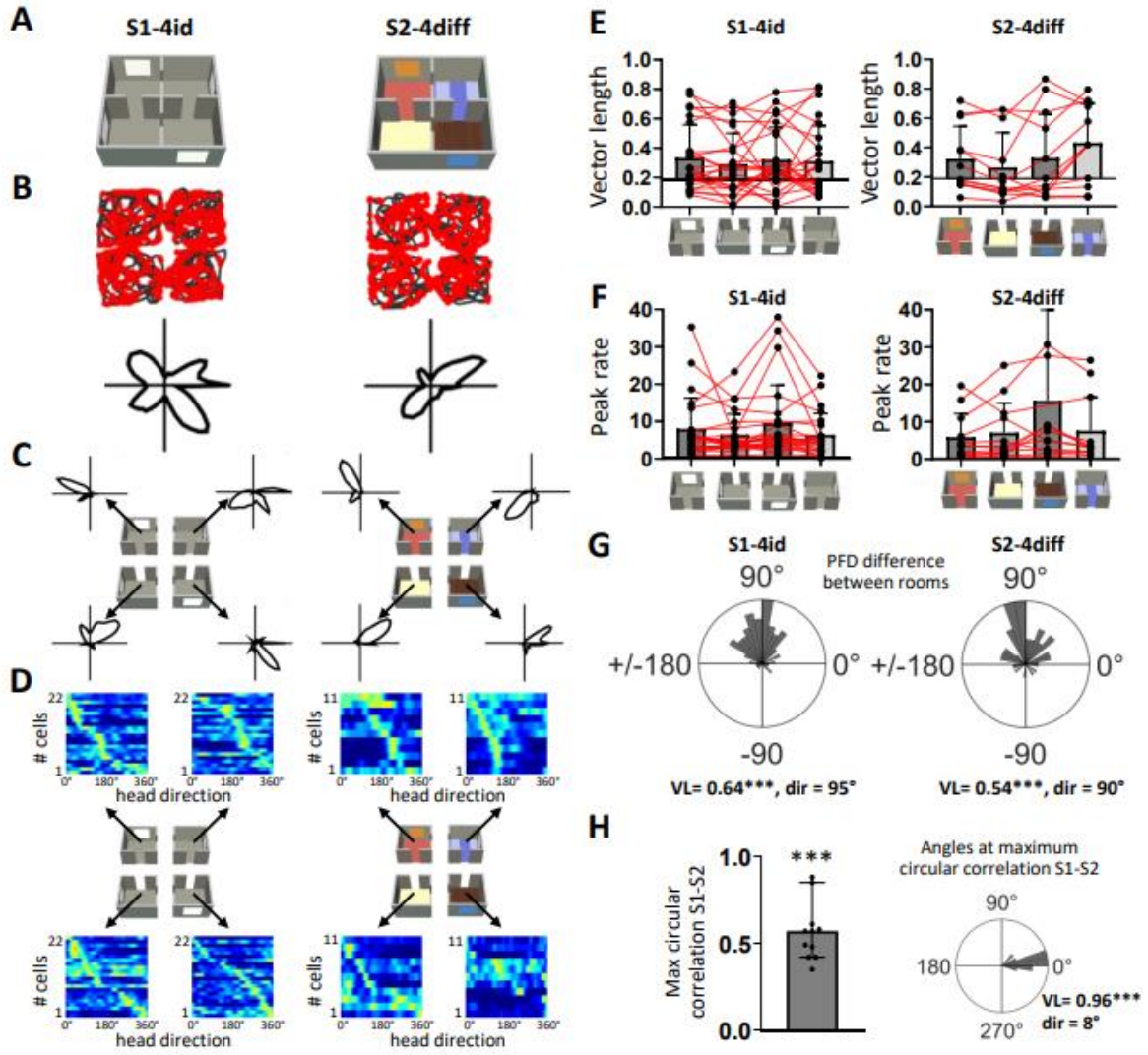


Figure 47. Activité multidirectionnelle dans un environnement de 4 pièces.

A. Les animaux explorent successivement deux environnements composés de 4 pièces connectées, soit identiques (S1-4id : repères visuels et sol identiques) soit différentes (S2-4diff : repères visuels et sols différents). **B.** Exemple d'une MDC enregistrée dans les deux environnements. En haut : potentiels d'action (points rouges) superposés au trajet de l'animal (en noir). En bas : fréquence d'activité en fonction de la direction de la tête. **C.** Activité directionnelle d'une MDC au sein de chaque pièce séparément. **D.** Activité directionnelle dans chaque pièce pour les 22 MDCs enregistrées en S1-4id (à gauche) ; parmi elles, 11 MDCs sont enregistrées successivement en S2-4diff (à droite). Les MDCs présentent une activité unipolaire dans chaque pièce. **E-F.** Longueur moyenne du vecteur (**E**) et fréquence maximale (**F**) des MDCs dans chaque pièce des environnements S1-4id et S2-4diff. **G.** La distribution polaire des différences de PFDs entre les pièces montre que les MDCs ont des PFDs décalées de 90° d'une pièce à l'autre, tant en S1-4id qu'en S2-4diff. **H.** Les MDCs maintiennent une activité multidirectionnelle stable entre S1-4id et S2-4diff. La moyenne des corrélations circulaires maximales de l'activité des MDCs entre les deux environnements est significativement supérieure à 0 (à gauche). La distribution des angles correspondants est concentrée autour de 0° (dir = 8°). Les données individuelles sont représentées par des points noirs superposés aux histogrammes. VL : longueur du vecteur ; dir : direction moyenne de la distribution. *** $p < 0{,}001$, test de Rayleigh et test de Wilcoxon pour un échantillon.

Les BDCs dans l'environnement connectées de 2 pièces différentes deviennent des MDCs dans l'environnements connectés de 4 pièces différentes.

Nous avons ensuite cherché à déterminer si les MDCs et les BDCs appartiennent à la même population de neurones (deux rats supplémentaires ont été enregistrés au cours de ce protocole). Nous avons identifié 42 BDCs dans l'environnement de 2 pièces différentes (S1-2diff) et suivi l'activité de 32 d'entre elles dans l'environnement de 4 pièces différentes (S2-4diff) (**Figure 48.A**). Les tests de Rayleigh sur les PFDs indiquent que les BDCs représentent l'ensemble des directions sur 360° en S1-2diff et S2-4diff (**figure supplémentaire 3** ; test de Rayleigh pour S1-2diff, Z = 0,87, p = 0,42 ; test de Rayleigh pour S2-4diff, Z = 1,41, p = 0,25). La **Figure 48.A** présente des exemples de 2 BDCs, enregistrées en S1-2diff, qui deviennent multidirectionnelles en S2-4diff. La baisse du score de bidirectionnalité en S2-4diff indique que les BDCs perdent leur activité bidirectionnelle dans l'environnement de 4 pièces différentes (moyenne S1-2diff = 0,91±0,27, moyenne S2-4diff = -0,07±0,42, test t non apparié, t(72) = 11,97, p < 0,001), tandis que la fréquence maximale ne change pas (moyenne S1-2diff = 5,32±4,85, moyenne S2-4diff = 4,36±4,10, test t non apparié, t(72) = 0,90, p = 0,37) (**Figure 48.B**). Nous avons ensuite regardé si les BDCs montrent une activité unidirectionnelle au sein de chaque pièce en S1-2diff et S2-4diff. La **Figure 48.C** montre des exemples d'activité unidirectionnelle de deux BDCs au sein de chaque pièce de l'environnement S1-2diff et S2-4diff. Les deux BDCs présentent des activités unidirectionnelles dans chaque pièce de l'environnement S2-4diff, même si l'activité tétradirectionnelle n'est pas toujours clairement visible sur l'activité directionnelle globale (voir l'exemple de la BDC 4). Les **Figures 48.D-E** présentent l'activité directionnelle de toutes les BDCs dans chaque pièce, classées par direction. Toutes les BDCs ont une activité unipolaire significative dans chaque pièce de l'environnement S1-2diff (**figure supplémentaire 6** ; S1-2diff, longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, pièce 1 = 0,22±0,16, pièce 2 = 0,22±0,15, test t apparié, t(41) = 0,10, p = 0,92). Nous avons observé les mêmes résultats pour les BDCs en S2-4diff (**figure supplémentaire 6** ; S2-4diff, longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, pièce 1 = 0,30±0,20, pièce 2 = 0,28±0,16, pièce 3 = 0,29±0,19, pièce 4 = 0,33±0,22, ANOVA à un facteur, F(2,492,77,25) = 0,73, p = 0,51).

Nous avons également calculé, pour chaque BDC, la différence de PFD entre les pièces, en S1-2diff et S2-4diff (**Figure 48.F**). La distribution des différences montre que les BDCs ont des PFDs opposées entre les 2 pièces en S1-2diff et, en S2-4diff des PFDs orthogonales entre les 4 pièces

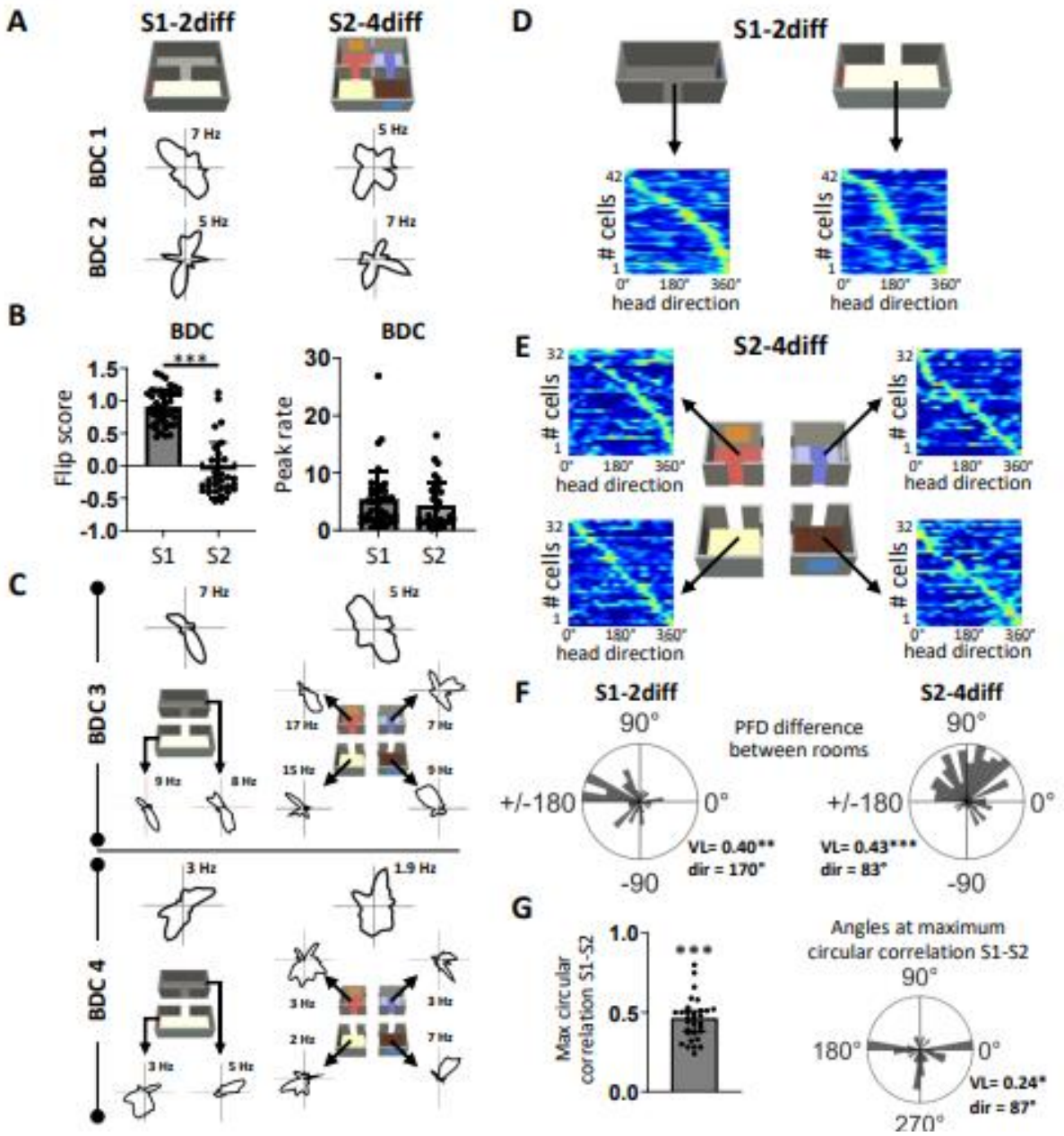
(S1-2diff : longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, VL = 0,40 ; direction moyenne, dir = 170° ; Z = 6,63, p = 0,001 ; S2-4diff : longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, VL = 0,43 ; direction moyenne, dir = 83° ; Z = 24,18, p < 0,001), indiquant que l'activité des BDCs devient tétradirectionnelle dans l'environnement de 4 pièces différentes.

Enfin, les corrélations circulaires de l'activité des BDCs entre S1-2diff et S2-4diff présentent une valeur médiane de corrélation (0,47) significativement supérieure à 0 (test de Wilcoxon pour un échantillon sur les valeurs de corrélation après transformation de Fisher, W = 528 ; p < 0,001) (**Figure 48.G** panel de gauche). La distribution des angles aux valeurs de corrélations maximales entre S1-2diff et S2-4diff est regroupée autour de 0°, -90° et 180°, avec une distribution significative seulement autour de -90° (longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, VL = 0,24 ; direction moyenne, dir = 87° ; test V pour 0°, V = 0,46, p = 0,45 ; test V pour -90°, V = 7,56, p = 0,03 ; test V pour 180°, V = -0,46, p = 0,55) (**Figure 48.G** panel de droite). L'ensemble de ces résultats démontre que les BDCs deviennent des MDCs lorsque le nombre de pièces connectées différentes évolue.

Nous avons effectué la même analyse pour les HDCs du cortex rétrosplénial (**Figure 48.H**), en enregistrant 145 HDCs en S1-2diff, et en suivant l'activité de 113 d'entre elles en S2-4diff. Quelques HDCs ont été enregistrées simultanément avec des BDCs en S1-2diff et S2-4diff (**figure supplémentaire 5**). Nous n'avons observé aucune différence de longueur des vecteurs de Rayleigh entre les deux environnements (**Figure 48.I** panel de gauche : moyenne S1-2diff = 0,45±0,24, moyenne S2-4diff = 0,46±0,23, test t non apparié, t(256) = 0,62, p = 0,53) ni de la fréquence maximale (**Figure 48.I** panel de droite : moyenne S1-2diff = 17,54±23,94, moyenne S2-4diff = 16,87±24,57, test t non apparié, t(256) = 0,22, p = 0,83). Les PFDs des HDCs sont uniformément distribuées autour de 360° en S2-4diff (**figure supplémentaire 3** ; test de Rayleigh pour S2-4diff, Z = 0,37, p = 0,69) mais pas en S1-2diff (**figure supplémentaire 3** ; test de Rayleigh pour S1-2diff, Z = 3,21, p = 0,04). Conformément aux propriétés bien connues des HDCs, les PFDs restent stables dans les différentes pièces des deux environnements (**Figure 48.J-L**), avec des longueurs de vecteurs de Rayleigh similaires entre les pièces et entre les environnements (**figure supplémentaire 6** ; moyenne S1-2diff, pièce 1 = 0,47±0,24, pièce 2 = 0,45±0,25, test t apparié, t(144) = 1,27, p = 0,21 ; moyenne S2-4diff, pièce 1 = 0,50±0,26, pièce 2 = 0,46±0,26, pièce 3 = 0,51±0,26, pièce 4 = 0,51±0,26, ANOVA à un facteur, F(2,38,266,9) = 1,68, p = 0,18). La distribution, proche de 0, des différences de PFDs entre les pièces confirme

que les HDCs maintiennent la même PFD dans toutes les pièces connectées en S1-2diff et S2-4diff (**Figure 48.M** : S1-2diff : longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, VL = 0,74 ; direction moyenne, dir = 5° ; Z = 79,89, p < 0,001 ; S2-4diff : longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh, VL = 0,63 ; direction moyenne, dir = 8° ; Z = 177,93, p < 0,001).

Enfin, les PFDs restent stables entre S1-2diff et S2-4diff (**Figure 48.N** panel de gauche : moyenne des corrélations circulaires maximales = 0,88±0,11, test t pour un échantillon sur les valeurs de corrélation après transformation de Fisher, t(79) = 70,38, p < 0,0001 ; panel de droite : longueur moyenne des vecteurs de Rayleigh des angles correspondants, VL = 0,48 ; direction moyenne, dir = 5° ; test V pour 0°, V = 38,37, p < 0,001), confirmant que les HDCs ne sont pas affectées par les changements environnementaux ni par le nombre de pièces connectées (Jacob *et al.*, 2017 ; Lozano *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022).


A
S1-2diff
S2-4diff
BDC 1
BDC 2
7 Hz
5 Hz
5 Hz
7 Hz
B
BDC
BDC
***
Flip score
Peak rate
S1
S2
S1
S2
C
BDC 3
BDC 4
7 Hz
5 Hz
9 Hz
8 Hz
17 Hz
7 Hz
15 Hz
9 Hz
3 Hz
1.9 Hz
3 Hz
5 Hz
3 Hz
2 Hz
3 Hz
7 Hz
D
S1-2diff
cells
head direction
E
S2-4diff
cells
head direction
F
S1-2diff
S2-4diff
PFD difference between rooms
90°
+/-180
0°
-90
VL= 0.40**
dir = 170°
VL= 0.43***
dir = 83°
G
Max circular correlation S1-S2
***
Angles at maximum circular correlation S1-S2
90°
180°
0°
270°
VL= 0.24*
dir = 87°

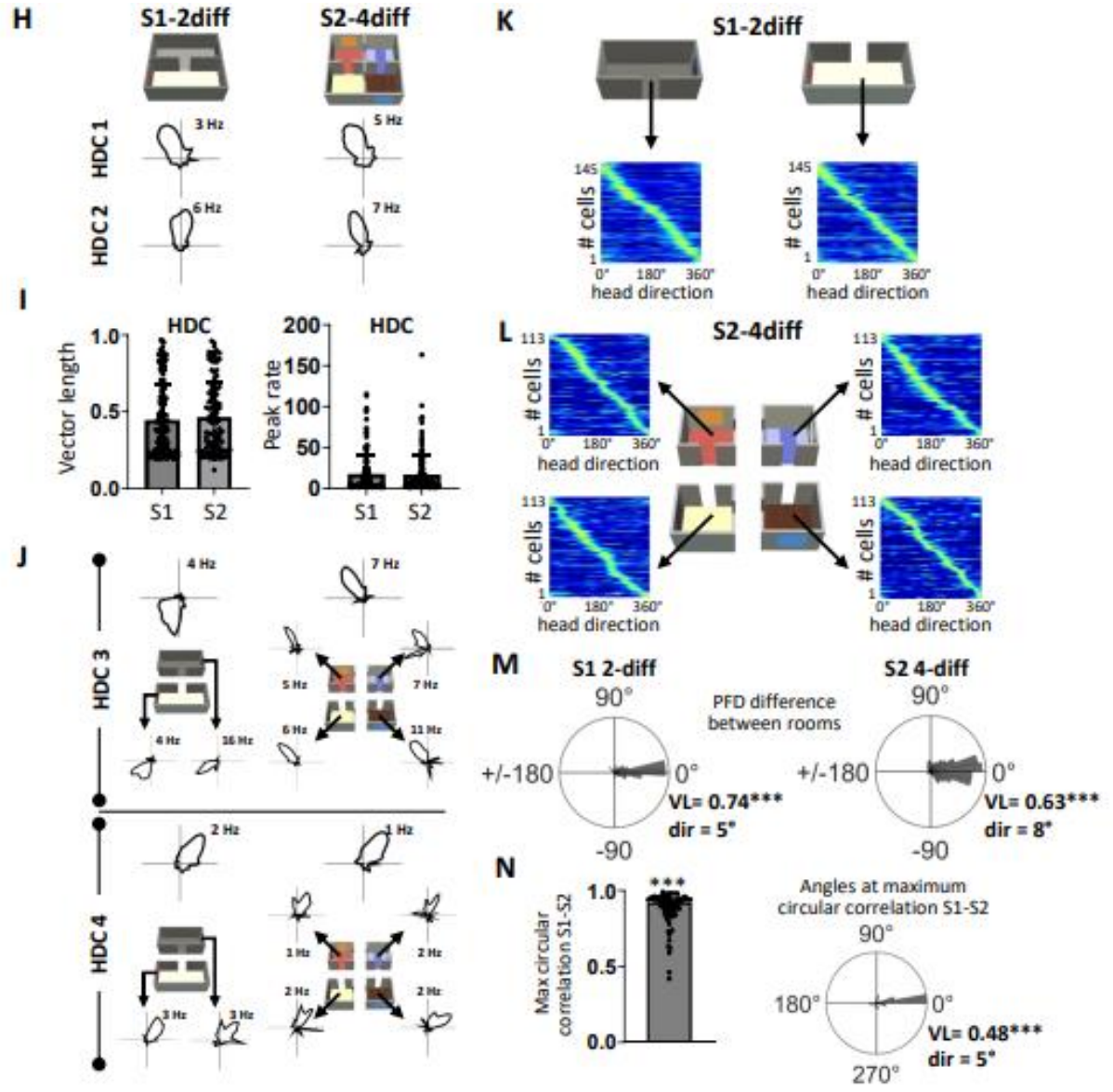


Figure 48. Les cellules bidirectionnelles dans un environnement de 2 pièces deviennent tétradirectionnelles dans un environnement de 4 pièces

A. En haut : l'animal explore successivement deux environnements connectés composés de 2 pièces différentes (S1-2diff) et 4 pièces différentes (S2-4diff). Milieu et bas : fréquence d'activité en fonction de la direction de la tête de 2 BDCs (BDC1 et BDC2) en S1-2diff et S2-4diff. **B.** Le score moyen de bidirectionnalité (gauche) des BDCs diminue significativement dans l'environnement de 4 pièces, tandis que la fréquence maximale (droite) ne change pas entre les deux environnements. **C.** L'exemple des activités directionnelles de deux BDCs (BDC3 et BDC4) pour chaque pièce indépendante montre que les BDCs présentent une activité unipolaire dans chaque pièce, quel que soit le nombre de pièces connectées. **D-E.** Activité directionnelle dans chaque pièce de 42 BDCs enregistrées en S1-2diff (haut). Parmi elles, 32 sont enregistrées successivement en S2-4diff, où elles sont devenues des MDCs (bas). Toutes les cellules présentent une activité unipolaire dans chaque pièce. **F.** Distributions polaires des différences de PFD entre les pièces en S1-2diff et S2-4diff. Les distributions sont opposées dans l'environnement de 2 pièces (longueur de vecteur de Rayleigh = 0.40*** et direction moyenne

= 170°) et orthogonales dans l'environnement de 4 pièces (longueur de vecteur = 0.43*** et direction moyenne = 83°). **G.** La moyenne des valeurs maximales de corrélation circulaire de l'activité des BDCs entre les deux environnements est significativement supérieure à 0 (gauche). La distribution des angles correspondants est regroupée autour de valeurs orthogonales (droite), indiquant que l'activité des BDCs entre S1-2diff et S2-4diff est décalée par des multiples de 90°. **H.** Exemple d'activité polaire de 2 HDCs (HDC1 et HDC2) en S1-2diff et S2-4diff. **I.** La longueur de vecteur de Rayleigh moyenne (gauche) et la fréquence d'activité maximale (droite) des HDCs ne changent pas entre S1-2diff et S2-4diff. **J-K-L.** Les HDCs maintiennent une activité unipolaire entre les pièces connectées. **J.** Exemples des activités directionnelles de deux HDCs (HDC3 et HDC4) pour chaque pièce séparément. **K-L.** Activité directionnelle au sein de chaque pièce pour les 145 HDCs en S1-2diff (K) ; parmi elles, 113 HDCs sont également enregistrées en S2-4diff (**L**). **M.** Les HDCs maintiennent la même PFD entre les pièces comme le montrent les distributions polaires des différences de PFDs entre les pièces en S1-2diff (gauche) et S2-4diff (droite). Les deux distributions sont regroupées autour de 0° (5° et 8° respectivement). **N.** L'activité des HDCs reste stable entre S1-2diff et S2-4diff. La moyenne des corrélations circulaires maximales entre S1-2diff et S2-4diff demeure significativement supérieure à 0 (gauche) et les angles correspondants sont regroupés près de 0° (dir = 5° ; droite). Les fréquences maximales sont indiquées pour les graphiques polaires des activités directionnelles ; les données individuelles sont représentées par des points noirs superposés aux histogrammes ; VL : longueur de vecteur ; dir : valeur moyenne des distributions d'angles. *** $p < 0.001$, test t pour échantillons indépendants, test t pour un échantillon, test de Wilcoxon pour un échantillon et test de Rayleigh.

Le cortex rétrosplénial code des informations spatiales ancrées aux caractéristiques des pièces

Il a été démontré que le cortex rétrosplénial fournit un code spatial spécifique à un contexte particulier, à l'échelle de cellules individuelles (Alexander *et al.*, 2015, 2017 ; Mao *et al.*, 2017, 2018 ; Milczarek *et al.*, 2018 ; Miller *et al.*, 2019, 2021 ; Vedder *et al.*, 2016 ; Xie *et al.*, 2014). L'activité spatiale des cellules du cortex rétrosplénial, bien que moins spatio-sélective que celle des cellules de lieu de l'hippocampe, présente un champ d'activité beaucoup plus diffus pouvant recouvrir de larges surfaces. Néanmoins, cette activité étant stable lors d'expositions successives à un même environnement, fournit une information spatiale.

Dans notre étude, chaque pièce peut être considérée comme un contexte. Nous nous sommes donc demandé si les neurones du cortex rétrosplénial codent chaque pièce par une activité spatiale spécifique. Pour chaque cellule non directionnelle (ni une HDC, ni une BDC, ni une MDC), nous avons construit la carte d'activité spatiale de chaque pièce. Nous avons ensuite calculé la corrélation spatiale entre les pièces, soit sans rotation, soit en les pivotant afin de

superposer la position de la porte et des repères visuels des pièces. Nous avons émis l'hypothèse de trois résultats possibles (**Figures 49.A et 50.B**) :

1. Une activité spatiale répétée de manière opposée et orthogonale respectivement dans les environnements de 2 et 4 pièces connectées ;
2. Une activité spatiale identiquement répétée dans toutes les pièces, indépendamment de l'environnement ;
3. Une activité spatiale différente dans chaque pièce.

Pour les environnements connectés de 2 pièces identiques (S1-2id) et de 2 pièces différentes (S2-2diff), nous avons enregistré 222 cellules non directionnelles et observé une corrélation spatiale moyenne plus élevée lorsque les cartes d'activité sont pivotées par rapport aux corrélations réalisées sans rotation, ces dernières ayant une valeur moyenne proche de 0 (**Figures 49.B-E**). Une ANOVA à mesures répétées montre un effet des carte de fréquence non pivotées/pivotées ($F(1,221) = 71.51$, $p < 0.0001$), un effet des pièces identiques/différentes ($F(1,221) = 4.24$, $p = 0.041$) et aucune interaction ($F(1,221) = 0.82$, $p = 0.37$). Le post hoc de Tukey confirme des corrélations spatiales significativement plus élevées pour les cartes d'activité pivotées, comparées à celles non pivotées (S1-2id et S2-2diff, $p < 0.0001$). Ces résultats suggèrent que les neurones du cortex rétrosplénial codent des informations spatiales qui sont répétées de manière opposée entre les pièces des environnements de 2 pièces connectées.

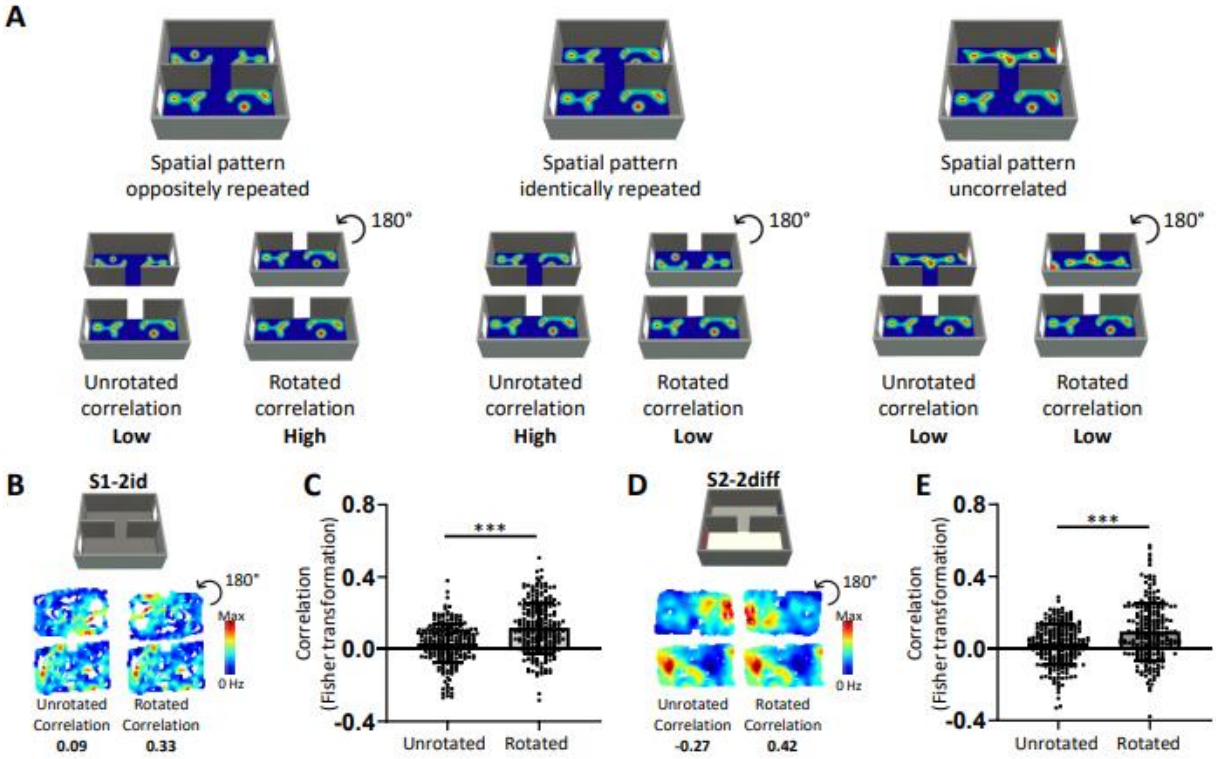


Figure 49. L'activité spatiale des neurones du cortex rétrosplénial est répétée de manière opposée entre 2 pièces connectées

A. Trois activités spatiales hypothétiques dans les environnements connectés de 2 pièces (en haut) et la corrélation spatiale correspondante (soit faible, soit élevée). **B-D.** Exemples de cartes d'activité spatiale dans les environnements connectés de 2 pièces identiques (**B** – S1-2id) et de 2 pièces différentes (**D** – S2-2diff) montrant des activités spatiales répétées et opposées. **C-E.** La moyenne des corrélations spatiales est significativement plus élevée pour les cartes d'activité pivotées que pour les cartes non pivotées, que les pièces connectées soient identiques ou différentes (n = 222). Les données individuelles sont représentées par des points noirs superposées aux histogrammes. *** p < 0,001, ANOVA à mesures répétées.

Pour les environnements de 4 pièces connectées, nous avons effectué la même analyse sur 76 cellules enregistrées dans des environnements de 4 pièces identiques (S1-4id) et de 4 pièces différentes (S2-4diff) (**Figure 50**). De manière similaire aux environnements de 2 pièces connectées, la moyenne des corrélations spatiales s'avère significativement plus élevée pour les cartes d'activité pivotées par rapport aux cartes non pivotées, ces dernières ayant une valeur moyenne de corrélation proche de 0 (**Figure 50.C-D** et **50.F-G**). L'ANOVA à mesures répétées montre un effet significatif des cartes d'activité non pivotées/pivotées ($F(1,75) = 86.88$, $p < 0.0001$), aucun effet de pièces identiques/différentes ($F(1,75) = 0.08$, $p = 0.78$), et

aucune interaction ($F(1,75) = 3.91$, $p = 0.052$). Ces résultats indiquent que, dans les environnements de 4 pièces connectées, les neurones du cortex rétrosplénial codent une information spatiale qui est répétée orthogonalement. Pour confirmer cette observation, nous avons séparé les cartes d'activité des pièces opposées et adjacentes. Étant donné que les pièces opposées présentent une symétrie inversée, nous nous attendions à ce que les cartes pivotées soient positivement corrélées et les cartes non pivotées soient anti-corrélées. En ce qui concerne les pièces adjacentes, ayant une symétrie de 90°, les cartes pivotées devraient être positivement corrélées tandis que les cartes non pivotées devraient présenter une corrélation nulle. Pour les environnements S1-4id et S2-4diff, l'ANOVA à mesures répétées montre un effet des pièces adjacentes/opposées (S1-4id : $F(1,75) = 53.84$, $p < 0.0001$; S2-4diff : $F(1,75) = 34.49$, $p < 0.0001$), un effet des cartes de fréquence non pivotées/pivotées (S1-4id : $F(1,75) = 71.21$, $p < 0.0001$; S2-4diff : $F(1,75) = 89.15$, $p < 0.0001$) et une interaction (S1-4id : $F(1,75) = 31.62$, $p < 0.0001$; S2-4diff : $F(1,75) = 37.78$, $p < 0.0001$) (**Figure 50.E et 50.H**). Le test post hoc de Tukey confirme que la corrélation entre les cartes de fréquence non pivotées est significativement plus faible pour les pièces opposées que pour les pièces adjacentes, tandis qu'aucune différence n'est observée entre les pièces opposées et adjacentes pour les cartes pivotées. Dans l'ensemble, ces résultats confirment que les neurones non directionnels du cortex rétrosplénial supportent une information spatiale ancrée aux caractéristiques spatiales des pièces.

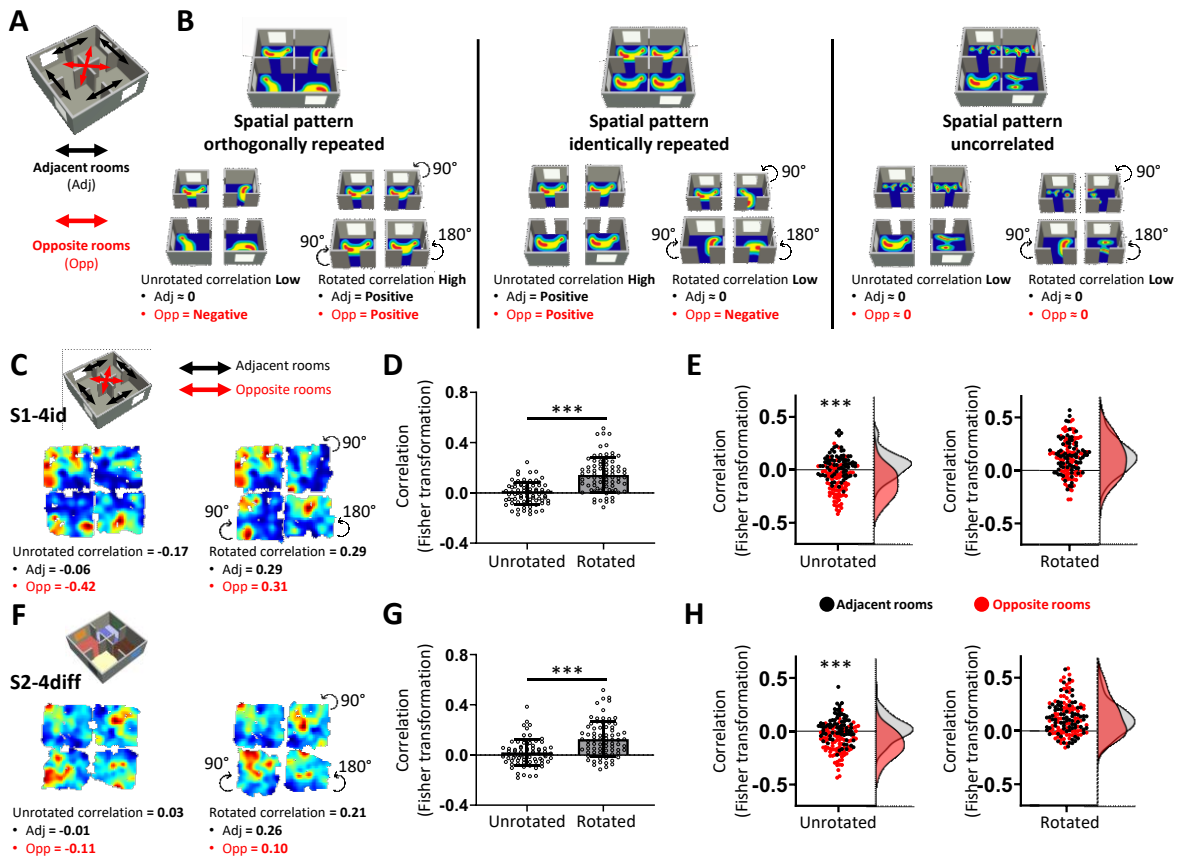


Figure 50. L'activité spatiale des neurones du cortex rétrosplénial est répétée orthogonalement entre 4 pièces connectées

A. Schéma de l'environnement de 4 pièces connectées avec les comparaisons entre les pièces adjacentes (flèches noires) et les pièces opposées (flèches rouges). **B.** En haut : les trois patrons d'activités spatiales hypothétiques. En bas : les corrélations spatiales hypothétiques pour les trois patrons d'activités, pour les pièces adjacentes et opposées, non pivotées et pivotées. **C-F.** Exemples de cartes d'activité spatiale dans les environnements de 4 pièces identiques (**C** – S1-4id) et de 4 pièces différentes (**F** – S2-4diff) montrant des activités spatiales répétées et orthogonales. **D-G.** Les valeurs moyennes de corrélations spatiales révèlent que l'activité spatiale des neurones du cortex rétrosplénial est mieux corrélée pour les cartes de fréquence pivotées que pour les cartes non pivotées, pour les environnements S1-4id et S2-4diff (n = 76). **E-H.** Moyennes et distributions des corrélations spatiales pour les pièces adjacentes (points noirs) et les pièces opposées (points rouges). Pour les cartes non pivotées, des corrélations négatives sont observées entre les pièces opposées et des corrélations nulles entre les pièces adjacentes. Tandis que pour les cartes pivotées, les comparaisons entre pièces adjacentes et opposées donnent des valeurs de corrélations positives. Les données individuelles sont représentées par des points noirs ou rouges. *** $p < 0.001$, ANOVA à mesures répétées.

L'activité des cellules de lieu de l'hippocampe est répétée ou différente mais jamais opposée entre les pièces connectées

L'hippocampe se connecte directement et densément au cortex rétrosplénial granulaire et indirectement et de manière éparse au cortex rétrosplénial dysgranulaire (Cenquizca et Swanson, 2007 ; Lomi *et al.*, 2021 ; Miyashita et Rockland, 2007 ; Van Groen et Wyss, 1990, 1992, 2003). L'hippocampe possède des cellules de lieu dont l'activité peut, soit être différente (*i.e.* recodage spatial), soit être identiquement répétée entre les pièces d'un environnement connecté (Cheng *et al.*, 2024 ; Duvelle *et al.*, 2021 ; Grieves *et al.*, 2016 ; Paz-Villagrán *et al.*, 2004 ; Skaggs et McNaughton, 1998 ; Spiers *et al.*, 2015). Nous nous sommes demandé si l'activité spatiale répétée et orthogonale du cortex rétrosplénial pouvait également être observée chez les cellules de lieu hippocampiques, dans les environnements connectés de 2 et 4 pièces. Nous avons enregistré les neurones de l'hippocampe chez 4 animaux (**figure supplémentaire 7** ; 3 animaux avaient simultanément des tétrodes implantées dans le cortex rétrosplénial) et calculé la corrélation spatiale entre les cartes d'activité de chaque pièce. L'activité spatiale de chaque pièce est ensuite comparée en calculant la corrélation spatiale entre les cartes d'activité non pivotées, ou pivotées, afin d'identifier lequel des trois patrons d'activité spatiale suivants est fourni par les cellules de lieu (**Figure 51.A et 7A**) :

1) Une activité spatiale répétée de manière opposée et orthogonale respectivement dans les environnements de 2 et 4 pièces connectées ;

2) Une activité spatiale identiquement répétée dans toutes les pièces, indépendamment de l'environnement ;

3) Une activité spatiale différente dans chaque pièce (recodage spatial).

Nous avons analysé 60 cellules de lieu dans l'environnement de 2 pièces identiques connectées (S1-2id) et suivi l'activité de 31 de ces cellules de lieu dans l'environnement de 2 pièces différentes connectées (S2-2diff) (**Figure 51.B-C**). Nous avons éliminé les 5 cellules de lieu dont les champs de lieu sont situés au niveau de la porte, car les analyses ne peuvent pas montrer une activité spatiale spécifique aux pièces (**figure supplémentaire 8**). Nous avons utilisé une valeur de 0,4 comme seuil de corrélation spatiale significative.

En grande majorité, les cellules de lieu recodent spatialement entre les pièces dans les environnements S1-2id et S2-2diff (51/60 cellules de lieu, 85 %), une petite proportion montre des champs d'activité répétés entre les pièces (5/60 cellules de lieu, 8 %), mais aucune cellule ne présente des champs d'activité opposée (**Figure 51.D-E**). Nous avons ensuite testé la stabilité des cellules de lieu entre S1-2id et S2-2diff. La **Figure 51.F** montre que la distribution des corrélations entre les deux environnements est bimodale (pics à 0 et 0,55), indiquant que l'activité des cellules de lieu peut être soit stable, soit différente. Cette stabilité (ou instabilité) des champs d'activité est dépendante des sessions (**figure supplémentaire 9**), indiquant que l'activité des cellules de lieu, en tant que population, est hautement cohérente.

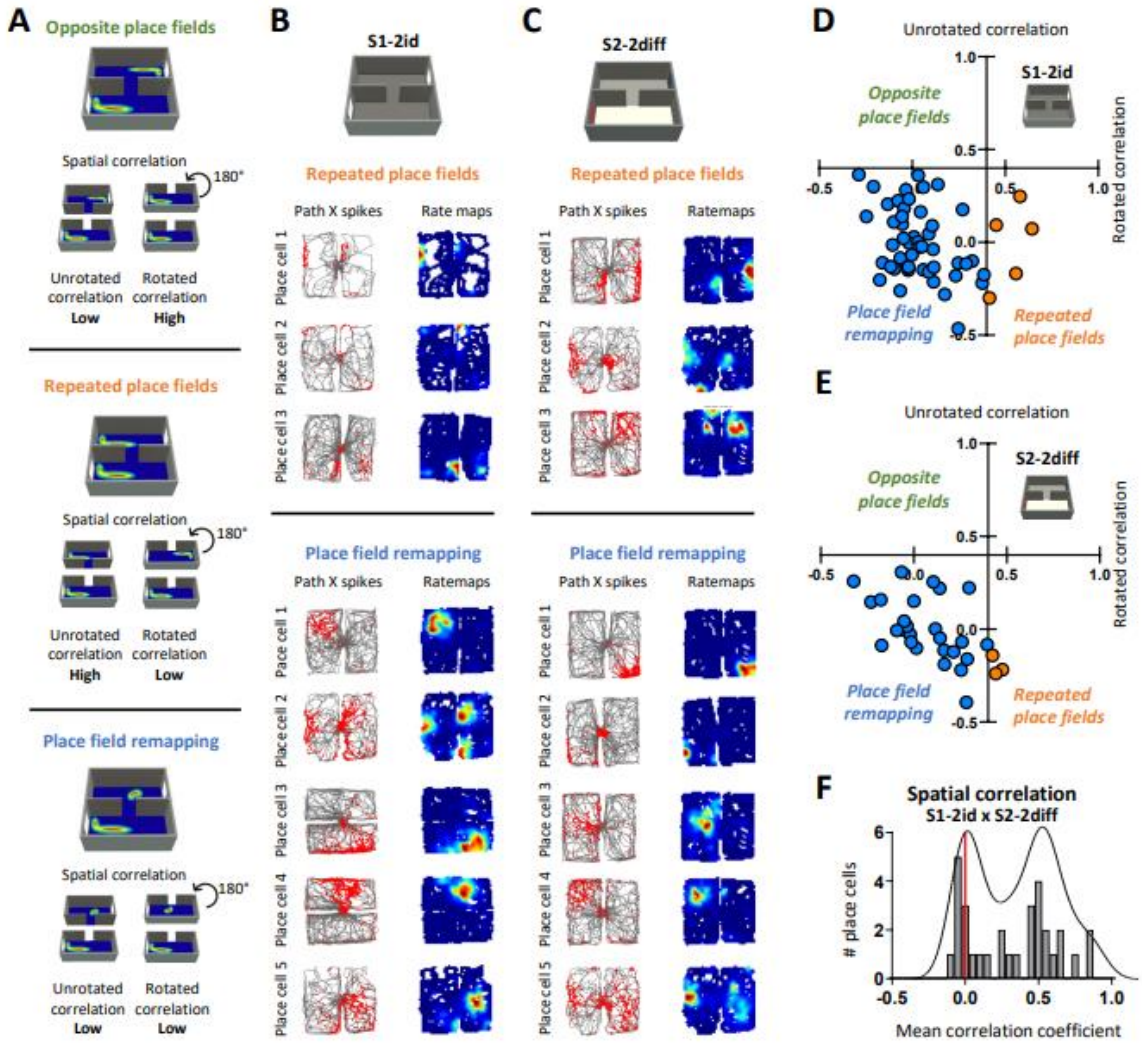


Figure 51. L'activité des cellules de lieu de l'hippocampe est soit répétée, soit différente entre les environnements connectés de 2 pièces

A. Trois activités spatiales hypothétiques observées dans les environnements de 2 pièces connectées (en haut) et la corrélation correspondante (en bas, élevée *vs* faible) entre les

cartes d'activité non pivotées et pivotées. **B-C.** Exemples d'activité des cellules de lieu avec des champs répétés ou différents (recodage spatial) entre les pièces, pour les environnements connectés de 2 pièces identiques (S1-2id) et de 2 pièces différentes (S2-2diff). **D-E.** Représentation en nuage de points des valeurs de corrélation pour toutes les cellules de lieu selon les trois patrons d'activités spatiales hypothétiques (bleu : activité recodée spatialement entre les pièces, orange : activité répétée entre les pièces, vert : activité opposée entre les pièces) révèle que les cellules de lieu ne présentent jamais de champs d'activité opposés entre les pièces, pour les environnements S1-2id (n = 60) et S2-2diff (n = 31). **F.** Distribution des corrélations spatiales de l'activité des cellules de lieu entre S1-2id et S2-2diff et l'estimation de la densité de Kernel correspondante, montrant deux populations : l'une de cellules de lieu stables et l'autre de cellules instables.

Pour les environnements de 4 pièces connectées, nous avons analysé 206 cellules de lieu dans l'environnement connecté de 4 pièces identiques (S1-4id) et suivi l'activité de 141 de ces cellules dans l'environnement de 4 pièces différentes (S2-4diff) (**Figure 52.B-C**). Nous avons observé que la quasi-totalité des cellules de lieu recodent spatialement entre les pièces, en S1-4id (205/206 cellules de lieu, 99,5%), avec une seule cellule de lieu montrant une activité répétée entre des pièces (0,5%) (**Figure 52.D**). En S2-4diff, nous avons trouvé exclusivement des cellules de lieu qui recodent spatialement entre les pièces (**Figure 52.E**). Cependant, nous n'avons jamais mis en évidence de champs d'activité répétés orthogonalement dans aucun des 2 environnements. Enfin, nous avons également observé que l'activité spatiale des cellules de lieu peut être stable ou instable entre S1-4id et S2-4diff (l'estimation de la densité de Kernel montre des pics à 0,05 et 0,7), la stabilité étant dépendante des sessions (**Figure 52.F**, **figure supplémentaire 10**).

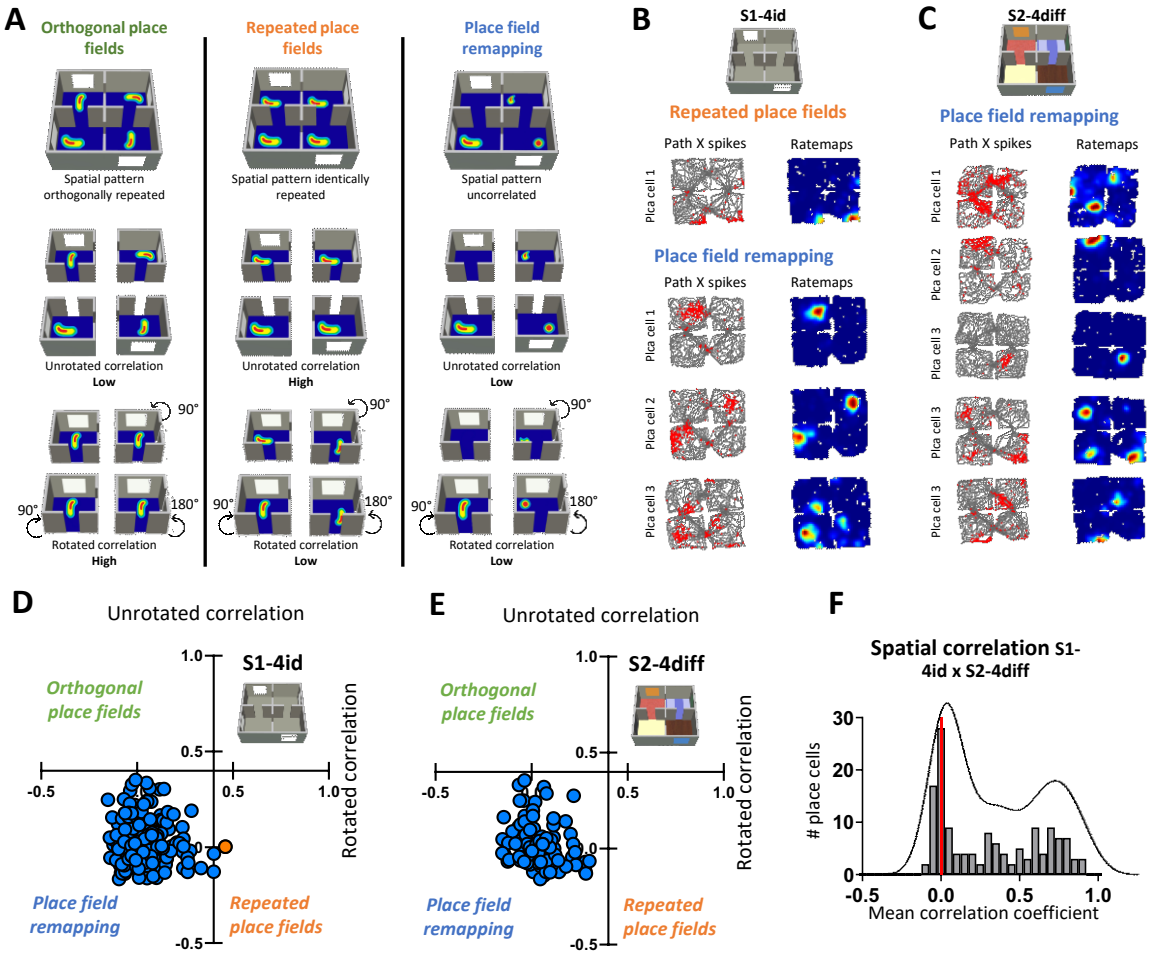


Figure 52. L'activité des cellules de lieu de l'hippocampe est soit répétée, soit différente entre les environnements connectés de 4 pièces

A. Trois activités spatiales hypothétiques peuvent être observées dans un environnement connecté de 4 pièces (en haut) et les valeurs de corrélation correspondantes (en bas, élevées *vs* faibles), pour les cartes de fréquence non pivotées et pivotées. **B-C.** Exemples de cellules de lieu avec des champs d'activité répétés et différents (recodage spatial) entre les pièces, pour les environnements de 4 pièces identiques (S1-4id) et de 4 pièces différentes (S2-4diff). **D-E.** Le nuage de points des corrélations pour toutes les cellules de lieu selon les trois activités spatiales hypothétiques (bleu : champs recodés spatialement, orange : champs répétés, vert : champs orthogonaux) révèle que les cellules de lieu présentent presque exclusivement un recodage spatial entre les pièces, pour les environnements S1-4id (n = 206) et S2-4diff (n = 141). **F.** Distribution des corrélations spatiales de l'activité des cellules de lieu entre S1-4id et S2-4diff et l'estimation de la densité de Kernel correspondante, montrant une population de cellules de lieu stable et une autre instable.

Discussion

Depuis sa découverte, le réseau directionnel est considéré comme le système permettant d'orienter la navigation des animaux, grâce à sa grande stabilité, indépendamment de la complexité de l'environnement (Chen *et al.*, 1994 ; Cho et Sharp, 2001 ; Dudchenko et Zinyuk, 2005 ; Taube *et al.*, 1990 ; Taube et Burton, 1995 ; Yoder *et al.*, 2011). Dans cette étude, nous montrons qu'au-delà des HDCs qui conservent la même PFD entre les pièces connectées, le cortex rétrosplénial contient une autre population de cellules directionnelles, les MDCs, dont la PFD change entre les pièces connectées. De précédentes études, décrivant l'activité des MDCs, utilisaient des pièces visuellement et tactilement identiques (Jacob *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022). Ce type d'environnement pourrait rendre les pièces difficiles à distinguer pour les rats, et remettre en question la nature de l'activité multidirectionnelle, qui pourrait alors résulter de la similarité des signaux externes entre les pièces. Nous avons invalidé cette hypothèse de l'ambiguïté visuelle en démontrant que l'activité des MDCs est toujours présente lorsque les pièces sont différentes et donc facilement différenciables par les rats. De plus, contrairement aux études précédentes, nous avons enregistré des BDCs dans des environnements sans odeur permettant de distinguer les pièces, suggérant que les informations visuelles et tactiles sont suffisantes pour soutenir l'activité des BDCs et des HDCs. Nous avons également observé que les MDCs présentent une activité bidirectionnelle opposée dans un environnement composé de deux pièces opposées et une activité directionnelle orthogonale dans un environnement composé de quatre pièces orthogonales. Une augmentation du nombre de pièces connectées (deux à quatre) conduit donc à une augmentation du nombre d'activités directionnelles des MDCs, et ces activités sont ancrées à l'orientation relative des pièces. Les analyses de l'activité des cellules au sein des pièces révèlent que les MDCs ont une activité unidirectionnelle dans chaque pièce, ressemblant à une HDC. Entre les environnements de 2 et 4 pièces, les MDCs maintiennent leur activité multidirectionnelle tandis que les HDCs restent toujours unidirectionnelles sans jamais devenir multidirectionnelles. Ces observations suggèrent fortement que les MDCs et les HDCs forment deux populations distinctes de cellules directionnelles, remettant ainsi en cause l'hypothèse d'un système directionnel unique dans lequel toutes les HDCs sont intégrées dans un réseau d'attracteur unique (Clark et Taube, 2012 ; Redish *et al.*, 1996 ; Skaggs *et al.*, 1995 ; Zhang, 1996). Ainsi, plusieurs réseaux d'attracteurs de HDCs pourraient exister dans le cerveau

(Kornienko *et al.*, 2018 ; LaChance *et al.*, 2022 ; Samsonovich, 2018), ou toutes les cellules directionnelles du cortex rétrosplénial ne font pas partie du réseau d'attracteur unique (Page et Jeffery, 2018 ; Yan *et al.*, 2021). De futures études aideront à clarifier ces hypothèses alternatives.

Il reste crucial d'identifier ce qui détermine l'activité multidirectionnelle des MDCs. Il serait possible qu'une seule caractéristique de l'environnement conduise à cette activité, tel qu'un repère ou la porte. Cependant, il est peu probable que les repères ou de quelconques signaux visuels soient à l'origine de l'activité des MDCs, puisque l'activité multidirectionnelle se maintient dans l'obscurité totale (Jacob *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022). Les portes ne semblent pas responsables non plus de l'activité multidirectionnelle car, dans les environnements de 4 pièces l'animal peut accéder aux pièces *via* 2 portes positionnées sur des murs perpendiculaires (chacune menant à une pièce adjacente), mais nous n'avons jamais observé de MDC dont l'activité bidirectionnelle serait orthogonale (deux pics séparés de 90°) au sein d'une seule pièce. De même, l'étude de Zhang *et al.* (2022) a montré que les MDCs présentent une activité unidirectionnelle au sein de chaque pièce alors que les animaux entraient dans les pièces par une porte centrale unique. Ces observations suggèrent que le nombre de portes ne détermine pas l'activité multidirectionnelle. Enfin, il est peu probable que les MDCs soient des cellules vectorielles de bord égocentré car leurs PFDs sont uniformément réparties dans toutes les directions et non regroupées selon l'orientation des murs. De plus, les MDCs s'activent partout dans l'environnement et non à des distances fixes par rapport aux murs (Alexander *et al.*, 2020). Nous proposons donc que le facteur clé de l'activité multidirectionnelle ne réside pas en une seule caractéristique de l'environnement, mais soit plutôt induit par un ensemble d'éléments qui caractérisent des cadres de références locaux et globaux (géométrie, symétrie et orientation des pièces, murs, topologie, navigation, buts, etc.). En retour, ces cadres de référence sont essentiels pour naviguer entre des pièces connectées.

Une pièce, limitée par des murs, fournit un cadre de référence unique qui inclut à la fois des caractéristiques spatiales et non spatiales. Dans un environnement plus complexe composé de plusieurs pièces connectées, il existe autant de cadres de référence locaux que de pièces visitées par le sujet. Un cadre de référence global unifie l'ensemble des pièces locales en une représentation unique et donne accès à l'organisation spatiale de l'environnement dans son intégralité ainsi qu'à la manière dont les pièces locales sont connectées entre elles (la

topologie). Ainsi, le sujet peut inférer le chemin le plus direct entre deux pièces éloignées et naviguer efficacement entre elles. L'activité des MDCs s'avère cohérente avec le rôle du cortex rétrosplénial dans l'ancrage de la carte spatiale sur des cadres de référence locaux, puisque leurs PFDs se réorientent chaque fois que l'animal passe d'une pièce à l'autre. En revanche, les HDCs, qui conservent la même PFD entre les pièces, peuvent ancrer la carte spatiale dans un cadre de référence global. Un environnement d'une seule pièce est un cas particulier dans lequel soit le cadre de référence local unique fusionne avec le cadre global, soit il n'existe pas de cadre de référence local mais seulement un cadre global. Il n'est donc pas surprenant d'observer que dans une arène ouverte simple, l'activité directionnelle des MDCs se perd ou devient unidirectionnelle tandis que l'activité des HDCs reste inchangée (Jacob *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022).

Les MDCs et les HDCs représentent environ 10 % des neurones du cortex rétrosplénial, qui contient également des cellules dotées d'autres corrélats spatiaux tels que la position et le mouvement (Alexander *et al.*, 2015, 2017, 2020 ; Chen *et al.*, 1994 ; Cho et Sharp, 2001 ; Keshavarzi *et al.*, 2021 ; Mao *et al.*, 2018 ; Miller *et al.*, 2019, 2021 ; Smith *et al.*, 2012) ou sans corrélats spatiaux apparemment visibles (Auger et Maguire, 2018 ; Todd *et al.*, 2019). Nous avons analysé les cellules non directionnelles et trouvé qu'elles portent des informations spatiales ancrées aux caractéristiques spatiales de la pièce. C'est-à-dire que ces cellules montrent une activité répétée à l'opposé entre les pièces d'environnements composés de 2 pièces opposée et une activité répétée orthogonalement dans les environnements composés de 4 pièces orthogonales, que ces pièces soient identiques ou différentes. Fait intéressant, nous avons mis en évidence que l'activité des cellules de lieu hippocampiques pouvait être différente ou identique entre les pièces, mais jamais opposée ou orthogonale comme observé dans le cortex rétrosplénial, ce qui indique que les deux structures représentent différemment un espace local. De plus, l'activité des cellules de lieu présente soit un recodage spatial, soit une répétition des champs d'activité entre les pièces, mais jamais les deux simultanément (Grieves *et al.*, 2016, 2017 ; Harland *et al.*, 2017 ; Paz-Villagran *et al.*, 2004 ; Spiers *et al.*, 2015). De même, le cortex entorhinal, qui est directement connecté au cortex rétrosplénial (Czajkowski *et al.*, 2013 ; Jones et Witter, 2007 ; Sugar et Witter, 2016 ; Van Groen et Wyss, 1992), contient des cellules de grille qui sont ancrées soit à des cadres de référence locaux soit globaux mais pas aux deux simultanément (Carpenter *et al.*, 2015 ; Derdikman *et al.*, 2009 ; Sanguinetti-Scheck et Brecht, 2020). En revanche, les MDCs et les HDCs ont été observées

simultanément dans le cortex rétrosplénial. Ces résultats identifient le cortex rétrosplénial comme une structure cérébrale unique et critique pour former des représentations spatiales, simultanément dans différents cadres de référence. Ces représentations locales et globales pourraient être transmises aux systèmes spatiaux hippocampiques et entorhinaux qui, eux, utilisent un seul des deux cadres de référence, possiblement en fonction des informations pertinentes, pour le comportement de l'animal, ou ses déplacements.

Au-delà des découvertes de codages simultanés des cadres de référence allocentré et égocentré dans le cortex rétrosplénial chez les humains et les rongeurs (Alexander *et al.*, 2015, 2020, 2023 ; Byrne *et al.*, 2007 ; Clark *et al.*, 2018 ; Kim et Maguire, 2018 ; Marchette *et al.*, 2014 ; Peer *et al.*, 2019 ; Shine *et al.*, 2016 ; Van Wijngaarden *et al.*, 2020), nos résultats suggèrent que le cortex rétrosplénial forme une représentation de l'espace en combinant plusieurs dimensions spatiales. L'intégration de ces dimensions dans une représentation cohérente au sein du réseau rétrosplénial-entorhinal-hippocampique pourrait renforcer la capacité de navigation dans des environnements complexes.

Figures supplémentaires

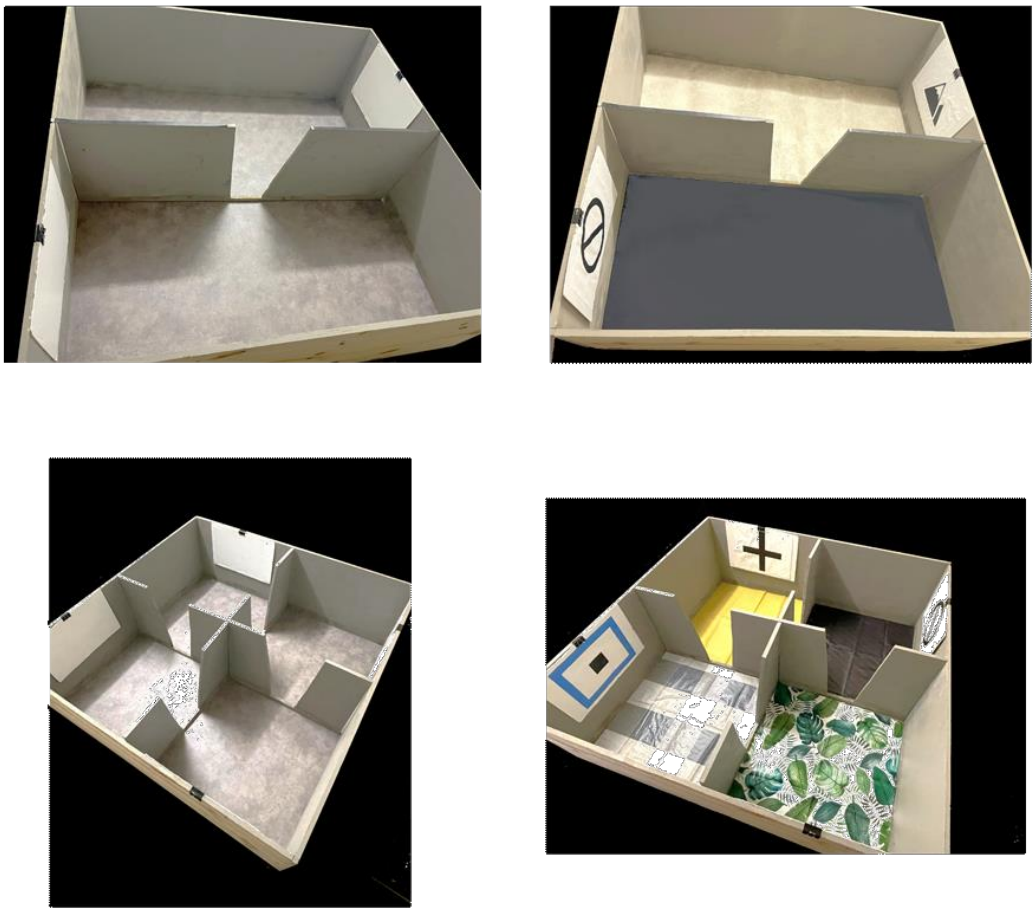


Figure supplémentaire 1. Photos des environnements connectés composés de 2 ou 4 pièces, identiques ou différentes
A. L'environnement composé de 2 pièces identiques connectées (mêmes repères visuels et sol). **B.** L'environnement composé de 2 pièces différentes connectées (repères visuels, couleurs et textures des sols différents). **C.** L'environnement composé de 4 pièces identiques connectées (mêmes repères visuels et sol). **D.** L'environnement composé de 4 pièces différentes connectées (repères visuels, couleurs et textures des sols différents).

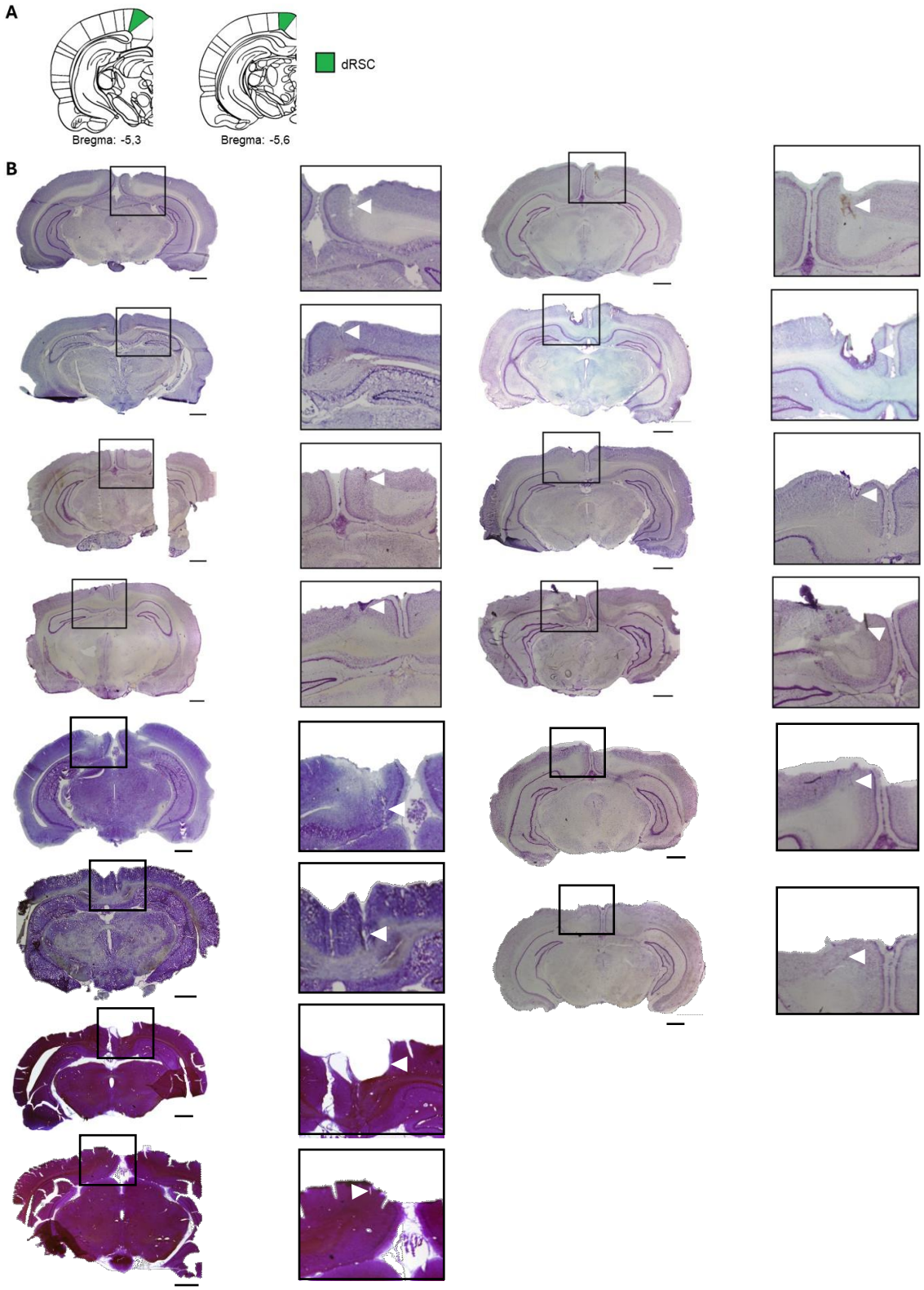


Figure supplémentaire 2. Histologie du cortex rétrosplénial.
A. Schéma montrant la localisation du cortex rétrosplénial dysgranulaire chez les rats, adapté de Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4e édition. Academic Press, 1998. **B.** Coupes coronales à travers la région d'implantation des électrodes dans le cortex rétrosplénial (encadrés noirs) avec des barres d'échelle indiquant 1 mm. À droite de chaque coupe : agrandissement des encadrés pour visualiser la trace des électrodes (identifiée par une flèche blanche).

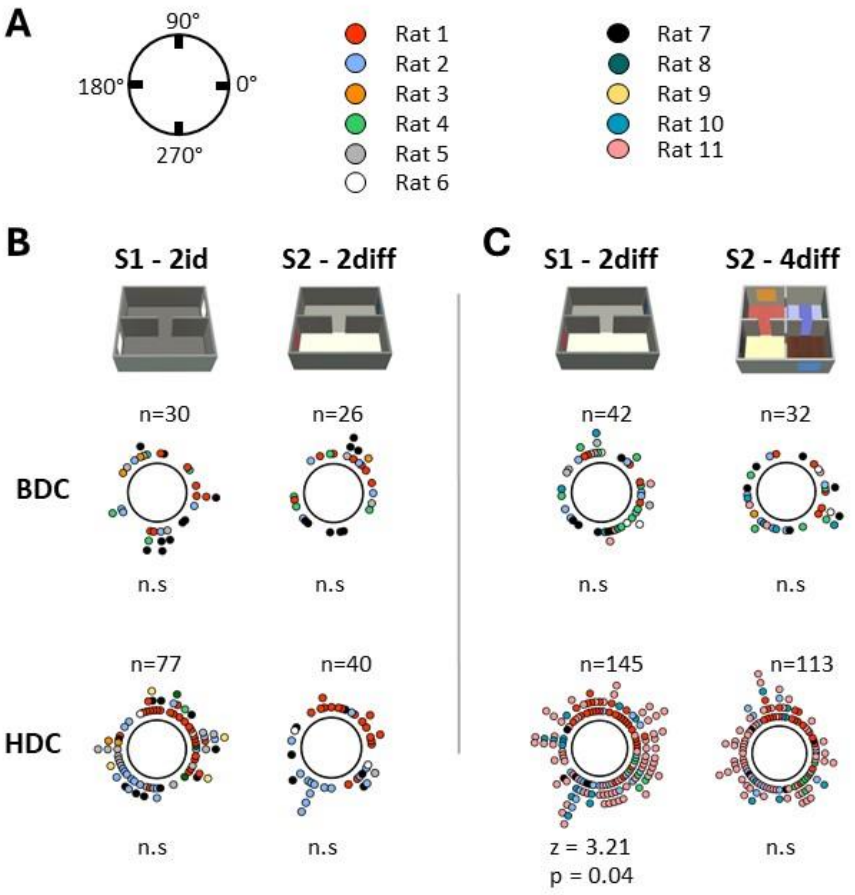


Figure supplémentaire 3. Activité directionnelle des BDCs et HDCs dans le cortex rétrosplénial

A. Gauche : graphique polaire des directions. Droite : code couleur pour chaque rat. **B.** La distribution polaire des PFDs pour les BDCs (au milieu) et les HDCs (en bas) est homogène (test de Rayleigh) dans les environnements de 2 pièces connectées. **C.** La distribution polaire des PFDs des BDCs (au milieu) est homogène (test de Rayleigh) dans les environnements de 2 et 4 pièces connectées (au milieu) et pour les HDCs dans l'environnement de 4 pièces connectées (en bas à droite), tandis que la distribution des PFDs n'apparaît pas homogène pour les HDCs dans l'environnement de 2 pièces connectées différentes (en bas à gauche).

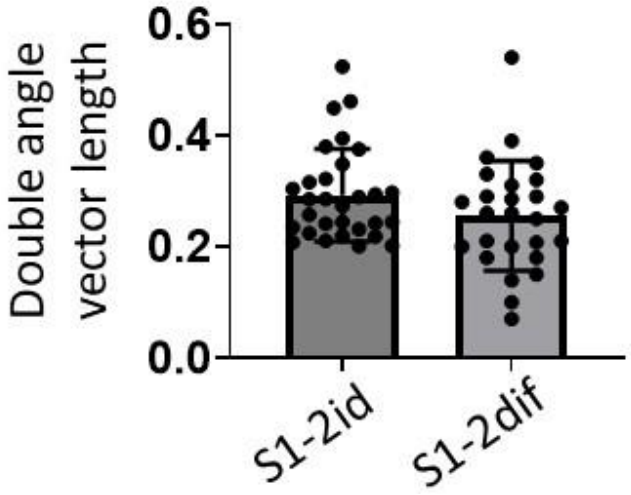


Figure supplémentaire 4. Comparaison de l'activité directionnelle des BDCs dans des environnements de 2 pièces connectées

Les moyennes des longueurs du vecteur de Rayleigh, après application de la procédure de doublage d'angle, sur l'activité directionnelle des BDCs (voir **Méthodes**), ne montrent aucune différence entre les environnements de 2 pièces identiques et de 2 pièces différentes.

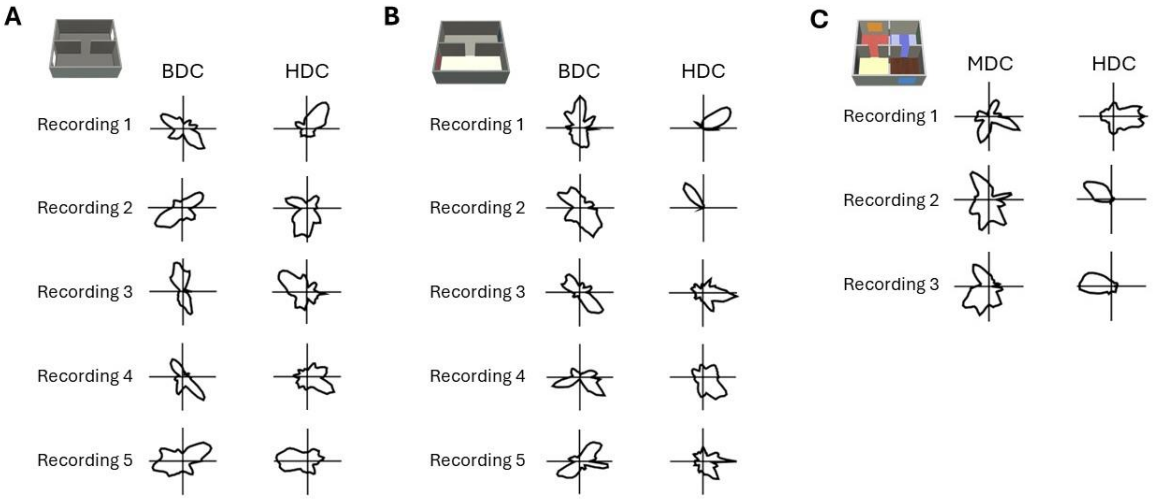


Figure supplémentaire 5. Enregistrements simultanés des BDCs, MDCs et HDCs

A. 5 exemples de BDCs et HDCs enregistrées durant 5 jours différents, chez 4 animaux différents, dans l'environnement de 2 pièces identiques. **B.** 5 exemples de BDCs et HDCs enregistrées simultanément, durant 5 jours différents, chez 3 animaux différents, dans l'environnement de 2 pièces différentes. **C.** 3 exemples de MDCs et HDCs enregistrées

simultanément durant 2 jours différents, chez 2 animaux différents, dans l'environnement de 4 pièces différentes.

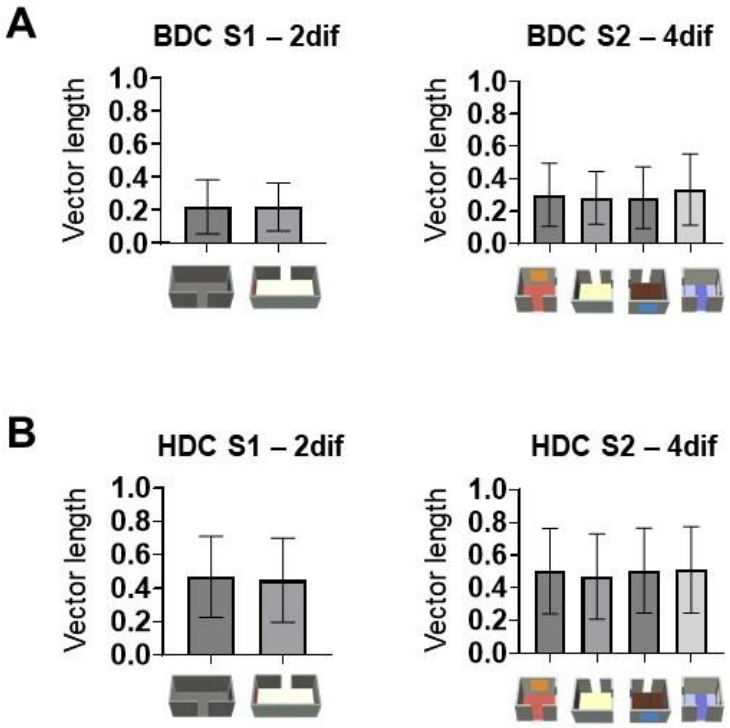


Figure supplémentaire 6. Comparaison de la longueur du vecteur de Rayleigh entre les pièces

Les moyennes des longueurs du vecteur de Rayleigh pour chaque pièce individuelle, ne montrent aucune différence pour les BDCs (**A**) et les HDCs (**B**), que les pièces soient identiques (à gauche) ou différentes (à droite).

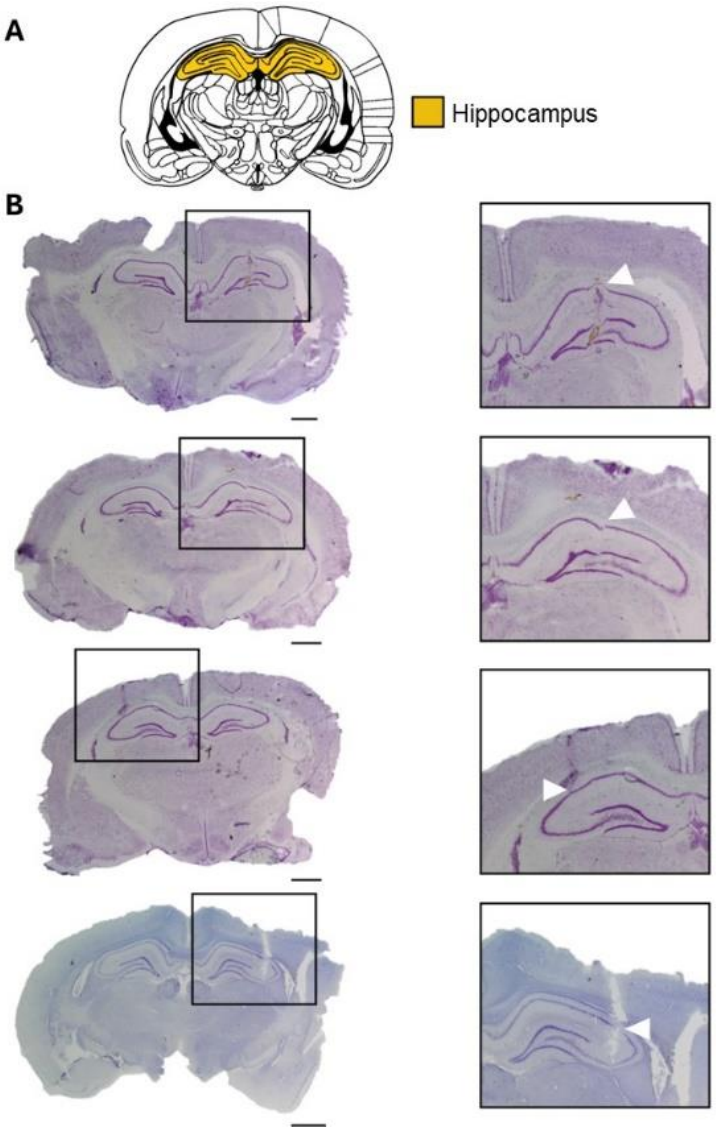


Figure supplémentaire 7. Histologie de l'hippocampe.

A. Schéma montrant la localisation de l'hippocampe adapté de Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4e édition. Academic Press 1998. **B.** Coupes coronales à travers la région d'implantation des électrodes dans l'hippocampe (encadrés noirs) avec des barres d'échelle indiquant 1 mm. À droite des coupes : agrandissement des encadrés pour visualiser la trace des électrodes (flèche blanche).

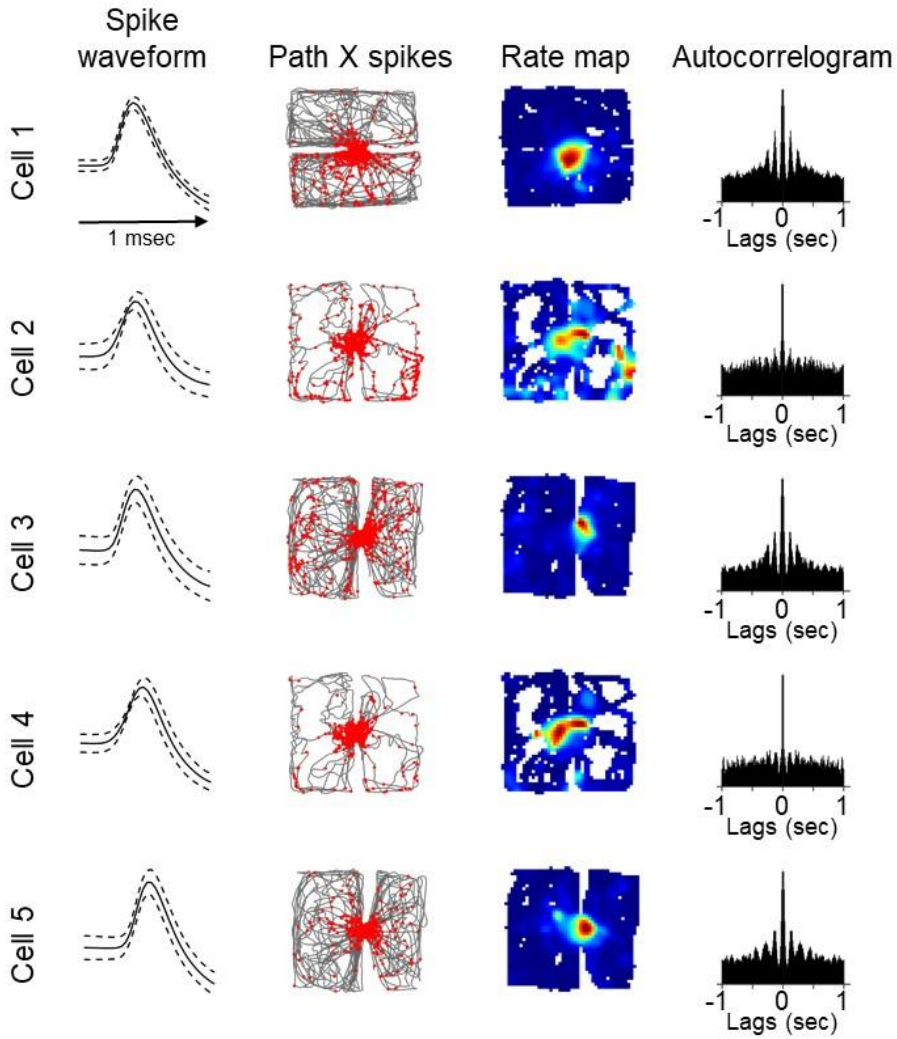


Figure supplémentaire 8. 5 cellules de lieu avec un champ d'activité situé au niveau de la porte dans l'environnement de 2 pièces

Les 5 cellules de lieu exclues des analyses en raison de leur champ d'activité situé au niveau de la porte, dans l'environnement de 2 pièces. Pour chaque cellule de lieu, sont montrés la forme moyenne des potentiels d'action de la cellule (colonne de gauche), le trajet de l'animal (ligne grise) sur lequel est superposée la position de l'animal pour chaque potentiel d'action (points rouges) (milieu-gauche), les cartes d'activité spatiale suivant une échelle de couleurs variant du bleu (0 Hz) au rouge (fréquence maximale ; milieu-droit), et les autocorrélogrammes de l'activité sur un intervalle de 1 seconde (droite).

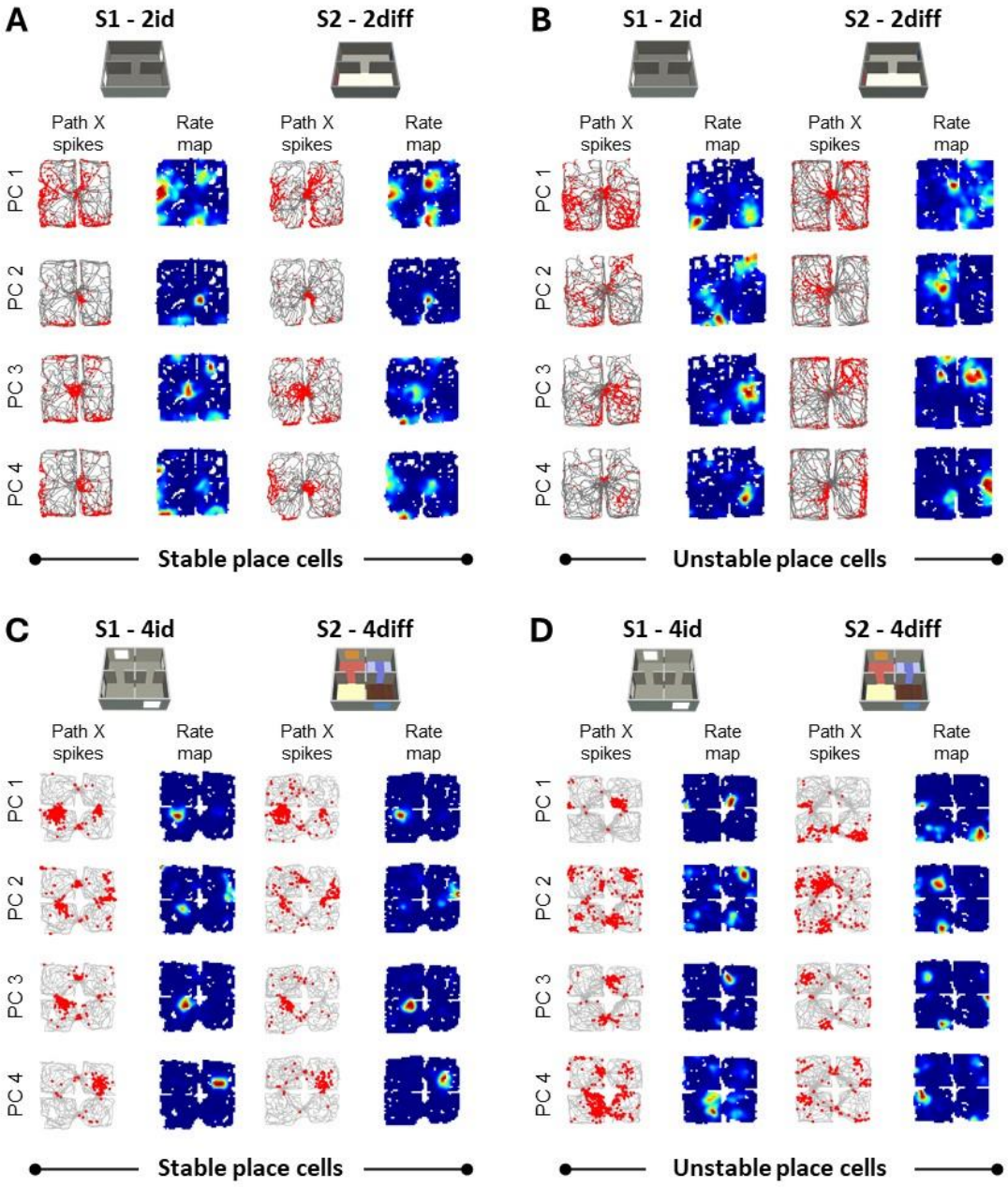


Figure supplémentaire 9. La stabilité des cellules de lieu entre les pièces dépend des sessions
Exemples de l'activité des cellules de lieu enregistrées à la fois dans les environnements de pièces identiques (à gauche) et différentes (à droite). Lors d'une session donnée, les cellules de lieu montrent soit des champs d'activité stables (**A-C**) soit des champs d'activité instables (**B-D**). Pour chaque cellule de lieu sont montrés le trajet de l'animal (ligne grise) avec les pics superposés (points rouges ; à gauche) et les cartes d'activité selon une échelle de couleurs variant du bleu (0 Hz) au rouge (fréquence maximale).

Etude 2 : Activité des cellules de grille et de lieu dans une tâche de navigation orientée vers un but

Les cellules de grille du cortex entorhinal médian déchargent selon un motif hexagonal périodique qui couvre l'environnement exploré. Cette activité est supposée fournir une carte métrique de l'espace, construite à partir de l'intégration des informations liées aux mouvements propres d'un animal. Cependant, des études de plus en plus nombreuses font apparaître que cette grille n'est pas aussi rigide qu'on le pensait initialement dans la mesure où elle peut être déformée par des changements environnementaux, tels que des modifications de la géométrie ou de la topologie. De même, l'activité des cellules de lieu qui reflète la position d'un animal dans un environnement particulier est influencée par de nombreux paramètres spatiaux et non spatiaux, ce qui rend sa représentation beaucoup plus sensible au contexte environnemental ou comportemental de l'animal.

De nombreuses études ont exposé des modulations de l'activité des cellules de grille et de lieu lorsque les animaux sont engagés dans une tâche de navigation vers un but, avec très souvent une surreprésentation du but, *via* une accumulation des champs d'activité (voir **Chapitre 3** ; Boccara *et al.*, 2019 ; Dupret *et al.*, 2010 ; Hollup *et al.*, 2001). La principale critique dans l'interprétation des changements d'activité de ces cellules dans des tâches de navigation orientées vers un but provient du fait que la position du but et l'obtention de la récompense sont confondus (car la récompense est placée au but). Afin de lever cette ambiguïté, Hok *et al.* (2007) ont repris la tâche comportementale de Rossier *et al.* (2000) dans laquelle la composante spatiale du but est dissociée de l'obtention de la récompense. Dans cette tâche, les animaux se dirigent vers un but *non indicé* où ils doivent attendre deux secondes, afin qu'un granulé de nourriture tombe au hasard dans l'arène. Les animaux s'engagent alors dans un comportement d'exploration jusqu'à ce qu'ils trouvent la récompense puis retournent vers le but pour obtenir une nouvelle récompense. Des études antérieures montrent que les cellules de lieu développent majoritairement un champ secondaire à l'emplacement du but, en plus d'un champ principal observé classiquement sur une cellule de lieu. Cette activité secondaire indiquerait aux animaux qu'ils ont atteint le but. Un post-doctorant de mon équipe, F. Capitano, a récemment observé que dans cette même tâche, les champs d'activité des cellules de grille s'écartent autour du but.

Ces résultats suggèrent qu'un but « purement » spatial module aussi l'activité des cellules de de grille. Mais dans cette tâche, le but est-il vraiment uniquement spatial ? En effet, les animaux doivent attendre deux secondes au but avant de recevoir une récompense, ce qui peut impliquer une anticipation ou une attente de la récompense, un signal d'inhibition du mouvement, de ralentissement, d'arrêt, de frustration, ou une estimation temporelle.

Au cours de mes travaux de thèse j'ai donc approfondi la question de l'impact de la contrainte temporelle sur l'activité des cellules de lieu et de grille. Pour ce faire, j'ai enregistré les cellules de l'hippocampe et du cortex entorhinal médian chez des animaux qui ont réalisé cette tâche de navigation orientée vers un but, sans le délai de deux secondes. Ainsi, dans cette version *sans délai* de la tâche, le but devient une zone saillante de l'environnement, un peu plus « purement » spatiale que dans la version *avec délai*.

Hypothèse :

La simple présence d'un but spatial, sans récompense ni attente associée, modifie-t-elle l'activité des cellules de grille et de lieu ?

Activité des cellules de grille et de lieu dans une tâche de navigation orientée vers un but

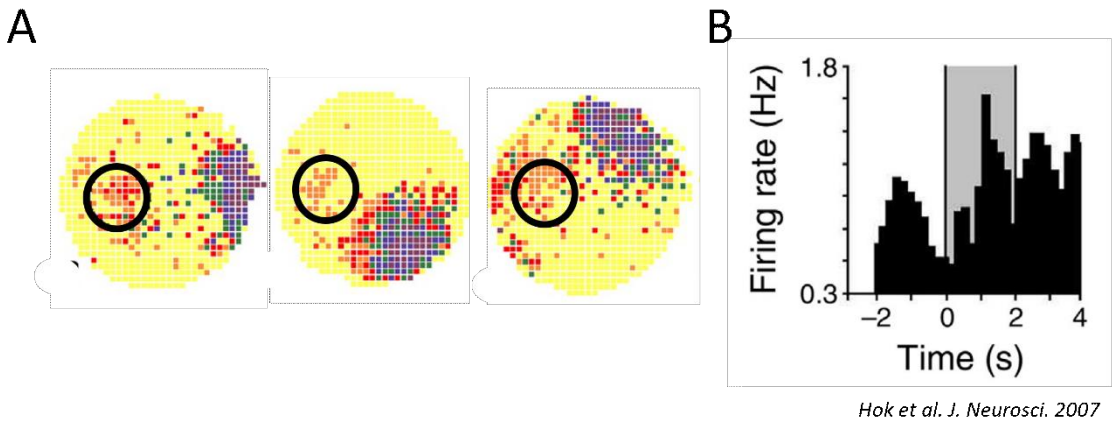
Dans cette étude j'ai confectionné les implants cérébraux, les animaux ont été opérés par Pierre-Yves Jacob et moi-même. J'ai appris aux animaux la tâche de navigation continue vers un but, réalisé les enregistrements électrophysiologiques complémentaires à l'étude de F. Capitano, analysé et interprété les résultats.

Activité des cellules de grille et de lieu dans une tâche de navigation orientée vers un but

Introduction

Pour s'orienter et trouver son chemin, un animal doit être capable d'une part, de localiser sa propre position dans son environnement et, d'autre part de connaître l'emplacement de ses différents buts afin de planifier ses trajets et de s'y rendre. Définir comment les cellules spatiales représentent de tels lieux saillants dans un environnement se révèle central pour comprendre le rôle des cellules de lieu dans la navigation spatiale. Les travaux antérieurs n'aboutissent pas à un consensus clair. Les études s'étant intéressées à cette question présentent des résultats variés tels qu'une accumulation des champs au but (Hollup *et al.*, 2001 ; Dupret *et al.*, 2010 ; Xiao *et al.*, 2020 ; Boccara *et al.*, 2019), une activité propre au trajet menant au but (Grieves *et al.*, 2016 ; Ainge *et al.*, 2007 ; Smith et Mizumori, 2006), une augmentation de la fréquence d'activité des champs proches du but (Bulter *et al.*, 2019) ou au sein même des champs lors du déplacement vers le but (Aoki *et al.*, 2019), une diminution de l'activité au fur et à mesure de l'approche du but (Ainge *et al.*, 2007 ; Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2018). Ces résultats suggèrent que ces activités seraient dépendantes des contraintes des différentes tâches plutôt que de la présence même d'un but. Dans toutes ces tâches, la position du but est confondue avec l'obtention de la récompense. C'est pourquoi Hok *et al.* (2007) enregistrent des cellules de lieu dans une tâche de navigation vers un but *non indicé* : après une pause de deux secondes au but, un granulé de nourriture est libéré et tombe dans l'arène à une position aléatoire. De ce fait, le but est une zone sans signifiance particulière mais qui devient importante par le comportement de l'animal puisqu'il doit apprendre à la localiser grâce à un repère visuel placé sur la paroi de l'arène. Cette tâche présente l'avantage d'alterner une phase de navigation vers le but et une phase d'exploration durant laquelle l'animal cherche puis récupère la récompense. Ainsi, l'ensemble de l'environnement est exploré par les animaux, ce qui permet de bien caractériser l'activité spatiale des cellules. Dans cette tâche, 84% des cellules de lieu présentent une activité secondaire au niveau du but, pendant les phases de navigation (**Figure 53.A**). Un contrôle de la vitesse de déplacement des animaux n'impacte pas ce résultat. De manière intéressante, les auteurs constatent que

lorsque le but est *indicé*, 39% cellules de lieu préservent une activité au but, en dehors de leur champ principal. L'analyse temporelle de l'ensemble des cellules de lieu révèle que le pic d'activité débute dès les premiers instants suivant l'arrivée au but, contrairement à la version *non indicée* où le pic d'activité apparaît après une seconde d'attente au but (**Figure 53.B** ; alors que les profils de vitesse étaient similaires entre les deux tâches).



Hok et al. J. Neurosci. 2007

Figure 53. Activité secondaire des cellules de lieu au but
A. 3 exemples de cartes d'activité de cellules de lieu, une activité secondaire apparaît spécifiquement au but en dehors de leur champ principal. **B.** Distribution temporelle de l'activité de l'ensemble des cellules de lieu sur une période de 6 secondes centrée sur l'entrée au niveau du but (de -2 à 0 secondes : l'animal arrive au but, 0 seconde : l'animal entre au niveau du but, 0 à 2 secondes : délai d'attente de l'animal au niveau du but pour obtenir la récompense, 2 à 4 secondes : l'animal sort du but et cherche la récompense dans l'arène. L'histogramme présente un pic d'activité au milieu de la période de délai au but, vers 1 seconde. *Figures issues de Hok et al. (2007).*

Après avoir examiné l'activité des cellules de lieu, F. Capitano et F. Sargolini se sont intéressés à l'activité des cellules de grille dans cette tâche de navigation continue. Ils ont observé que les cellules de grille présentent une expansion locale de leur grille à l'emplacement du but, et restent régulières dans le reste de l'arène (**figure 54**).

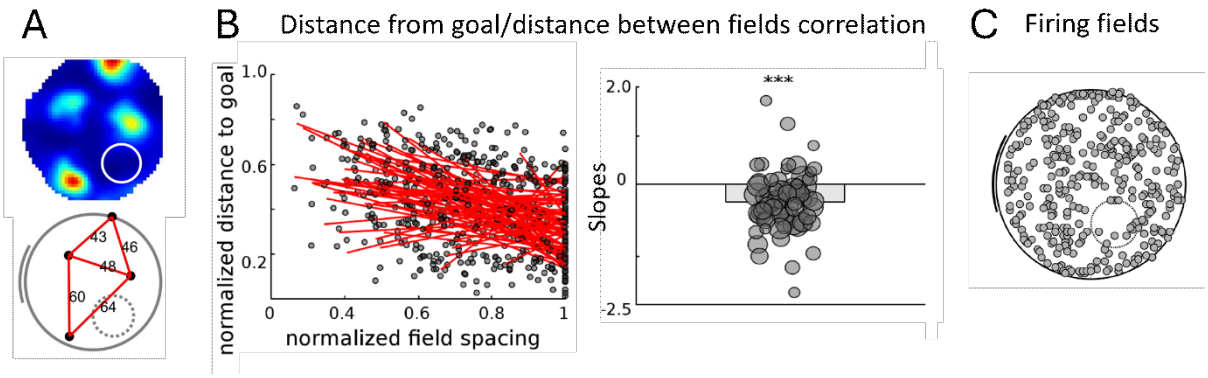


Figure 54. Expansion locale de la grille autour du but

A. Exemple d'une cellule de grille, les champs à proximité du but sont plus écartés que les champs éloignés comme le montre le schéma du bas par des mesures des distances entre les champs : chaque champ est représenté par un point et la distance séparant deux champs voisins est représentée par un segment rouge (distance indiquée en cm). **B.** Gauche : pour chaque cellule, la distance entre les champs (normalisée par la distance maximale entre deux champs) est représentée en fonction de la distance des champs par rapport au but (normalisée par la distance maximale entre le but et les champs). Une droite de régression linéaire est calculée pour chaque cellule (droites rouges). Droite : les valeurs des pentes de ces droites de régression linéaires sont significativement inférieures à 0, ce qui indique une corrélation négative entre la distance séparant les champs et leur distance par rapport au but. Chaque cercle représente une cellule de grille et le diamètre de chaque cercle est proportionné au nombre de champs d'activité de la cellule. Ces résultats montrent que les champs à proximité du but sont plus écartés que les champs éloignés du but. **C.** Cette observation est confirmée par la position des champs dans l'arène : ils sont très peu nombreux à l'emplacement du but. *** $p < 0{,}001$, test t contre 0, pour un échantillon.

F. Capitano a observé que l'expansion des grilles n'est pas dépendante de la vitesse de l'animal. Il a également montré que d'autres paramètres locomoteurs, de comportement ou de temps d'occupation du but ne modifient pas la structure de la grille car elle maintient sa distorsion au but (**figure 55**). De même, la taille des champs est constante dans toute l'arène.

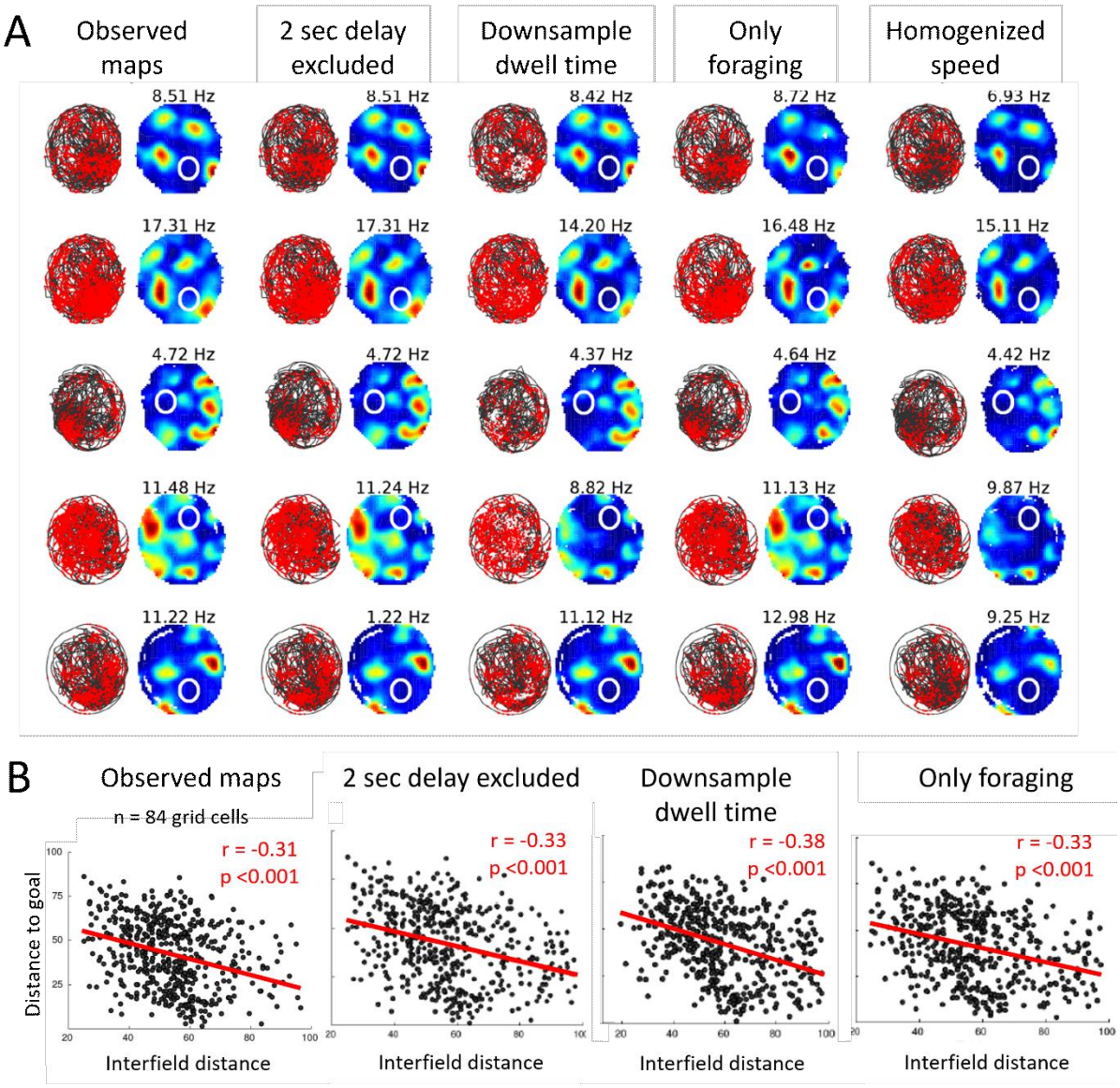


Figure 55. Expansion de la grille au but et contrôles

A. Cinq exemples de cellules de grille au cours d'une session entière (colonne de gauche), sans les deux secondes d'attente au but (2ème colonne), avec un temps d'occupation homogène dans toute l'arène (3ème colonne), avec seulement les périodes d'exploration (4ème colonne) et avec une vitesse de déplacement homogène dans toute l'arène (dernière colonne). Pour chaque colonne, à gauche : la trajectoire de l'animal sur laquelle est superposée sa position à chaque potentiel d'action et à droite : la carte d'activité correspondante. **B.** Dans toutes les conditions (observées et contrôles), l'ensemble des cellules de grille présente une corrélation négative entre l'espacement des champs et la proximité au but. Les droites de régression linéaires (droite rouge) montrent des pentes négatives ainsi que des coefficients de corrélation (r) négatifs et significatifs.

A ce jour, la fonction de l'expansion locale de la grille ainsi que l'apparition d'une activité secondaire des cellules de lieu au niveau du but, reste inconnue. De même que les mécanismes

sous-jacents à l'émergence de ces activités ainsi que les influences réciproques entre ces deux populations de cellules n'ont pas encore été élucidés.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer ce signal au but, car même si l'animal navigue correctement jusqu'au but, il n'est pas encore possible de conclure que ces signaux forment une représentation d'un but spatial de l'environnement. En effet, au cours de cette tâche, plusieurs autres traitements cognitifs peuvent avoir lieu au but, ces activités des cellules de grille et de lieu pourraient notamment constituer un signal de confirmation de l'atteinte du but, le reflet d'une estimation temporelle, d'une frustration (car il est très désagréable pour les rats de devoir attendre sans bouger et d'autant plus juste avant de pouvoir récupérer une récompense), d'une anticipation ou de l'attente de la récompense, d'une inhibition des mouvements. La plupart de ces hypothèses sont intimement liées à l'attente de deux secondes au niveau du but. Ainsi, mes travaux m'ont permis d'approfondir cette question en supprimant la contrainte temporelle de la tâche : les trois animaux dont j'ai enregistré les neurones du cortex entorhinal médian et de l'hippocampe devaient réaliser la tâche de navigation continue sans délai. Pour cela, les animaux devaient seulement croiser l'emplacement du but, sans s'arrêter, afin de libérer un granulé de nourriture. L'objectif est alors de comprendre si la modification locale de l'activité des cellules de grille et l'activité secondaire des cellules de lieu au but sont influencées par le délai de 2 secondes.

Les résultats présentés ci-après, concernent uniquement les cellules de lieu et de grille que j'ai enregistrées chez trois animaux, d'abord dans la version *sans délai* de la tâche, puis dans la version *avec délai,* au cours de laquelle l'activité neuronale de l'un des trois animaux a également été enregistrée. Il devient alors possible de comparer les activités des cellules entre les deux versions de la tâche. Les analyses présentées sont préliminaires et seront complétées par les données de F. Capitano, en vue d'une publication.

Matériels et méthodes

Sujets

Les informations concernant les sujets de l'expérience sont identiques à l'étude 1 (**voir page 143**). Les 3 rats de la présente étude sont tous des mâles.

Implant et chirurgie

Le matériel de fabrication des implants et les conditions de chirurgie sont identiques à ceux de l'étude 1 (**voir page 143**). Dans cette étude, la moitié des tétrodes est implantée dans l'hippocampe (aux coordonnées suivantes à partir du Bregma : AP -3,8 mm, ML +/- 3,0mm et DV -1,8mm sous la dure-mère) et l'autre moitié dans le cortex entorhinal médian des rats (aux coordonnées suivantes : AP -0,4 – 0,6 mm devant le sinus veineux, ML 4,8 – 5,0 mm et DV 1,5 mm sous la dure-mère).

Dispositif expérimental

Les animaux exécutent une tache orientée vers un but dans une arène circulaire noire de 1m de diamètre. L'arène est polarisée par un repère visuel, une carte blanche (de 30 x 40 cm), placée sur la paroi. Toutes les autres informations concernant le dispositif expérimental sont identiques à celles de l'étude 1 (**voir page 144**).

Système d'enregistrement

Identique à celui de l'étude 1 (**voir page 146**).

Tâche comportementale

Les animaux exécutent une tâche de navigation vers un but afin d'obtenir une récompense. Ils doivent localiser un but circulaire *non indicé*, dans une arène circulaire. Le logiciel DataWave SciWorks (DataWave Technologies, Longmont, CO, USA) détecte les LEDs placées sur la tête de l'animal et chaque fois que l'animal entre dans le périmètre du but, le distributeur de nourriture est activé. Le distributeur laisse alors tomber automatiquement un granulé de nourriture qui, en rebondissant, peut atterrir n'importe où dans l'arène. Après chaque libération de granulé, les rats doivent explorer aléatoirement l'arène pour trouver la récompense. Le comportement des animaux alterne ainsi entre deux phases : une première phase de navigation vers un but et une seconde phase d'exploration. Chaque session dure 16

minutes. En début d'apprentissage, le rayon du but mesure 18 cm. Dès que les animaux remplissent le critère d'apprentissage de deux croisements du but par minute (sur une session entière), son rayon est réduit de 1 cm à la session suivante. Une fois le rayon final de 13 cm atteint, l'entraînement est terminé. Les tétrodes sont implantées par chirurgie stéréotaxique et une semaine plus tard, les enregistrements de cellules de lieu et de grille commencent.

Après environ un à deux mois d'enregistrement, lorsque plusieurs cellules ont été suivies au cours du protocole (voir « **Protocole d'enregistrement** »), les animaux exécutent une variante de cette tâche avec l'instauration d'un délai (identique à la tâche de Hok *et al.*, 2007 et Duvelle *et al.*, 2019) : les animaux doivent rester deux secondes au but afin que la libération de la récompense soit déclenchée.

Protocole d'enregistrement

Une semaine après la chirurgie d'implantation, les enregistrements quotidiens des animaux peuvent débuter. Lorsqu'aucune activité unitaire ne peut être isolée ou à la fin du protocole, les tétrodes sont abaissées de 50 µm. Dès lors qu'une ou des activités de neurones sont isolées, les enregistrements peuvent débuter. Les animaux réalisent 3 sessions successives de 16 minutes chacune. La première session se déroule à la lumière, la seconde dans l'obscurité et la troisième de nouveau à la lumière (**figure 56**). Il est important de noter qu'entre chaque session, les rats ne sont pas débranchés mais placés dans une boîte pendant que l'expérimentateur lave le sol, afin de limiter la présence de repères olfactifs. Pendant les sessions à la lumière les animaux peuvent s'orienter grâce à un repère visuel. En revanche, dans l'obscurité, les informations idiothétiques sont les seules informations disponibles permettant à l'animal de s'orienter. Le passage de la lumière à l'obscurité entraîne donc une modification de la stratégie d'orientation utilisée par les animaux.

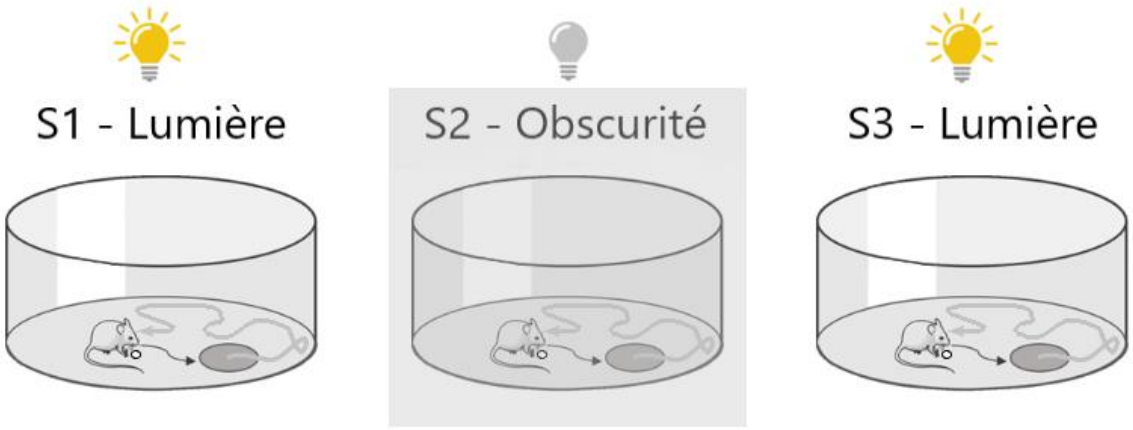


Figure 56. Protocole expérimentale de la tâche de navigation continue
Les animaux exécutent la tâche lors d'une première session à la lumière avec un repère visuel permettant de s'orienter (S1), puis dans l'obscurité sans repère visuel (S2) et de nouveau à la lumière avec le repère visuel (S3). Entre chaque session, les repères olfactifs sont neutralisés. Les animaux doivent naviguer vers le but *non indicé* (flèche noire) et soit le traverser (version *sans délai*), soit s'y arrêter deux secondes (version *avec délai*), afin d'obtenir une récompense. Les animaux explorent alors l'environnement pour récupérer la récompense (flèche grise), et ainsi de suite durant 16 minutes.

Analyses des données

Toutes les analyses de données (à l'exception du *spike sorting*) ont été effectuées avec des scripts personnalisés sur Matlab®.

Spike sorting

Identique à celui de l'étude 1 (**voir page 147**).

Cartes d'activité spatiale

Pour toutes les cellules enregistrées, les cartes d'activité spatiale ont été générées en divisant l'environnement en pixels de 2,5 × 2,5 cm. Le nombre de potentiels d'action par pixel est divisé par le temps passé dans le même pixel afin de fournir une carte de fréquence (brute). Des cartes d'activité lissées sont ensuite générées à l'aide d'un filtre *Boxcar*. Une carte d'activité colorée est générée en attribuant un code couleur qui varie du bleu (fréquence la plus faible)

au rouge (fréquence la plus forte). Sur ces cartes de fréquence colorées, les pixels qui n'ont pas été visités par le rat sont affichés en blanc.

Sélection des cellules de lieu

Pour chaque carte de fréquence, deux mesures classiques de sélectivité spatiale ont été calculées :

- La **cohérence spatiale**, qui est l'autocorrélation spatiale du champ de lieu (brut), évalue dans quelle mesure la fréquence dans une case spécifique est prédite par la fréquence moyenne des huit cases voisines.

- Le **contenu d'information spatiale**, exprimé en bits par potentiel d'action, est calculé comme suit :

$$I = i \sum P(i) \left(\frac{\lambda i}{\lambda} log_2 \frac{\lambda i}{\lambda} \right)$$

Où $P(i)$ est la probabilité d'occupation de la case, λi est la fréquence moyenne dans la case, et λ est la fréquence moyenne globale.

Les cellules hippocampiques sont catégorisées comme cellules de lieu si elles remplissent ces quatre critères :

5. L'identification sur la carte d'activité brute d'un champ d'activité ayant au moins neuf pixels contigus, dont la fréquence est supérieure à la fréquence moyenne calculée sur l'ensemble de l'environnement.
6. Le pic de fréquence doit être supérieur ou égal à 1Hz.
7. Le score de cohérence spatiale doit être supérieur ou égal à 0,4.
8. Le contenu d'information spatiale doit être supérieur ou égal à 1.

Sélection des cellules de grille

Afin d'évaluer la périodicité, la régularité et l'orientation des grilles, des autocorrélogrammes spatiaux en 2D des cartes d'activité sont réalisés. À partir de la carte d'autocorrélation 2D un score de grille peut être déterminé pour chaque cellule, évaluant le degré de périodicité spatiale. Pour le calculer, les six champs les plus proches du centre sont sélectionnés et le coefficient de corrélation de Pearson peut être calculé entre la carte et sa rotation à 60° et 120° (les supposés pics de corrélation) dans un sens, et dans l'autre sens à 30°, 90° et 150° (les supposés creux de corrélation). Le score de grille est défini comme la différence entre la valeur minimale dans le premier groupe (pics de corrélation supposé) et la valeur maximale dans le second groupe (creux de corrélation supposé).

Les cellules entorhinales sont catégorisées comme cellules de grille si elles satisfont deux critères :

1. Le score de grille doit être supérieur ou égal à une valeur seuil. Cette valeur seuil est identifiée par une méthode de *Shuffling* qui fournit une distribution aléatoire de score de grille. Le 95ème percentile de cette distribution constitue la valeur seuil pour définir si une cellule présente une activité spatiale en grille. Dans cette étude, une cellule de grille doit avoir un score de grille supérieur à 0,32.

2. Le pic de fréquence doit dépasser 1Hz.

Analyses des activités au but

L'objectif principal de l'étude consiste à étudier les possibles modifications de l'activité des cellules de lieu et de grille aux alentours du but. En ce sens, différentes analyses ont été réalisées, dont deux spécifiques aux cellules de grille et quatre communes aux cellules de lieu et de grille :

1. Expansion des grilles au niveau du but : analyse individuelle

Afin d'évaluer l'effet du but sur la distance entre les champs d'activité des cellules de grille, nous avons mesuré la distance séparant les champs adjacents, deux à deux, ainsi que la

distance séparant les couples de champs du but (en partant du centre du but jusqu'au centre du segment reliant les deux champs). Pour chaque cellule, la distance entre les champs est représentée graphiquement en fonction de la distance des champs par rapport au but. À partir de cette représentation graphique il est possible d'extraire le coefficient de corrélation de Pearson et la pente de la droite de régression linéaire afin de mesurer l'expansion des champs en fonction de leur distance par rapport au but. Une transformation de Fisher est appliquée aux valeurs de corrélation pour les tests statistiques.

2. Espacement des champs d'activité des cellules de grille : analyse de population

Afin d'analyser l'écartement des champs de toutes les cellules de grille en fonction de leur distance par rapport au but, nous avons calculé le coefficient de corrélation et la pente de la droite de régression linéaire sur l'ensemble des champs d'activité. Ainsi, l'écartement des champs peut être évalué à l'échelle de notre population de cellules de grille.

3. Distribution des champs d'activité dans l'arène :

La position du centre des champs d'activité est déterminée pour chaque cellule de lieu et de grille.

- Un champ est identifié pour chaque pixel dont la fréquence est supérieure à 30% du pic de fréquence de la carte d'activité de l'arène entière.
- Le nombre de pixels définissant le champ d'activité est converti en centimètres carrés. La taille du champ doit être comprise entre 12 cm^2 et 125 cm^2 (définie arbitrairement).
- La fréquence de chaque pixel dans le champ doit être supérieure à 20% du pic de fréquence dans le champ.

Les coordonnées du centre de gravité de chaque champ sont reportées pour chaque cellule. Ainsi, il est possible d'observer la distribution de la position de tous les champs d'activité dans l'arène et de créer une carte de densité de la position des champs. La carte de densité est

représentée selon un code couleur (du bleu au rouge, pour représenter les zones contenant le moins de champs d'activité aux zones présentant le plus de champs d'activité), indiquant visuellement si les champs sont uniformément répartis ou si au contraire elle révèle une absence de champ d'activité dans une zone de l'environnement.

4. Activité spatiale au but : analyse de population

Afin de vérifier visuellement l'uniformité (ou la non-uniformité) des activités électrophysiologiques de l'ensemble des cellules de lieu et de grille, une carte d'activité moyenne pour chaque population cellulaire est construite. Dans ce but, la carte d'activité brute de chaque cellule est normalisée par son pic de fréquence, puis, toutes les cartes des cellules de grille ou des cellules de lieu sont moyennées pour obtenir une carte d'activité de la population.

Afin de déterminer si la population de cellules présente une activité plus ou moins forte au niveau du but (comme respectivement rapporté par Hok *et al.*, 2007 pour les cellules de lieu et comme observé par F. Capitano pour les cellules de grille), la fréquence d'activité moyenne au but de la carte d'activité de la population des cellules de lieu ou des cellules de grille est comparée à des fréquences d'activité aléatoires grâce à une analyse de type *Shuffling*. Ces fréquences aléatoires sont extraites à partir de 400 zones de taille équivalente à celles du but et localisées à des endroits aléatoires de l'arène (sauf au niveau du but). Ainsi, 400 valeurs « contrôles » de fréquence moyenne sont obtenues, et à partir de la distribution de ces valeurs, des seuils de significativités peuvent être calculés. Si la fréquence d'activité moyenne au but est supérieure au 95ème percentile ou inférieure au 5ème percentile de cette distribution, alors elle s'avère significativement différente de l'activité observée dans le reste de l'arène et il est possible de conclure que la cellule présente une activité spécifique au but.

5. Activité temporelle lors de l'entrée au but : analyse individuelle

Dans la version *sans délai* de la tâche, les animaux doivent simplement traverser le but, sans s'y arrêter. Les animaux effectuant de nouvelles trajectoires à chaque essai, il est possible qu'une activité en réponse au but ne puisse pas être identifiée d'un point de vue spatial. L'activité de chaque cellule de lieu et de grille est alors observée temporellement sur une durée

débutant 5 secondes avant et jusqu'à 3 secondes après la libération de la récompense (le temps zéro correspondant à l'instant où le distributeur de récompense est activé). L'activité de chaque cellule au cours des différents passages, lors d'une session, est moyennée par intervalle de 200 ms. Cette activité de chaque cellule est normalisée par un z-score. La fréquence d'activité moyenne de chaque cellule est ensuite représentée par un code couleur (variant du bleu pour une absence d'activité au rouge pour la fréquence la plus forte). La même analyse est réalisée pour la vitesse de déplacement des animaux sur les mêmes intervalles : 5 secondes avant et 3 secondes après la libération de la récompense.

6. Activité temporelle lors de l'entrée au but : analyse de population

L'activité moyenne de la population peut aussi être calculée en moyennant la fréquence d'activité de toute la population de cellules de lieu par intervalle de 200 ms. La même analyse est réalisée pour la vitesse de déplacement des animaux.

Analyses statistiques

Les statistiques ont été effectuées avec GraphPad Prism 9® et incluent le test t de Student pour un échantillon non apparié, l'ANOVA à un facteur, le modèle à effets mixtes, le test post hoc de Tukey et le test post hoc à comparaisons multiples LSD de Fisher.

Résultats

Résultats comportementaux

Les animaux ont réalisé 28 protocoles complets (S1-lumière, S2-obscurité et S3 lumière) de la version *sans délai* de la tâche et 17 protocoles de la version *avec délai* de deux secondes.

Les performances des animaux sont évaluées grâce au nombre de passages au but au cours d'une session. Un modèle à effets mixtes révèle un effet de la version de la tâche (*sans délai vs avec délai*) et un effet des conditions d'éclairage (lumière *vs* obscurité) mais sans aucune

interaction entre les deux facteurs (modèle à effets mixtes : effet du délai, $F(1,27) = 97,93$, $p < 0,0001$; effet de l'éclairage, $F(2,54) = 3,53$, $p = 0,036$; effet délai x éclairage, $F(2,21) = 2,08$, $p = 0,15$). Dans la version *sans délai* de la tâche, les animaux passent au but un plus grand nombre de fois (**Figure 57** ; nombre d'entrée moyenne par session : *sans délai*, S1-lumière = 76,36±17,94, S2-obscurité = 61,57±24,25, S3-lumière = 70,71±27,96 ; *avec délai*, S1-lumière = 23,53±8,16, S2-obscurité = 21,59±7,48, S3-lumière = 24,47±7,95). Le test post hoc de Fisher confirme une différence significative entre les versions *sans délai* et *avec délai*, pour toutes les sessions du protocole (S1-lumière : *sans délai vs avec délai*, $p < 0,0001$; S2-obscurité : *sans délai vs avec délai*, $p < 0,0001$; S3-lumière : *sans délai vs avec délai*, $p < 0,0001$). Cette différence peut s'expliquer par l'absence d'attente au but dans la version *sans délai* de la tâche, permettant d'enchaîner les essais plus rapidement et ainsi d'en effectuer un plus grand nombre au cours d'une session. À cela s'ajoute, dans la version *avec délai*, un comportement d'attente et d'inhibition coûteux pour les rats qui peut être difficile à réaliser et donc impliquerait un plus grand nombre d'erreurs. De plus, dans la version *avec délai*, les animaux font peut-être davantage d'erreurs, car le son déclenché lors de la libération d'un granulé de nourriture ne leur fournit pas l'information immédiate qu'ils ont atteint le but (puisqu'il intervient après deux secondes), contrairement à la version *sans délai* où cette information sonore est simultanée à l'arrivée au but.

Le test post hoc de Fisher révèle également un effet des conditions d'éclairage (lumière *vs* obscurité) seulement dans la version *sans délai* de la tâche (*sans délai* : S1-lumière *vs* S2-obscurité, $p = 0,0003$; S1-lumière *vs* S3-lumière, $p = 0,16$; S2-obscurité *vs* S3-lumière, $p = 0,02$; *avec délai* : S1-lumière *vs* S2-obscurité, $p = 0,69$; S1-lumière *vs* S3-lumière, $p = 0,87$; S2-obscurité *vs* S3-lumière, $p = 0,58$). En effet, dans la version *sans délai* de la tâche les performances des animaux chutent lors du passage dans l'obscurité (S2-obscurité), tandis que dans la version *avec délai* les performances restent stables au cours des trois sessions. Cela suggère que les stratégies des animaux ne seraient pas les mêmes entre les deux versions de la tâche.

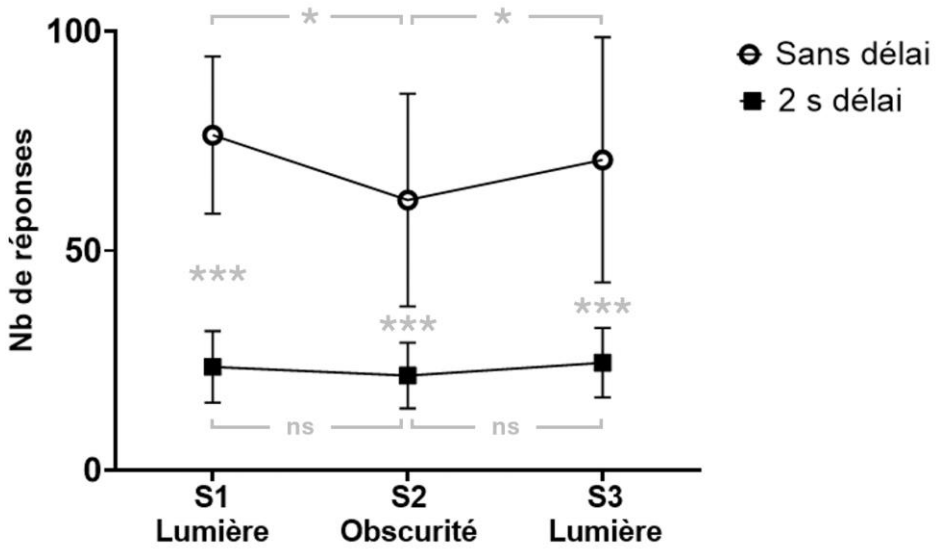


Figure 57. Résultats comportementaux entre les 3 sessions du protocole *sans délai* et *avec délai*

Dans la version *sans délai* de la tâche, les animaux réalisent plus de passages au but que dans la version de la tâche *avec le délai*. En revanche, dans la version *avec le délai* les performances des animaux sont constantes au cours des trois sessions (S1-Lumière, S2-Obscurité et S3-Lumière) alors que dans la version *sans délai,* la performance des animaux chute dans l'obscurité (S2), ce qui suggère deux stratégies de navigation différentes entre les deux versions de la tâche. *** $p < 0,0001$, * $p < 0,05$, modèle à effets mixtes et test post hoc à comparaisons multiples.

Dans la version *sans délai*, étant donné la baisse des performances des animaux dans l'obscurité (S2), il semble qu'ils s'appuient davantage sur le repère visuel placé sur la paroi de l'arène. La baisse de performance s'explique donc certainement par une mauvaise estimation de leur propre position dans l'obscurité. La stratégie d'intégration des trajets amène une accumulation d'erreurs de l'estimation de la position des animaux, les empêchant d'atteindre le but. Mais malgré une baisse des performances dans l'obscurité, le taux de réussite reste assez bon (ils traversent en moyenne 70 fois le but au cours d'une session), ce qui suggère que les animaux parviennent régulièrement à corriger ces erreurs en recalibrant leur position. Le son déclenché par la libération d'un granulé de nourriture pourrait être le signal permettant de recalibrer la position au niveau du but.

Au contraire, dans la version *avec délai,* le passage à l'obscurité n'affecte pas la performance des animaux, ce qui suggère qu'ils s'appuient fortement sur les informations idiothétiques (ce qui n'exclut pas l'utilisation en parallèle des repères visuels, dans les sessions à la lumière).

Cette différence entre les deux versions de la tâche peut s'expliquer par le fait que dans la version *avec délai*, une erreur dans la localisation du but s'avère particulièrement coûteuse, car les animaux, après avoir attendu immobiles 2 secondes sans entendre le déclenchement du distributeur, doivent se déplacer à nouveau afin de se trouver l'emplacement du but et obtenir la récompense. Cette attente supplémentaire est d'autant plus désagréable pour les rats qui n'apprécient pas de rester passivement immobiles. De plus, l'attente de deux secondes ne leur permet pas d'avoir un retour immédiat sur la réussite (ou l'échec) de l'atteinte du but, car le son du distributeur (indiquant qu'ils sont au bon endroit) ne leur parvient qu'à la fin du délai. Pour ces raisons, la version *avec délai* de la tâche demande aux animaux d'être particulièrement certains de leur position avant de s'immobiliser au but. Les animaux sont sûrement plus attentifs aux repères disponibles, c'est-à-dire les repères visuels et idiothétiques. Dans les sessions à la lumière (S1 et S3) les animaux utiliseraient donc une stratégie allothétique parallèlement à l'intégration des trajets, afin que leur comportement de navigation soit très précis. Lors de la session dans l'obscurité (S2), bien que la stratégie de navigation allothétique ne soit plus utilisable, l'intégration des trajets peut se poursuivre, ce qui explique que les performances des animaux ne chutent pas.

Au contraire, dans la version *sans délai*, si les animaux commettent une erreur d'estimation, ils peuvent immédiatement recommencer un nouvel essai et recevoir la récompense, ce qui expliquerait qu'ils ont moins besoin de se reposer sur leurs informations idiothétiques.

Résultats électrophysiologiques de l'activité au but

Chez les 3 animaux de cette étude, 60 cellules de grille ont été enregistrées dans la version *avec délai* de la tâche et 33 cellules de grille dans la version *sans délai*. 55 cellules de lieu ont été enregistrées chez 2 des rats, uniquement dans la version de la tâche *sans délai*. Les résultats suivants sont préliminaires et concernent uniquement la première session à la lumière, le but principal étant de comparer l'activité des cellules de grille et de lieu entre la version la tâche *sans délai* et *avec délai*. Les cellules de lieu étant enregistrées seulement dans la version *sans délai*, les comparaisons seront réalisées en s'appuyant sur les travaux précédents de Hok *et al.* (2007) ou Duvelle *et al.* (2019) qui ont enregistré les cellules de lieu dans la version *avec délai* de la tâche.

Espacement des champs d'activité des cellules de grille :

Le résultat le plus notable concerne l'expansion des grilles autour du but dans la version *avec délai* de la tâche (**figure 58**) alors que dans la version *sans délai* les champs conservent leur habituelle régularité, dans toute l'arène (**figure 58**). Cette expansion dans la version *avec délai* de la tâche reproduit et renforce les premiers résultats obtenus par F. Capitano.

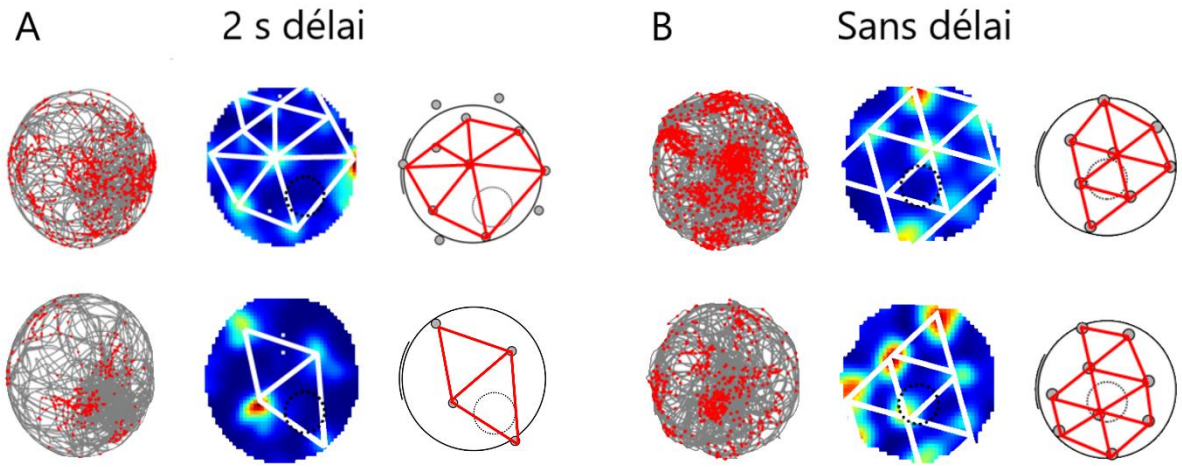


Figure 58. Exemple de cellules de grille dans les versions *avec* et *sans délai* de la tâche
A. Deux exemples de cellules de grille enregistrées au cours de la tâche *avec un délai* de deux secondes. À gauche, la trajectoire du rat au cours de la session est représentée par un trait gris sur lequel des points rouges sont superposés, représentant la position de l'animal pour chaque potentiel d'action de la cellule de grille. Au milieu, les cartes d'activité correspondantes pour lesquelles les champs d'activité sont reliés (trait blanc), il est à noter que les champs sont plus écartés autour du but, et cette déformation altère la structure régulière en triangles équilatéraux. Les centres de chaque champ sont identifiés afin de mesurer précisément la distance les séparant, puis la distance les séparant du but.
B. Deux exemples de cellules de grille enregistrées au cours de la tâche *sans délai*. Dans cette version de la tâche, les champs sont réguliers, la structure en triangles équilatéraux est préservée sur les cartes d'activité (panel du milieu). La distance entre les champs ne varie pas en fonction de leur distance par rapport au but.

Afin d'évaluer l'expansion de la grille autour du but, pour chaque cellule de grille la distance entre des champs est représentée en fonction de la distance des champs par rapport au but puis, la droite de régression linéaire est calculée (**figure 59.A**). Si une expansion locale de la grille apparaît spécifiquement au but, la distance entre les champs devrait être négativement corrélée à la distance séparant les champs du but. La valeur de la pente de la droite de

régression est extraite pour chaque cellule ainsi que le coefficient de corrélation de Pearson dans les versions de la tâche *avec délai*, *sans délai* et pour une analyse contrôle de la tâche *sans délai*. Ce contrôle a été réalisé afin de tester si dans la version *avec délai* l'absence d'activité au but résulterait plutôt d'un déplacement des champs autour du but ou d'une inhibition de l'activité des cellules de grille spécifiquement au but. Pour y parvenir, une analyse préliminaire simulant une inhibition de l'activité au niveau du but est réalisée sur les cartes d'activité de la version *sans délai* de la tâche. Dans cette analyse, l'activité des cellules de grille est supprimée au but pour chaque essai où une récompense a été libérée. Ainsi, si cette absence d'activité au but amène à un écartement des champs similaire à celui observé dans la version *avec délai* de la tâche, nous pouvons faire l'hypothèse que l'expansion de la grille est causée par une inhibition de l'activité des cellules de grille au but. Si ce n'est pas le cas, la distorsion serait plutôt causée par un déplacement de la position des champs autour du but.

Sur l'ensemble de la population, l'expansion autour du but est significative uniquement dans la version *avec délai* de la tâche (*avec délai* : pente = -0,15, $F(1,333) = 9,97$, $p = 0,002$; coefficient de corrélation de Pearson, $r = -0,17$, $p = 0,02$, $n = 335$; *sans délai* : pente = 0,02, $F(1,310) = 0,25$, $p = 0,63$; coefficient de corrélation de Pearson, $r = 0,03$, $p = 0,63$, $n = 312$; *contrôle-sans délai* : pente = 0,04, $F(1,307) = 3,03$, $p = 0,08$; coefficient de corrélation de Pearson, $r = -0,1$, $p = 0,08$, $n = 309$).

Cette même analyse a été réalisée pour chaque cellule individuelle (**figure 59.B-C**) : de la même manière que pour la population, les pentes des droites de régression linéaire ainsi que les coefficients de corrélation sont significativement inférieur à 0, uniquement dans la version *avec délai* de la tâche (moyenne des pentes : *avec délai* = -0,27 ± 0,36 ; *sans délai* = -0,08 ± 0,23 ; *contrôle-sans délai* = -0,06 ± 0,19 ; test t pour un échantillon : *avec délai*, $t(40) = 4,73$, $p < 0,0001$; *sans délai* : $t(26) = 1,80$, $p = 0,08$; *contrôle-sans délai* : $t(36) = 1,95$, $p = 0,06$; moyenne des coefficients de corrélation de Pearson : *avec délai* = -0,28 ± 0,44 ; *sans délai* = -0,10 ± 0,35 ; *contrôle-sans délai* = -0,08 ± 0,26 ; test t pour un échantillon : *avec délai*, $t(41) = 4,12$, $p = 0,0002$; *sans délai*, $t(27) = 1,57$, $p = 0,13$; *contrôle-sans délai* : $t(36) = 1,90$, $p = 0,07$). Des ANOVAs à un facteur révèlent un effet de la version de la tâche sur les pentes des régressions linéaires et les coefficients de corrélation (*sans délai vs avec délai vs contrôle-sans délai*, pente : $F(2,102) = 6,36$, $p = 0,002$; coefficient de corrélation de Pearson : $F(2,104) = 3,47$, $p = 0,03$) et le test post hoc de Tukey indique que dans la version *avec délai*, les pentes des

régressions linéaires sont différentes de celles des deux autres versions de la tâche (*sans délai vs avec délai* : p = 0,02 ; *sans délai vs contrôle-sans délai* : p = 0,97 ; *avec délai vs contrôle-sans délai* : p = 0,004), et pour les coefficients de corrélation, une différence est notée seulement entre les versions *avec délai* et *contrôle-sans délai* (*sans délai vs avec délai* : p = 0,12 ; *sans délai vs contrôle-sans délai* : p = 0,97 ; *avec délai vs contrôle-sans délai* : p = 0,04).

L'ensemble de ces résultats indique que l'expansion des grilles est observée uniquement dans la version *avec délai* de la tâche. *Sans délai*, la régularité spatiale des grilles est maintenue partout dans l'arène. De plus, la version *contrôle-sans délai*, qui simule une inhibition de l'activité au but, ne montre pas d'écartement des champs. Il semblerait donc que l'écartement des champs ne soit pas le fait d'une inhibition de l'activité au niveau du but mais résulterait plutôt du déplacement de la position des champs d'activité, qui s'écartent autour du but.

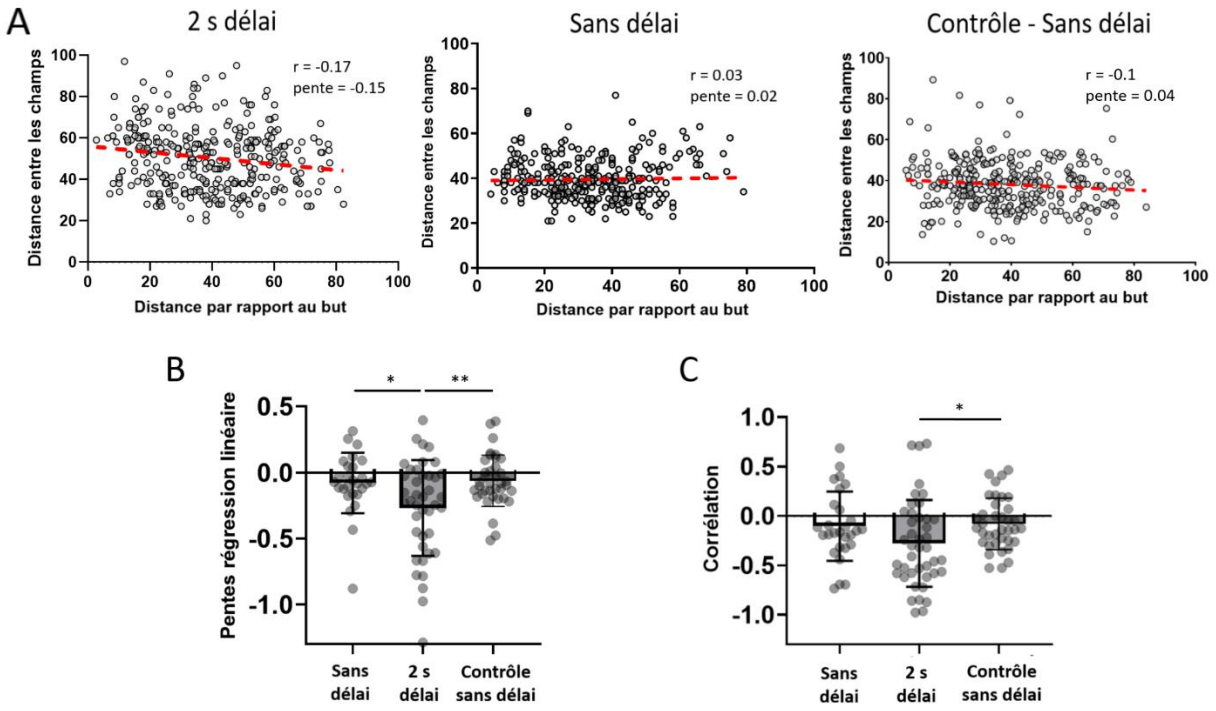


Figure 59. Ecart entre les champs d'activité des cellules de grille en fonction de la distance au but

A. Distance entre les champs d'activité, de toutes les cellules de grille enregistrées, en fonction de leur distance par rapport au but dans la version de la tâche *avec délai* (gauche), *sans délai* (milieu) et *contrôle-sans délai* (droite). La ligne rouge pointillée représente la droite de régression linéaire. La pente de la droite de régression ainsi que la valeur du coefficient de corrélation de Pearson entre la distance des champs et leur distance par rapport au but sont

indiquées pour chaque graphique. **B.** La même analyse est réalisée pour chaque cellule, ce qui permet de comparer la pente de la droite de régression linéaire obtenue pour toutes les cellules individuellement et de les comparer entre les versions de la tâche (*sans délai vs* délai *vs contrôle-sans délai*). La version *avec délai* est significativement différente des deux autres (ANOVA et post hoc de Tukey) et de 0 (test t pour un échantillon). **C.** Le coefficient de corrélation de Pearson est également calculé pour chaque cellule individuelle puis comparé entre les trois versions de la tâche. Une seule différence significative est observée entre la tâche *avec délai* et le *contrôle-sans délai* (ANOVA et post hoc de Tukey), la version *sans délai* est la seule différente de 0 (test t pour un échantillon). ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$, ANOVA à mesures répétées.

Répartition des champs :

Afin de déterminer si les champs d'activité des cellules de lieu et de grille sont uniformément répartis dans l'arène ou au contraire s'ils s'accumulent au but (comme rapporté par Boccara *et al.,* 2019 ou Hollup *et al.*, 2001 et Dupret *et al.,* 2010 pour les cellules de lieu), l'emplacement du centre de chaque champ d'activité a été identifié.

Sans surprise, dans la version *avec délai* de la tâche, la distribution spatiale des centres des champs d'activité des cellules de grille montre une absence de champs spécifiquement à l'emplacement du but (**figure 60.A, figure de gauche**). Cette distribution spatiale des champs vient corroborer les résultats précédents de l'expansion des grilles autour du but.

Au contraire, dans la version *sans délai* de la tâche les champs d'activité des cellules de grille sont uniformément distribués dans toute l'arène (**figure 60.A, figure de droite**).

L'études de Hok *et al.*, 2007 montre que dans la version *avec délai* de la tâche, les champs d'activité des cellules de lieu sont uniformément répartis dans l'arène bien qu'ils soient plus nombreux à la périphérie de l'arène (**figure 60.B, figure de droite**). Nos résultats montrent au contraire une répartition des champs plus nombreux vers le centre de l'arène, comme l'indiquent leurs positions ainsi que la carte de densité qui présente des couleurs plus chaudes vers le centre de l'arène et donc plus près du but (**figure 60.B, figure de gauche**). Il semblerait donc que la répartition des champs des cellules de lieu soit différente entre les deux versions de la tâche.

Pour évaluer l'uniformité de la répartition des champs dans l'arène, Hok *et al.* avaient divisé celle-ci en six quadrants et comparé le nombre de champs par quadrant, à l'aide d'un test de

Chi². Ce test n'ayant pas révélé de différence significative entre les quadrants, les auteurs ont conclu à une répartition uniforme des champs dans l'arène. Cette approche a été reprise, en divisant l'arène en cinq quadrants, afin de contenir le but dans un seul d'entre eux (la division en six quadrants l'aurait réparti sur deux quadrants). Le test du Chi² que nous avons effectué indique également une répartition uniforme des champs ($\chi^2 = 6,37$, dl = 4, p = 0,17). Bien que la distribution des champs semble être différente entre les versions *avec délai* et *sans délai*, le test de Chi² ne révèle pas de différence. Or, il est possible que les champs se rapprochent du but (et donc du centre) sans pour autant tous être à l'emplacement du but, ce qui expliquerait que la division de l'arène en quadrants ne permette pas de révéler de différence. Des analyses plus fines seront donc nécessaires pour mieux apprécier ces observations.

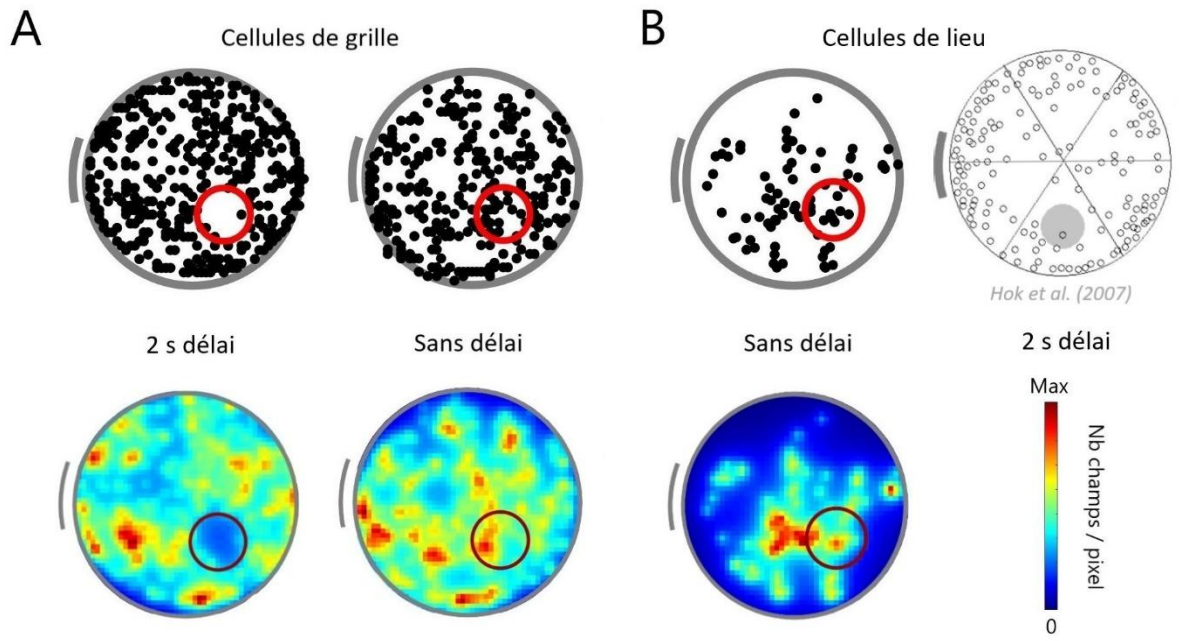


Figure 60. Répartition des champs d'activité dans l'arène
A. Les figures du haut représentent l'emplacement du centre des champs de toutes les cellules de grille enregistrées dans la version *avec délai* (gauche) et *sans délai* (droite) de la tâche. Les figures du bas représentent la densité des champs dans l'arène par un code couleur variant du bleu (aucun champ) au rouge (indiquant la densité maximale), pour la version *avec délai* (gauche) et *sans délai* (droite). **B.** Les mêmes figures sont réalisées pour les champs d'activité des cellules de lieu dans la version *sans délai* de la tâche (gauche). La figure en haut à droite, présente l'emplacement des champs des cellules de lieu de l'étude de Hok *et al.* (2007) dans la version *avec délai* de la tâche.

Activité spatiale au but : analyse de population

Afin de déterminer la tendance générale de l'activité spatiale des cellules de lieu et de grille, pour chaque version de la tâche (*délai vs sans délai*), une carte d'activité moyenne de toutes les cellules de lieu ou de toutes les cellules de grille est construite. De plus, des cartes d'activité *contrôle-avec délai* sont effectuées afin de supprimer l'activité des neurones pendant les deux secondes passées au but avant la libération d'une récompense. Dans la version *contrôle-sans délai*, l'activité des neurones est supprimée entre le moment d'entrée et de sortie du but, pour chaque libération d'une récompense.

Compte tenu de l'expansion locale des grilles au niveau du but dans la version *avec délai*, un creux d'activité apparaît très visiblement sur la carte d'activité moyenne de la population (**Figure 61.A, figure de gauche-haut**). Pour tester la baisse de l'activité au but, j'ai comparé la fréquence d'activité moyenne au niveau du but à la fréquence d'activité moyenne dans des zones équivalentes placées aléatoirement dans le reste de l'arène (voir méthode *Shuffling).* D'après l'analyse de *Shuffling,* la fréquence d'activité des cellules de grille demeure significativement plus faible à l'emplacement du but que dans le reste de l'arène (fréquence moyenne au but (données normalisées) = 0,12 ; 5ème percentile de la distribution aléatoire = 0,19). De plus, la carte *contrôle-avec délai* ne fait pas apparaitre de modifications des fréquences, indiquant que même lors de l'exploration, sans l'arrêt de deux secondes, les cellules de grille diminuent leur fréquence d'activité au but (**Figure 61.A, figure de gauche-bas**).

Au contraire, dans la version *sans délai*, l'activité des cellules de grille reste homogène dans l'arène (**Figure 61.A, figure de droite-haut**). En effet, l'analyse de *Shuffling* ne montre pas une activité particulièrement plus faible au but (fréquence moyenne au but = 0,28 ; 5ème percentile de la distribution aléatoire = 0,26). L'activité reste également relativement homogène sur la carte *contrôle-sans délai* (**Figure 61.A, figure de droite-bas**).

La carte moyenne de l'activité de la population de cellules de lieu montre une activité homogène sur l'ensemble de l'arène bien qu'une très légère hausse d'activité peut être observée visuellement à l'emplacement du but (**figure 61.B, figure en haut**). L'analyse de *Shuffling* n'indique pas une hausse significative (fréquence moyenne au but = 0,27 ; 95ème percentile de la distribution aléatoire = 0,28). Cette légère augmentation est surement liée à

une hausse de l'activité d'un petit nombre de cellules de lieu mais leur activité (ou leur nombre) n'est pas suffisante pour être significative à l'échelle de la population. Dans leur étude de Hok *et al.* (2007), rapportait que 84% des cellules de lieu développaient une activité secondaire au but, dans la version *avec délai*. Les analyses futures de nos données devraient révéler que dans la version de la tâche *sans délai,* une proportion beaucoup plus faible de cellules développe une activité secondaire au but. La carte d'activité du *contrôle-sans délai* ne diffère pas de la carte de la population des cellules de lieu, indiquant que l'activité reste homogène lorsque les animaux explorent l'environnement, avec une très faible hausse de l'activité au but (**Figure 61.B, figure en bas**).

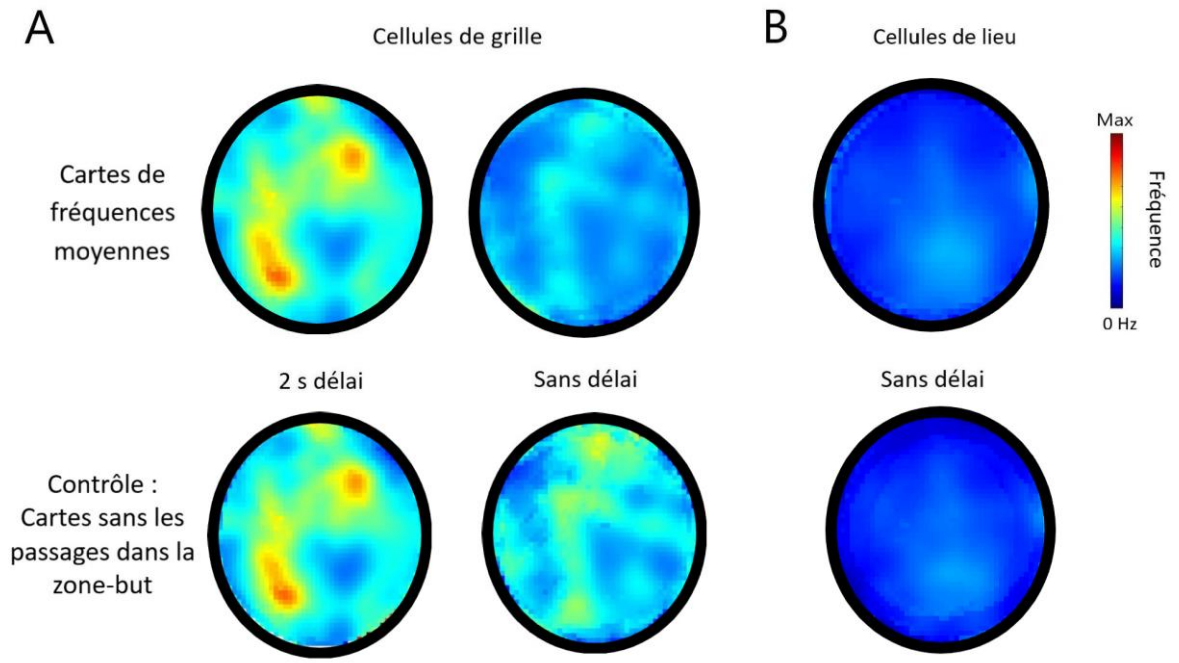


Figure 61. Cartes d'activité moyennes des cellules de lieu et des cellules de grille
A. Carte d'activité moyenne de la population de cellules de grille dans la version de la tâche *avec délai* (haut-gauche) et *sans délai* (haut-droite). Pour chaque carte d'activité moyenne, une analyse contrôle est réalisée, dans laquelle l'activité au but est supprimée, pour chaque essai conduisant à la libération d'une récompense (bas). **B.** Carte d'activité moyenne de la population de cellules de lieu dans la version de la tâche *sans délai* (haut). Une analyse contrôle est réalisée dans laquelle l'activité au but est supprimée, pour chaque essai conduisant à la libération d'une récompense (bas).

Activité temporelle lors de l'entrée au but : analyse individuelle et de population

Il est possible que des variations d'activité soient observées d'un point de vue temporel, indépendamment de la position exacte des animaux, avant et après l'entrée au but. En effet, les modifications d'activité pourraient ne pas être visibles spécifiquement au but, en particulier dans la version *sans délai* de la tâche. Dans ce sens, l'activité des cellules lors de chaque passage au but est observée 5 secondes avant et 3 secondes après l'activation du distributeur de granulés.

Cette analyse temporelle révèle une chute de l'activité de la grande majorité des cellules de grille dans la version *avec délai* de la tâche (**Figure 62.A**), ce qui corrobore la baisse d'activité observée sur la carte d'activité moyenne à l'emplacement du but. D'après la fréquence moyenne au cours du temps, une légère augmentation de la fréquence est constatée avant l'arrivée au but de l'animal, mais cette activité est très similaire à la vitesse de déplacement (**figure 62.B**). Lorsque les animaux sont au but, la vitesse chute et devient nulle étant donné que les animaux ne doivent pas sortir du but avant deux secondes. La vitesse de déplacement des animaux semblerait donc pouvoir expliquer à elle seule l'absence d'activité au but, mais des contrôles de la vitesse de déplacement, consistant à ne garder que des vitesses homogènes au cours d'une session, déjà réalisés précédemment, ne montrent pas de différence avec les données observées. De plus, sur la carte d'activité spatiale contrôle (en supprimant les activités au cours de l'arrêt au but), le creux d'activité continue à être observé de manière très stable alors que les passages au but peuvent toujours avoir lieu pendant l'exploration.

Dans la version *sans délai*, les cellules de grille semblent avoir une activité plutôt homogène au cours de la traversée du but (**Figure 62.C)**. Il est à noter que 4 cellules (les 4 dernières) semblent augmenter leur activité après le passage de l'animal au but, ce qui pourrait signaler la réussite des essais (après avoir entendu le signal sonore du distributeur) ou l'anticipation de la récompense mais il est aussi probable que cette activité soit simplement liée à l'entrée de l'animal dans un champ d'activité. La fréquence moyenne au cours du temps révèle une légère augmentation de l'activité avant l'arrivée au but et une diminution à partir de la traversée. Cette activité ressemble quelque peu à la vitesse de déplacement des animaux (**Figure 62.D**). Il semble qu'après avoir récupéré une récompense les rats accélèrent jusqu'au but, où ils

ralentissent, certainement pour s'assurer qu'ils sont à la bonne position et préciser leur trajectoire si besoin. Il est intéressant de noter que plusieurs profils de vitesse peuvent être distinguer (identifiés par les flèches rouges sur le côté de la **figure 62.D**) : les sessions 1 à 5 présentent une diminution (bleu foncé) de la vitesse de -2 à 0 secondes, les sessions 6 à 9 une diminution après avoir croisé le but à 0 seconde, et les sessions 10 à 17, une augmentation de la vitesse juste avant de croiser le but suivie d'une chute. Il se trouve que ces trois groupes de sessions correspondent aux trois rats respectivement, ce qui suggère qu'ils n'adoptent pas tous la même stratégie ou qu'ils n'ont pas tous développé une représentation du but avec la même précision. Il serait intéressant de comparer les propriétés des cellules spatiales en fonction de la stratégie de navigation, afin d'évaluer les modulations possibles sur l'activité électrophysiologique.

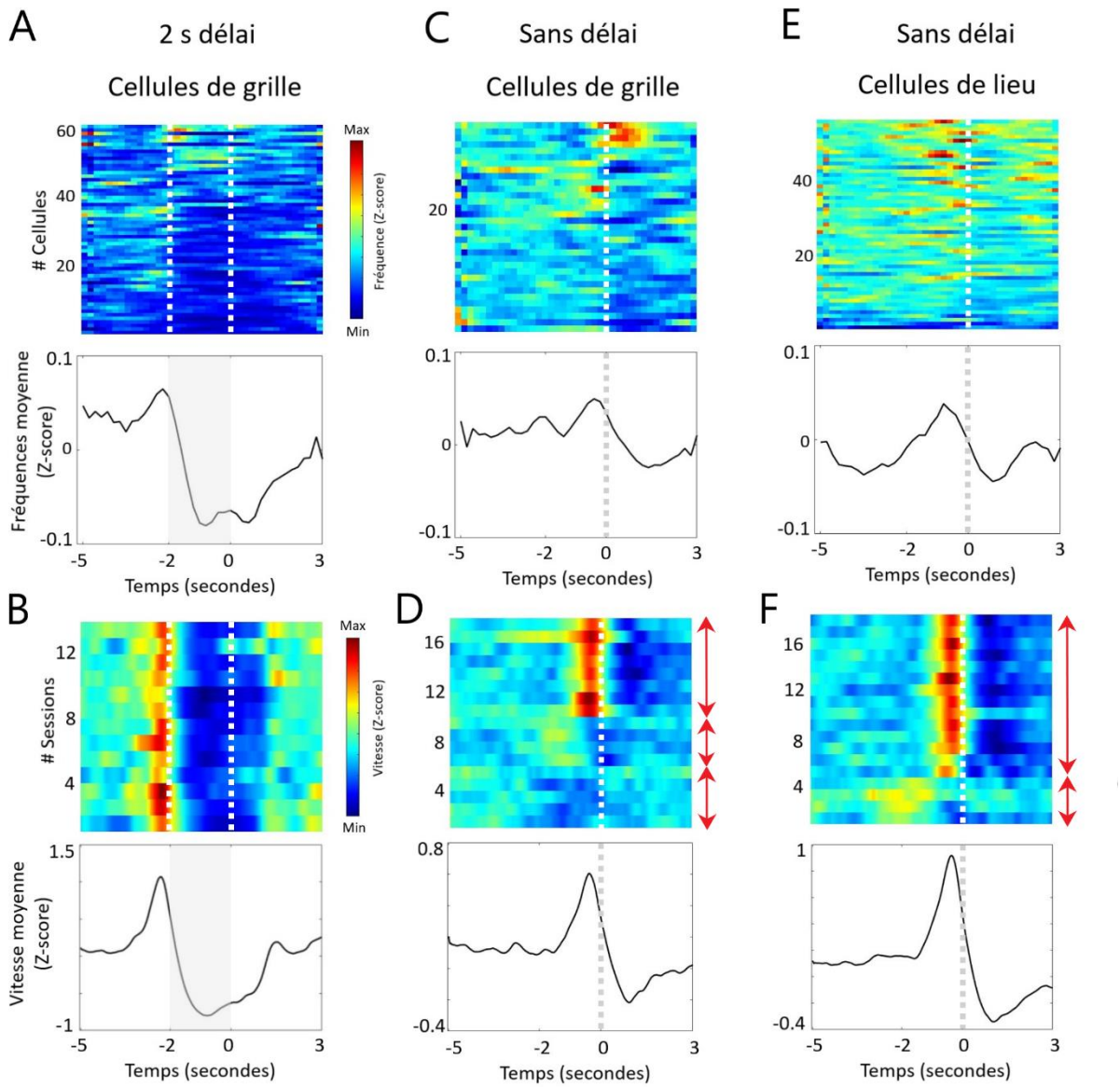


Figure 62. Analyse temporelle du passage au but

A-C-E. Haut : Fréquence d'activité normalisée de chaque cellule au cours de sessions où la tâche est réalisée *avec délai* pour les cellules de grille (**A**), ou *sans délai,* pour les cellules de grille (**C**) et les cellules de lieu (**E**). La fréquence de chaque cellule est normalisée par un z-score toutes les 200 ms. Bas : fréquence moyenne de toute la population de cellules calculée toutes les 200 ms.

B-D-F. Haut : vitesse de déplacement des animaux au cours d'une session où la tâche est réalisée *avec délai* pour les cellules de grille (**B**) ou *sans délai* pour les cellules de grille (**D**) et les cellules de lieu (**F**). La vitesse de chaque session est normalisée par un z-score toutes les 200 ms. Les sessions sont regroupées par animal et identifiées par des flèches rouges (**D** et **F**). Bas : vitesse moyenne de toutes les sessions d'enregistrement, calculée toutes les 200 ms.

Tous ces graphiques débutent 5 secondes avant la libération d'un granulé de nourriture (à 0 seconde) et se terminent 3 secondes après. Dans la version *avec délai* de la tâche, le délai de deux secondes est identifié par des lignes pointillées ou par une zone grisée. Dans la version *sans délai* de la tâche, la libération de la nourriture est indiquée par une ligne pointillée.

Bien que dans la version *sans délai* de la tâche, la majorité des cellules de lieu n'a pas d'activité particulière au but, certaines présentent une hausse de l'activité au but (voir exemples de cellules de lieu **figure 63**). Cette légère hausse de l'activité semble concerner 12 cellules de lieu (soit 22%) d'après l'inspection visuelle de la fréquence d'activité des cellules lors de la traversée du but (**figure 62.E, en haut**). Cette hausse de l'activité est également constatée sur la fréquence d'activité moyenne des cellules de lieu, avec un pic d'activité juste avant la libération de la récompense (**figure 62.E, en bas**). Le profil de vitesse des sessions individuelles (identifié par des flèches rouges, à droite de la **figure 62.F**) révèle deux stratégies de navigation : dans les sessions 1 à 4, le pic de vitesse est observé autour de -2 secondes alors que pour le reste des sessions, le pic apparait entre -1 et 0 seconde. Ces deux stratégies correspondent exactement aux deux animaux pour lesquels nous avons enregistré des cellules de lieu.

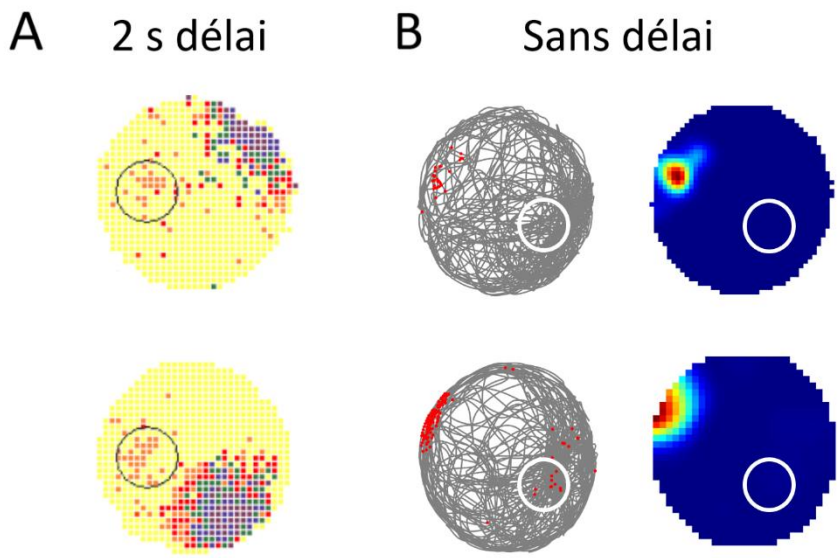


Figure 63. Exemple de cellules de lieu dans les versions *avec* et *sans délai* de la tâche
A. Deux exemples de cellules de lieu enregistrées au cours de la tâche *avec un délai* de deux secondes. L'emplacement du but est indiqué par le cercle noir. Les deux cellules présentent une activité au but, en plus de leur champ principal (comme 84% de la population de cellule de lieu). *Figures issues de Hok et al. (2007).*
B. Deux exemples de cellules de lieu enregistrées au cours de la tâche *sans délai*. À gauche : la trajectoire de l'animal est représentée par un trait gris et la position de l'animal lorsque la cellule émet un potentiel d'action est représenté par un point rouge. À droite : la carte d'activité correspondante. Le cercle blanc représente la position du but. Dans l'exemple du haut, la cellule présente un champ d'activité très focal et aucune activité au niveau du but.

Dans l'exemple du bas, la cellule présente quelques potentiels d'action à l'emplacement du but, mais trop peu pour que cette activité apparaisse sur la carte d'activité.

Discussion

Deux travaux ont montré que dans une tâche de navigation continue et dirigée vers un but, lorsqu'un délai à l'emplacement du but conditionne l'arrivée de la récompense, une très grande majorité de cellules de lieu (84%) développe un champ secondaire en dehors du champ d'activité principal (Hok *et al.,* 2007 ; Duvelle *et al.,* 2019). Des résultats récents de l'équipe montrent qu'en parallèle de cette activité des cellules de lieu, les cellules de grille présentent une expansion locale de la grille au niveau du but.

En revanche, lorsque le délai au niveau du but est supprimé, seulement 22% des cellules de lieu développent une activité secondaire au but. Bien que cette proportion de cellule maintienne une activité au but, elle devient trop faible pour représenter une activité de population significative. Parallèlement, les cellules de grille ne présentent plus d'expansion locale de la grille autour du but en l'absence de délai. Les modifications locales des cellules de grille et de lieu dépendent donc fortement de la présence du délai. Aucune accumulation des champs d'activité au but n'a été observée pour les cellules de lieu et de grille. En revanche, du fait de l'expansion de la grille dans la version *avec délai*, les cellules de grille présentent nécessairement une baisse du nombre de leurs champs au but.

Ces résultats, qui pointent une baisse du nombre de cellules de lieu présentant une activité secondaire au but et une disparition de l'expansion de la grille au but, pourraient suggérer que les deux systèmes sont modulés ensemble, et fonctionnent surement en synergie. Par ailleurs, l'expansion de la grille pourrait augmenter la résolution spatiale d'une zone saillante de l'environnement et faciliterait l'augmentation de l'activité des cellules de lieu. En effet, l'activité d'une population de cellules de grille recouvre généralement tout l'environnement. Dans le cas de l'expansion, une baisse d'activité au niveau du but peut permettre à l'hippocampe de développer une activité secondaire, peut-être par un jeu d'inhibition/excitation avec le cortex entorhinal médian. De plus, la structure globale de la grille est maintenue. Les effets spécifiques au but des cellules de lieu et de grille que nous observons (expansion locale et champ secondaire) peuvent permettre de révéler un lieu saillant dans l'environnement tout

en maintenant les relations spatiales intactes entre les autres sous-espaces de l'environnement.

L'objectif de notre étude consiste à comprendre si l'activité des cellules de lieu et de grille code sélectivement la présence d'un but spatial non associé à une récompense. Pour ce faire, les animaux ont réalisé la même tâche de navigation vers un but que celle de l'étude de Hok *et al.* (2007) sans la contrainte temporelle au but. En effet, supprimer le délai temporel permet d'écarter certaines hypothèses liées au délai de deux secondes au but, telles que l'estimation temporelle, la frustration causée par l'attente, l'inhibition du mouvement, l'arrêt, etc. Confirmant que la durée du délai au but n'influence pas l'activité des cellules de grille, l'enregistrement d'une même cellule au cours de la tâche *sans délai* puis *avec un délai* d'une seconde et enfin *avec un délai* de deux secondes, révèle sans surprise, l'absence d'expansion dans la version *sans délai*, puis une expansion, que le délai dure une ou deux secondes (**figure 64**).



Figure 64. Suivi d'une cellule de grille dans les versions *sans délai* et *avec un délai* d'une ou deux secondes
Une cellule ne développe pas d'expansion au but dans la version *sans délai* de la tâche. Cette même cellule présente une expansion autour du but dès l'instauration d'un délai d'une seconde. L'expansion autour du but est identique que le délai dure 1 ou 2 secondes.

Nous pouvons faire l'hypothèse que l'activité observée au but est causée par 3 processus cognitifs différents : une représentation spatiale du but, une anticipation de la récompense ou un signal de confirmation de l'atteinte du but.

Nos résultats suggèrent que les cellules de lieu et de grille ne représentent pas de manière purement spatiale le but. Si tel était le cas, les modifications locales de l'activité spatiales au

but seraient maintenues entre les versions *avec* et *sans délai*. De même, une activité liée à l'anticipation de la récompense ne devrait pas varier en fonction de la contrainte temporelle.

En revanche, les différences entre les versions *avec délai* et *sans délai* pourraient s'expliquer par un signal de confirmation de l'atteinte du but. En effet, lorsque l'animal attend deux secondes, immobile, avant de recevoir une récompense, il doit être certain de sa position pour éviter toute erreur susceptible de prolonger une attente pénible. De ce fait, un signal indiquant à l'animal qu'il est au bon endroit s'avère primordial dans la version *avec délai* de la tâche, mais s'avère bien moins essentiel dans la version *sans délai*, ce qui est appuyé par la diminution du nombre de cellules de lieu présentant une activité au but ainsi que par l'absence d'expansion de la grille au but. De plus, nos résultats comportementaux suggèrent que, spécifiquement dans la version *avec délai*, les animaux utilisent à la fois une stratégie allothétique et d'intégration des trajets (comme indiqué par le maintien de leur performance dans l'obscurité, contrairement à la tâche *sans délai*). L'utilisation de ces deux stratégies en parallèle renforce l'hypothèse selon laquelle dans la version *avec délai* les animaux portent une forte attention à leur propre position dans l'arène, qui serait donc susceptible d'induire un signal de confirmation de leur arrivée au but. Une analyse des sessions à la lumière et dans l'obscurité (engendrant des modifications de stratégie dans la version *sans délai*) pourrait fournir des informations supplémentaires.

Un argument supplémentaire appuyant cette hypothèse provient de l'étude de Hok *et al.* (2007), dans laquelle le pic d'activité des cellules de lieu apparaît après une seconde d'attente au but. Cependant, le simple fait d'indicer le but (l'emplacement du but est visuellement identifié par une plateforme) avance ce pic d'activité à l'arrivée de l'animal au but. Lorsque le but est *indicé*, l'animal sait instantanément qu'il l'a atteint. Par conséquent, ce signal de confirmation de l'arrivée au but arriverait instantanément, ce qui explique le pic d'activité observé dès l'entrée au but. En absence d'indice marquant le but, le pic d'activité est atteint une seconde plus tard, ce qui pourrait correspondre au temps nécessaire pour comparer la position du but et la position réelle de l'animal. Dans notre version *sans délai*, cette comparaison s'avère moins primordiale étant donné que les animaux ne doivent pas s'arrêter au but. De ce fait, leur comportement de navigation nécessite moins de précision, ce qui pourrait expliquer la diminution du nombre de cellules de lieu présentant une activité au but. De même, dans la version *sans délai*, l'animal bénéficie d'une confirmation instantanée de son

arrivée au but, grâce à la libération immédiate de la récompense, qu'il entend *via* un léger son du distributeur suivi du bruit d'un granulé tombant au sol. Cet indice sonore pourrait donc remplacer l'activité de confirmation d'arrivée au but et expliquerait la baisse du nombre de cellules de lieu présentant une activité secondaire au but et l'absence d'écartement des champs des cellules de grille. De manière intéressante, Hok *et al.* rapportent aussi que dans la version *indicée* de la tâche *avec délai*, la proportion de cellules présentant une activité secondaire au but diminue, passant de 84% dans la version *non indicée,* à 39% dans la version *indicée*. Dans notre version *sans délai* (*non indicée*), nous estimons que 22% des cellules présentent une activité secondaire au but. De ce fait, en fonction des contraintes de la tâche, l'activité secondaire est plus ou moins développée par les cellules de lieu. Dans tous les cas, il semble qu'une activité au but soit présente, quelles que soient les contraintes comportementales de la tâche. Mes résultats suggèrent donc que des changements procéduraux dans une tâche comportementale peuvent induire des modifications sur le comportement de l'animal, produisant ainsi des effets sur l'activité des neurones.

Lorsqu'un animal atteint un but ou une destination importante, selon les caractéristiques de la tâche et les différents processus cognitifs qu'elle implique, la structure en grille peut s'écarter ou au contraire se rapprocher du but (Boccara *et al.*, 2019), de même que l'activité des cellules de lieu peut surreprésenter un but (Hollup *et al.*, 2001 ; Dupret *et al.*, 2010 ; Xiao *et al.,* 2020), augmenter sa fréquence d'activité au but ou au sein d'un champ lors de l'approche du but (Aoki *et al.*, 2019) ou au contraire diminuer sa fréquence d'activité (Ainge *et al.*, 2007a ; Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2018). Il est possible qu'une activité en grille régulière ne soit pas toujours indispensable à une bonne orientation des animaux ni à une intégration des trajets précise puisque les animaux réalisent aussi bien la tâche *avec délai* dans l'obscurité qu'à la lumière. De même, les cellules de lieu peuvent présenter des activités hors de leur champ principal ou des déplacements de leur champ, ce qui n'induit pas de désorientation ni de perturbations comportementales. De manière intéressante, dans cette expérience l'activité des cellules de direction n'est pas modifiée dans la version *avec délai* (données non présentées, analysées par F. Capitano et F. Sargolini). Les cellules de direction restent ancrées sur un cadre de référence allocentré stable, ce qui permettrait à l'animal de maintenir un sens de l'orientation malgré ses différents déplacements et l'atteinte du ou des buts. Une seule étude chez la chauve-souris a rapporté des cellules de direction répondant au

but lorsque l'animal oriente sa tête en direction du but (Sarel *et al.*, 2017). Aussi, il a été montré que des déformations de la grille apparaissent à la suite de modifications de la géométrie d'un environnement (Barry *et al.*, 2007 ; Krupic *et al.*, 2015, 2018). Nous pouvons faire l'hypothèse que dans la tâche *avec délai* le but soit perçu ou traité comme une limite physique et qu'il induise une déformation locale de la grille comme pourrait le faire un mur.

Cette plasticité fonctionnelle des cellules spatiales permettrait à l'animal d'optimiser sa navigation en fonction de l'importance de certaines zones dans l'espace et du comportement y étant associé. Lorsque les cellules de lieu et les cellules de grille s'activent, l'animal bouge, sent, ressent, est motivé, cherche, apprend : en bref, il vit. Il n'est donc pas étonnant que de multiples subtilités dans l'activité de ces cellules puissent être observées, surtout lorsque les tâches comportementales sont plus complexes ou simplement un peu plus proches de conditions écologiques. Il se pourrait alors que la parfaite régularité de l'activité d'une cellule de grille ou le champ unique et stable d'une cellule de lieu soient en réalité des activités observées dans des cadres très simplifiés de laboratoire mais demeurent très peu présents dans le monde réel.

Ainsi, les activités des cellules spatiales peuvent dépendre de la complexité de l'environnement lui-même (avec des espaces connectés, une géométrie particulière etc.), ou de la tâche comportementale dans laquelle l'animal est engagé. C'est-à-dire que lorsque l'environnement n'est plus une simple arène sans demande comportementale précise, de multiples variations apparaissent dans l'activité électrophysiologique des neurones, reflétant les divers codages spatiaux et cognitifs de l'animal. Nos travaux montrent que le codage d'un but « purement » spatial n'existe peut-être pas dans l'hippocampe et le cortex entorhinal médian, mais un but « purement » spatial existe-t-il réellement dans la nature ?

Discussion Générale

Dans l'ensemble, mes travaux de thèse montrent que de nouvelles cellules ou de nouvelles propriétés des cellules spatiales peuvent apparaître selon la structure des environnements ou le comportement. Des études ont montré que des modifications simples de l'environnement, telles que la modification de la **géométrie d'une pièce** avec le déplacement d'un mur, l'agrandissement ou le rétrécissement d'une pièce, peuvent affecter **l'activité des cellules de lieu ou de grille** (Krupic *et al.*, 2018 ; Barry *et al.*, 2006 ; Henriksen *et al.*, 2010 ; McNaughton *et al.*, 1983). Des changements plus complexes, tels que ceux relatifs à **la topologie** d'un environnement, de **l'orientation** ou la **familiarité d'un environnement connecté** peuvent également entraîner des modifications de l'activité de ces cellules (Jacob *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022 ; Alvernhe *et al.*, 2008, 2011 ; Paz-Villagrán *et al.*, 2004 ; Wernle *et al.*, 2018 ; Grieves *et al.*, 2016 ; Carpenter *et al.*, 2015). De même, diverses **tâches comportementales** induisent des activités spécifiques des cellules spatiales (Grieves *et al.*, 2016 ; Ainge *et al.*, 2007 ; Butler *et al.*, 2019 ; Boccara *et al.*, 2019 ; Dupret *et al.*, 2010 ; Hok *et al.*, 2007). Les études comportementales rapportent au contraire que l'activité des **cellules de direction n'est pas modulée en fonction des différents comportements** d'un animal (Muir et Taube, 2004 ; Sanguinetti-Scheck et Brecht, 2020). Mais l'hypothèse selon laquelle les représentations spatiales soutenues par l'activité des cellules de direction et des cellules de grille sont extrêmement stables, uniques et rigides pour un environnement donné se retrouve fortement remise en question par nos résultats. En revanche, l'activité des cellules de lieu semble, d'après la littérature, plus « souple » et influencée par des modifications de l'environnement.

Environnements connectés et cellules spatiales

En ce qui concerne les **cellules de direction**, il a été rapporté que dans les environnements composés de pièces connectées, elles **maintiennent une direction préférentielle stable** entre toutes les pièces (Carpenter *et al.*, 2015 ; Dudchenko et Zinkyu, 2005 ; Yoder et Taube, 2011 ; Smith *et al.*, 2020). La stabilité des cellules de direction semble cruciale dans des environnements connectés car une référence directionnelle commune permet de lier les

différentes pièces et participerait ainsi à l'unification de différentes représentations locales en une seule **représentation globale de l'environnement entier**. Cette représentation ancrée dans un cadre de référence global permet à un animal d'emprunter le chemin le plus direct, d'inférer des raccourcis et détours.

Au contraire, les **cellules de lieu présentent une activité différente entre les pièces**, suggérant que leur activité est ancrée sur un cadre de référence local (Duvelle *et al.*, 2021 ; Cheng *et al.*, 2023 ; Paz-Villagrán *et al.*, 2004, 2006 ; Skaggs et McNaughton, 1998). Ces activités spécifiques des cellules de lieu montrent qu'elles sont sensibles à plusieurs caractéristiques issues d'un cadre de référence local, telles que l'orientation des pièces, leur géométrie ou leurs repères (Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2015 ; Fuhs *et al.*, 2005). En outre, si les pièces sont identiques et parallèles, l'activité des cellules de lieu sera répétée alors que si les pièces présentent des caractéristiques différentes, les cellules de lieu développent des activités différentes entre les pièces. Des **représentations locales** permettent à l'animal de connaître et de distinguer chaque pièce d'un environnement connecté ainsi que le comportement y étant associé.

Les **cellules de grille**, quant à elles, présentent dans un premier temps **une activité répétée entre les pièces** et donc ancrée sur un cadre de référence local. Puis lorsque l'environnement devient **familier**, la grille devient **continue dans tout l'environnement** : elle se trouve alors ancrée sur un cadre de référence global (Carpenter *et al.*, 2015). Des études lésionnelles ou de conflits entre les repères distaux et proximaux identifient également le cortex entorhinal médian comme indispensable à la formation d'une représentation globale, basée sur les repères distaux (Poitreau *et al.*, 2021 ; Neunuebel *et al.*, 2013). L'étude de Carpenter *et al.* (2015) est la seule actuellement à s'être intéressée à l'activité des cellules de grille dans un environnement composé de pièces connectées. Leur dispositif est constitué de pièces identiques et orientées dans la même direction. Lorsque les cellules de grille sont ancrées sur un cadre de référence local (c'est-à-dire propre à une pièce), l'activité en grille est répétée à l'identique entre les pièces. Il est possible que, comme pour les cellules de lieu, une orientation, une géométrie ou des repères distincts entre les pièces puissent induire des activités différentes de la part des cellules de grille. Il serait alors intéressant d'observer, si dans de telles configurations, la structure en grille est toujours répétée à l'identique entre les pièces et devient toujours continue entre les pièces au fur et à mesure de la familiarisation à

l'environnement. Deux études ont mis en évidence des activités locales des cellules de grille lorsque des « sous-espaces » sont créés au sein d'une arène, ce qui peut se rapprocher d'un environnement connecté (Derdikman *et al.*, 2009 ; Sanguinetti-Scheck et Brecht, 2020). L'étude de Derdikman *et al.* montre qu'entre des couloirs parallèles, la structure en grille est rompue mais des activités régulières sont observées au sein d'un même couloir et ces activités demeurent identiques entre les couloirs de même orientation. Les signaux directionnels pourraient alors influencer l'activité des cellules de grille.

Lorsqu'un animal veut **se déplacer efficacement entre les divers lieux** d'un environnement connecté, il a besoin **d'utiliser en parallèle des cadres de références locaux et globaux**. À ce jour, aucune structure permettant de soutenir simultanément ces deux types de représentations n'a clairement été identifiée.

Les cellules (multi)directionnelles dans les environnements connectés

Ma première expérience apporte des éléments de réponse à cette question, en montrant que **le cortex rétrosplénial contient deux populations de cellules directionnelles pouvant simultanément fournir les cadres spatiaux locaux et globaux** : les cellules de direction canoniques et les **cellules multidirectionnelles** qui changent de direction préférentielle entre chaque pièce de l'environnement. La découverte des cellules multidirectionnelles questionne le modèle du réseau d'attracteur continu qui explique l'activité des cellules directionnelles identifiées dans de très nombreuses structures. Ce modèle implique que les relations directionnelles entre toutes les cellules de direction restent inchangées quelles que soient les modifications d'un environnement ou du comportement des animaux. Cependant, l'activité simultanée des cellules de direction canoniques et des cellules multidirectionnelles provoque des changements de relations directionnelles entre les cellules, ce qui ne peut pas être expliqué par le modèle des attracteurs continu tel qu'il est proposé (Clark et Taube, 2012 ; Redish *et al.*, 1996 ; Skaggs *et al.*, 1995 ; Zhang, 1996). Les cellules multidirectionnelles pourraient ne pas être intégrées à un tel réseau directionnel unique (Page et Jeffery, 2018 ; Yan *et al.*, 2021) ou du moins, il s'agirait d'un réseau différent de celui des **cellules de direction canoniques** (Kornienko *et al.*, 2018 ; LaChance *et al.*, 2022 ; Samsonovich, 2018). Les cellules multidirectionnelles augmentent le nombre de directions préférentielles en fonction du

nombre de pièces, que ces dernières soient identiques ou différentes. De plus, l'angle séparant leurs directions préférentielles correspond à l'angle de rotation entre les pièces. Dans notre étude, les pièces sont orientées à 180° ou à 90° l'une de l'autre grâce aux repères visuels et à la position des portes, les cellules multidirectionnelles présentent donc respectivement des activités directionnelles opposées ou orthogonales. De ce fait, à partir de l'activité d'une seule **cellule multidirectionnelle** il devient possible de déduire le **nombre de pièces** constituant l'environnement ainsi que **l'orientation des pièces**. Ce constat nous amène à l'hypothèse que l'activité de ces cellules multidirectionnelles est ancrée sur chaque pièce, et qu'elles pourraient de ce fait **fournir des informations d'orientation dans un cadre de référence local**. La disparition de l'activité multidirectionnelle dans une arène simple carrée ou circulaire confirme bien cette hypothèse du cadre de référence local, puisque dans une telle arène il n'existe qu'un seul cadre de référence, qu'il soit global, local, ou que les deux cadres soient confondus (Jacob *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022). **L'absence d'activité multidirectionnelle dans une arène simple** confirme également que cette activité ne fait pas partie des propriétés intrinsèques des cellules du cortex rétrosplénial mais pourrait apparaitre lorsque l'animal identifie des pièces connectées et donc plusieurs cadres de références locaux. Il semblerait alors que l'activité multidirectionnelle dépende d'un ensemble de caractéristiques constituant un cadre de référence local, telles que les limites des murs, la géométrie de la pièce, son orientation, les repères qu'elle contient, les mouvements contraints par la pièce… De futures études seront nécessaires pour confirmer cette hypothèse du codage local des cellules multidirectionnelles, et comprendre quelles sont les caractéristiques spatiales leur permettant d'ancrer l'activité directionnelle à chaque pièce. Jusqu'à présent, ces cellules multidirectionnelles sont toujours enregistrées dans des environnements composés de pièces symétriques et orientées différemment. Dans notre expérience, bien que **les pièces se distinguent clairement** par leur orientation et leurs repères allothétiques (visuels et tactiles), **éliminant toute ambiguïté** liée à la similitude entre les pièces, la géométrie de chaque pièce reste identique avec les repères visuels qui préservent les mêmes relations spatiales par rapport aux portes. Il serait donc intéressant de faire varier ces paramètres lors de futures expériences.

Activités de position dans les environnements connectés

J'ai également montré que les **cellules non-directionnelles du cortex rétrosplénial** présentent des **activités spatiales de position** qui seraient **ancrées sur chaque pièce**. Contrairement aux **cellules de lieu** hippocampiques qui **recodent spatialement** en majorité entre les pièces ou développent, rarement, une **activité répétée**, les cellules non-directionnelles du cortex rétrosplénial montrent une activité répétée qui **suit l'orientation des pièces** (de manière comparable aux cellules multidirectionnelles). Les activités spatiales hippocampiques et rétrospléniales sont donc toutes deux **ancrées sur un cadre de référence local** mais chacune à sa manière. Les cellules de lieu semblent discriminer les pièces en les représentant par des activités distinctes, ce qui contribue certainement à dissocier les pièces dans des contextes distincts. En revanche, les cellules non-directionnelles du cortex rétrosplénial semblent répondre principalement à la structure des pièces car leur activité suit l'orientation des pièces tout en restant similaire d'une pièce à l'autre, que celles-ci soient identiques ou différentes. Il a été proposé que les informations de bord provenant des « *boundary vector cells* » ancrent le champ d'activité d'une cellule de lieu dans un environnement donné (Barry *et al.*, 2006). L'influence des « *boundary vector cells* » sur l'activité des cellules de lieu pourrait alors expliquer la présence d'activités spatiales répétées entre des pièces identiques et parallèles (Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2015 ; Skaggs et McNaughton, 1999). Une explication possible de la différence d'activité spatiale entre les cellules du cortex rétrosplénial et des cellules de lieu pourrait alors provenir des interactions avec ces « *boundary vector cells* », qui ont une composante **égocentrée dans le cortex rétrosplénial** (Alexander *et al.*, 2020 ; Van Wijngaarden *et al.*, 2020) mais sont uniquement **allocentrées dans le cortex entorhinal médian** (Solstad *et al.*, 2008).

Cependant dans notre expérience, alors même que les pièces sont identiques, les cellules de lieu recodent majoritairement entre les pièces. Le modèle d'interaction des « *boundary vector cells* » ne peut donc expliquer à lui seul ces résultats. De précédentes études démontrent que d'autres signaux peuvent influencer l'activité spatiale des cellules de lieu, notamment les **signaux directionnels**, la **géométrie** ainsi que les **informations visuelles** spécifiques à une pièce (Grieves *et al.*, 2016 ; Harland *et al.*, 2017 ; Spiers *et al.*, 2015). Dans notre expérience, l'orientation entre les pièces est opposée ou orthogonale. De ce fait, la relation angulaire entre le signal de direction canonique unidirectionnel, les repères visuels et les informations de

géométrie change entre les pièces. Cette **rupture des relations spatiales** peut être à l'origine du **recodage spatial des cellules de lieu** qui séparent alors les pièces en différents contextes. Ainsi, même dans le cas où les pièces sont identiques, le recodage entre les pièces reste possible. De plus, une distinction entre les pièces par l'activité des cellules de lieu semble utile pour réaliser des tâches demandant de discriminer des pièces connectées. En effet, lorsque les champs sont répétés à l'identique entre les pièces les animaux semblent moins capables de distinguer correctement ces dernières (Grieves *et al.*, 2016). L'ancrage de la carte spatiale fournie par les cellules de lieu serait donc plutôt dépendant de la cohérence entre les signaux directionnels canoniques, les informations visuelles et géométriques. Les signaux directionnels canoniques peuvent notamment être transmis par le cortex rétrosplénial, ce qui suggère que l'inactivation du cortex rétrosplénial provoquerait une instabilité de l'activité des cellules de lieu hippocampiques (Cooper et Mizumori, 2001). En ce qui concerne les activités spatiales des **neurones du cortex rétrosplénial**, qui ne recodent pas spatialement entre les pièces mais se **répètent en fonction de l'orientation** de chaque pièce, il est probable qu'elles soient davantage modulées par la cohérence entre les signaux directionnels des **cellules multidirectionnelles** du cortex rétrosplénial, ainsi que par les **informations de géométrie et visuelles**.

Le cortex rétrosplénial soutient simultanément des représentations locales et globale

Le cortex rétrosplénial semble donc être à l'heure actuelle une structure cérébrale capable de **fournir simultanément un signal de direction stable** dans tout l'environnement ainsi qu'un **signal directionnel (et spatial) propre à chaque pièce**. Le cortex rétrosplénial pourrait donc être une structure clé soutenant à la fois des cadres de références locaux et globaux. Cette fonction lui permettrait alors de fournir des représentations locales et globales vers le cortex entorhinal médian et l'hippocampe, qui utiliseraient à leur tour, l'une ou l'autre de ces représentations en fonction du comportement de l'animal ou de ses déplacements dans l'environnement. Et à l'inverse, des informations spatiales allocentrées, telles que les informations sur le lieu et le contexte, pourraient être transportées de l'hippocampe et du cortex entorhinal médian vers le cortex rétrosplénial. Il est probable que le code spatial contenu dans le cortex rétrosplénial soit affiné par des entrées hippocampiques (Ranganath

et Ritchey, 2012 ; Opalka *et al.*, 2020). Cette hypothèse se trouve renforcée par la perte des activités spatiales au sein du cortex rétrosplénial à la suite de lésions hippocampiques (Mao *et al.* 2018). Les informations de l'hippocampe et du cortex entorhinal médian peuvent donc moduler en retour l'activité du cortex rétrosplénial, pouvant compléter les représentations locales et globales, notamment en apportant respectivement des informations de contexte (Smith et Mizumori, 2006) ou d'intégration des trajets (Gil *et al.*, 2018 ; Parron *et al.*, 2004 ; McNaughton *et al.*, 2006 ; Jacob *et al.*, 2019) nécessaires à la formation de cadre de référence locaux et globaux.

La **ségrégation anatomique** des cellules multidirectionnelles et des cellules de direction canoniques apporte également un éclairage quant aux activités soutenues par ces deux populations de cellules. La **région dysgranulaire**, qui contient les cellules multidirectionnelles, se distingue par les entrées massives d'**informations des cortex visuels primaire et secondaire** (Van Groen et Wyss 1990, 1992, 2003). Les aires visuelles, notamment le cortex visuel secondaire médian, projettent également vers le cortex postrhinal et le cortex entorhinal médian (Olsen *et al.*, 2017) qui contiennent également des cellules bidirectionnelles particulières (Kornienko *et al.*, 2018 ; Lachance *et al.*, 2022). Les connexions réciproques entre le cortex rétrosplénial, le cortex entorhinal médian et le cortex postrhinal facilitent probablement l'échange d'informations sur les signaux directionnels basés sur des repères environnementaux, ce qui pourrait moduler l'activité des cellules multidirectionnelles présentes dans ces trois structures (Sugar et Witter, 2016). Par conséquent, il est probable que les cellules multidirectionnelles du cortex rétrosplénial dysgranulaire reçoivent des informations sensorielles visuo-spatiales qui peuvent être utiles pour définir un cadre de référence local. Les **signaux directionnels**, tels que ceux provenant du noyau dorsal latéral du thalamus, qui atteignent la région dysgranulaire, sont fortement modulés par les informations visuelles (Mizumori et Williams, 1993). Toutefois, les repères visuels seuls ne peuvent pas expliquer **l'activité multidirectionnelle** puisqu'elle est toujours **présente dans l'obscurité**, et que dans des **environnements simples (constitués d'une pièce) le corrélat directionnel disparaît** (Jacob *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2022). Par conséquent, d'autres **informations multimodales** peuvent permettre d'ancrer l'activité directionnelle à la pièce, telles que celles apportées par le cortex pariétal postérieur qui est une aire associative (Olsen *et al.*, 2017) ou

le cortex moteur secondaire dont les informations de mouvement, contraintes par les limites de la pièce, peuvent aider à former **un cadre de référence local** (Yamawaki *et al.*, 2016).

La région granulaire du cortex rétrosplénial **reçoit des afférences de structures thalamiques possédant des cellules directionnelles canoniques** (Van Groen et Wyss, 1990 ; Shibata, 1993 ; Lomi *et al.*, 2021), ce qui amènerait le même type de cellules directionnelles canoniques. La partie granulaire semble également recevoir plus **d'informations de nature idiothétique**, ce qui pourrait donner lieu à une représentation de l'environnement tout entier : grâce à l'intégration continue des mouvements entre les pièces, ces dernières peuvent toutes être reliées entre elles et permettre la formation d'une représentation globale. L'intégration des trajets est utile pour soutenir un signal de direction stable dans tout l'environnement, et ainsi former **un cadre de référence global** (Taube et Burton, 1995). Ces informations peuvent être apportées par le cortex entorhinal vers le cortex rétrosplénial qui cible, de nouveau préférentiellement, la région granulaire (Czajkowski *et al.*, 2013 ; Kononenko et Witter, 2012 ; Van Groen et Wyss, 1990).

Il serait donc intéressant, lors de futurs travaux, d'enregistrer conjointement les cellules multidirectionnelles et canoniques du cortex rétrosplénial, tout en inactivant les entrées provenant des aires visuelles, des entrées directionnelles des différents noyaux thalamiques ou de la formation hippocampique et parahippocampique. Ces études permettraient d'établir la direction et le flux des informations spatiales à travers le cortex rétrosplénial et plus largement vers le système spatial cérébral.

Des études récentes ont mis en évidence que le cortex rétrosplénial, probablement grâce à sa capacité d'intégration de signaux variés idiothétiques et allothétiques, est également capable de **transformer des informations d'un cadre de référence égocentré en un cadre allocentré** (Alexander et Nitz, 2015 ; Alexander *et al.*, 2020, 2023 ; van Wijngaarden *et al.*, 2020). Ce rôle est tout à fait cohérent et complémentaire avec des représentations locales et globales. Une représentation allocentrée peut comporter les caractéristiques d'une pièce (cadre de référence local) ou contenir l'environnement entier (cadre de référence global). De même, une représentation égocentrée peut contenir la vue locale d'une seule pièce (cadre de référence local) mais il est également possible d'imaginer des trajectoires entre plusieurs pièces et ainsi se déplacer mentalement dans tout l'environnement (cadre de référence global). Ce rôle du cortex rétrosplénial est cohérent avec sa fonction de codage de scènes visuelles et de

navigation (Chrastil *et al.*, 2018). Des études portant sur le traitement des scènes visuelles et d'imagerie mentale confirment également son implication dans le transfert des cadres de référence égocentré et allocentré (Byrne *et al.*, 2007 ; Epstein et Higgins, 2007). De plus, **plusieurs études d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle chez l'humain confirment aussi nos hypothèses sur les cadres de références locaux et globaux soutenus par le cortex rétrosplénial** (Kim et Maguire, 2018 ; Marchette *et al.*, 2014 ; Peer *et al.*, 2019 ; Shine *et al.*, 2016 ; Sulpizio *et al.*, 2013).

Mon travail de thèse démontre l'existence d'un code multidirectionnel qui ne semble ni intrinsèque, ni purement sensoriel, ni uniquement égocentré, mais dépendant de l'existence d'espaces connectés. Les travaux présentés dans ma thèse apportent des connaissances aux précédentes études (Jacob *et al.* 2017 ; Zhang *et al.*, 2022 ; Spiers *et al.* 2015 ; Grieves *et al.*, 2016) afin de montrer que la présence de pièces connectées dans un environnement guide l'activité multidirectionnelle des cellules du cortex rétrosplénial. Il est clair que les **cellules encodent des directions multiples dans l'espace local allocentré**, plutôt que des informations de bords égocentrées. En résumé, le réseau bénéficierait d'un second système directionnel signalant des informations directionnelles locales, probablement grâce à la capacité du cortex rétrosplénial à identifier des repères stables (Auger *et al.*, 2012, 2018 ; Miller *et al.*, 2014), à intégrer les informations de bord et à recalibrer rapidement le système en convertissant les vues panoramiques égocentrées en représentations allocentrées (Alexander et Nitz, 2015, 2017 ; Alexander *et al.,* 2020 ; Robertson *et al.*, 2016 ; Dhindsa *et al.*, 2014). L'existence simultanée des **divers cadres de référence** (locaux/globaux et égocentrés/allocentrés) dans le cortex rétrosplénial suggère qu'il constitue une structure essentielle pour **naviguer dans des environnements connectés**. En effet, les transferts entre plusieurs cadres de référence peuvent permettre de varier les points de vue et les échelles des représentations d'un environnement complexe, ce qui est essentiel pour s'y déplacer de manière efficace et flexible. Afin de tester ces hypothèses, il serait intéressant d'observer les activités des cellules directionnelles lorsque deux cadres de référence se trouvent en conflit. De même, observer l'activité des cellules directionnelles et multidirectionnelles pendant que des animaux réalisent des tâches impliquant l'utilisation d'un cadre de référence local ou global pourrait permettre de mieux comprendre les aspects fonctionnels de ces activités neuronales.

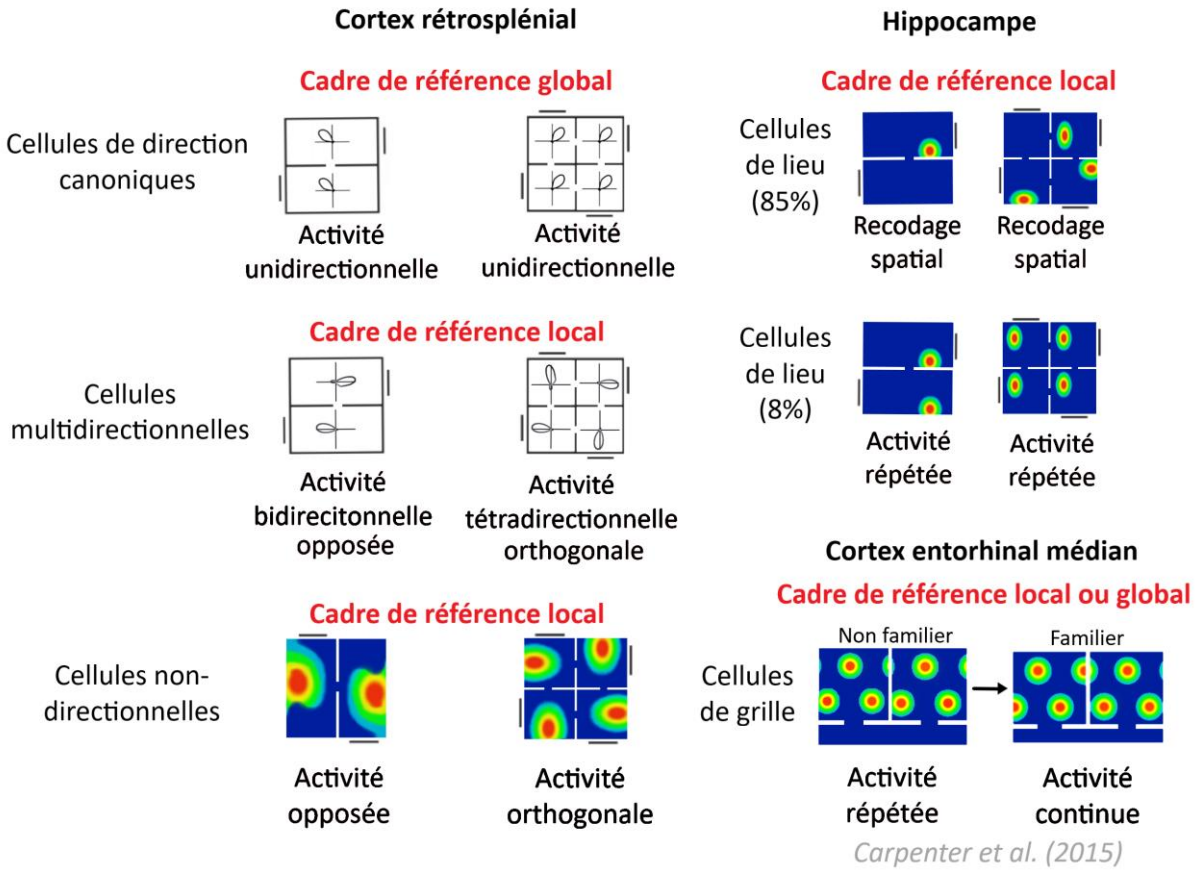


Figure 65. Activités des cellules spatiales dans les environnements connectés
Le cortex rétrosplénial est la seule structure présentant simultanément des activités locales et globales.

Toutefois, l'étude de la représentation spatiale de différents lieux ne nécessite pas toujours une division physique de l'environnement. En effet, même dans une simple pièce (comme dans la cage d'un animal de laboratoire), l'animal divise son espace en différents lieux dans lesquels il adapte son comportement : un espace pour son nid, un autre pour stocker et consommer sa nourriture, un autre pour jouer, etc. **L'environnement unique devient alors compartimenté en différents sous-lieux par le comportement de l'animal** plutôt que par la présence de murs ou de limites physiques. Se pose alors la question de savoir si, comme dans les environnements connectés, les neurones spatiaux représentent de manière spécifique les sous-lieux pertinents au sein d'une arène simple.

Compartimentation de l'environnement selon le comportement de l'animal

Dans ma seconde expérience, je montre que certaines activités électrophysiologiques des cellules spatiales peuvent être révélées lorsque l'animal est engagé dans un comportement de navigation spécifique. Dans cette étude, la complexité ne dépend donc pas de la structure même de l'environnement, mais plutôt de la tâche comportementale : les animaux doivent repérer au sein d'une arène circulaire, une zone saillante qui deviendra un but à atteindre leur permettant de recevoir une récompense. J'ai enregistré les cellules du cortex entorhinal médian et de l'hippocampe puis observé certaines **modulations locales des cellules de grille et de lieu**, **au niveau du but**. Ces modulations s'avèrent très dépendantes du comportement de l'animal au but : lorsqu'il doit attendre 2 secondes avant de recevoir une récompense, la majorité des **cellules de lieu enregistrées présentent une augmentation de l'activité au but** (en dehors du champ d'activité principal ; Hok *et al.*, 2007 ; Duvelle *et al.*, 2019 ; Hayashi *et al.*, 2016) tandis que les **cellules de grille présentent une expansion de la grille autour du but**. Toutefois, en **l'absence de délai, la proportion de cellules de lieu ayant une activité au but diminue considérablement et l'expansion de la grille disparaît.** Je propose l'hypothèse que ces activités ne sont pas liées à une représentation du but, mais plutôt à **un signal indiquant à l'animal qu'il a atteint le but**. Dans la **version de la tâche *avec délai,* ce signal serait indispensable** pour que l'animal réalise correctement la tâche et permettrait d'éviter des erreurs de localisation du but dans lesquelles l'animal resterait inutilement immobile pendant 2 secondes au but. Au contraire, **dans la version *sans délai*, ce signal d'atteinte du but serait moins important** car l'obtention instantanée de la récompense (associée au son du distributeur de granulé) signale à l'animal qu'il a bien atteint le but et lui permet d'enchaîner plus facilement les essais. De ce fait, les erreurs d'estimation de la position du but deviennent moins frustrantes pour l'animal. Nos résultats comportementaux renforcent cette hypothèse car ils suggèrent que des stratégies distinctes sont utilisées entre les versions *avec* et *sans délai,* impliquant différents niveaux d'attention des animaux entre les deux versions de la tâche. Dans la version *avec délai*, les animaux maintiennent des performances stables entre les sessions à la lumière et les sessions dans l'obscurité. Dans l'obscurité, les animaux doivent s'appuyer sur une stratégie d'intégration des trajets, ce qui les oblige à porter leur attention sur l'intégration des informations idiothétiques pour réussir la tâche. Les performances des rongeurs restant constantes entre les sessions à la lumière et dans l'obscurité, nous pouvons

faire l'hypothèse qu'ils s'appuient sur une stratégie conjointe d'intégration des trajets et allothétique, même lors des sessions à la lumière, afin que le calcul de la position soit sûr et précis, et ainsi maximiser le nombre d'essais réussis. Au contraire, dans la version *avec délai*, les animaux sont moins performants dans l'obscurité (bien que le nombre d'essais réussis reste élevé), ce qui suggère qu'ils n'utilisent pas les mêmes stratégies à la lumière et dans l'obscurité. Ainsi, à la lumière, les animaux utiliseraient majoritairement les informations allothétiques et moins les informations idiothétiques. Cette hypothèse est renforcée par des activités des cellules de grille et de lieu avec des propriétés « standards » dans la version *sans délai* de la tâche.

Des analyses complémentaires de l'activité des cellules de lieu et de grille seront réalisées prochainement pour les sessions dans l'obscurité. Il sera intéressant d'examiner si le changement de stratégie dans la version *sans délai* entraîne une modification de l'activité des cellules spatiales. Dans la version *avec délai* en revanche, les performances restant stables et donc a priori les stratégies de navigation demeurant les mêmes, il est probable que l'activité des cellules de lieu et des cellules de grille soient les mêmes entre les sessions lumière et obscurité. De ce fait, **une structure en grille extrêmement régulière n'apparaît pas indispensable à la bonne orientation des animaux ni à une intégration des trajets précise**.

Le résultat le plus étonnant de cette étude est probablement celui de l'expansion de la grille à l'emplacement du but. Mes résultats suggèrent que l'écartement de la grille n'est pas causé par une inhibition des cellules de grille au but. Nous pouvons proposer une interaction entre l'activité des cellules de grille et celle des cellules de lieu, étant donné qu'elles sont toutes les deux influencées par le but. Toutefois, nous ignorons si ces modulations sont réciproques ou à sens unique. D'un point de vue fonctionnel, si les champs d'une cellule de grille permettent de discrétiser l'espace, l'expansion au niveau du but permettrait d'accroitre cet espace, ce qui peut augmenter la perception de la surface du but. En comparaison avec un « zoom », cela signifierait que le système de navigation traite l'espace au niveau du but comme plus large. Une plus grande surface pourrait permettre l'intégration d'un plus grand nombre d'informations spatiales au but (comme un signal d'atteinte du but à la suite d'une évaluation précise de la position). La simple présence d'un but spatial peut donc moduler les propriétés spatiales des cellules de grille et de lieu. Et même si ces cellules ne codent pas directement le

but, leur activité semble **accompagner le comportement de l'animal**, peut-être pour faciliter l'atteinte de ce but.

À ma connaissance, de telles activités des cellules de lieu et de grille n'ont jamais été mentionnées dans d'autres études s'intéressant aux comportements de navigation dirigés vers un but dans un paradigme expérimental différent. Ces cellules semblent plutôt adapter leur activité afin d'accompagner et optimiser le comportement spatial de l'animal en fonction des contraintes et de l'objectif de la tâche, et ces neurones ne traiteraient donc pas les buts comme un élément spatial indépendant de la tâche comportementale. De ce fait, étant donné que **chaque tâche se définie par des caractéristiques spécifiques et demande l'utilisation de stratégies et de repères différents, de multiples modulations de l'activité des cellules de grille et de lieu pourraient exister**. C'est ce que nous pouvons observer dans la littérature où de nombreuses activités des cellules de lieu et de grille sont rapportées : des accumulations des champs au but, des augmentations ou diminutions de la fréquence d'activité dans les champs en fonction de l'approche du but ou des activités dépendantes du trajet menant au but (Boccara *et al.,* 2019 ; Butler *et al.*, 2019 ; Hollup *et al.*, 2001 ; Dupret *et al.*, 2010 ; Xiao *et al.,* 2020 ; Aoki *et al.*, 2019 ; Ainge *et al.*, 2007 ; Grieves *et al.*, 2016 ; Spiers *et al.*, 2018). Les cellules de direction ont une activité qui ne change pas dans ces études, ce qui peut servir à orienter de manière stable les cartes spatiales, malgré les différents comportements.

Ainsi, **les cellules spatiales fourniraient plutôt des informations spatiales permettant la réussite du comportement de l'animal**. Leur activité ne serait donc pas figée pour un environnement donné mais, au contraire, varierait en fonction du contexte ou de l'état comportemental, attentionnel et motivationnel dans lequel se trouve l'animal (Markus *et al.,* 1995 ; Rossier *et al.*, 2000 ; Hok *et al.*, 2007 ; Wood *et al.*, 2000 **;** Lee *et al.*, 2006). Bien que les cellules de grille permettent de dissocier l'espace de manière régulière, la distorsion spatiale au niveau du but (ou dans des environnements particuliers en termes de géométrie : Krupic *et al.*, 2014, 2015 ; de topologie : Sanguinetti-Scheck et Brecht, 2020 ; ou de relief : Grieves *et al.*, 2021 ; Ginosar *et al.*, 2021) suggère que l'espace n'est pas représenté de façon strictement uniforme. Ces activités irrégulières des cellules de grille remettent en question la proposition selon laquelle la navigation reposerait uniquement sur une carte métrique régulière, et suggère qu'une représentation flexible pourrait être plus adaptée aux besoins de la tâche ou de l'environnement.

Cellules spatiales et codage du but	Études
Accumulation des champs des cellules de lieu et de grille au but	Breese *et al.* (1989) - Hollup *et al.* (2001) - Xiao *et al.* (2020) - Kobayashi *et al.*, 2003 - Lee *et al.* (2006) - Zaremba *et al.* (2017) - Dupret *et al.* (2010) - Boccara *et al.* (2019)
Activités distinctes des cellules de lieu et de grille selon la trajectoire menant au but	Grieves *et al.* (2016) - Ainge *et al.* (2007) - Smith et Mizumori (2006) - Wood *et al.* (2000)
Augmentation de la fréquence de décharge des champs d'activité des cellules de grille proches du but	Bulter *et al.* (2019)
Augmentation de la fréquence de décharge intra-champs des cellules de lieu en fonction de la direction de la trajectoire vers le but	Aoki *et al.* (2019)
Diminution du nombre de champs d'activité des cellules de lieu au fur et à mesure de l'approche du but	Ainge *et al.* (2007) - Grieves *et al.* (2016) - Spiers *et al.* (2018)
Activité secondaire des cellules de lieu et expansion de la grille en présence de délai au but	Hok *et al.* (2007) - Duvelle *et al.* (2019) - Hayashi *et al.* (2016) - Capitano, Laurent *et al.* (in prep.)
Activité des cellules de direction non influencée par la présence d'un but	Muir et Taube (2004) - Sanguinetti-Scheck et Brecht (2020)
Codage vectoriel du but par les cellules de direction	Sarel *et al.* (2017)

Tableau 1. Synthèse des études s'intéressant aux activités spatiales dans des tâches de navigation orientées vers un but

Conclusion

Mes travaux montrent que **la division en plusieurs espaces d'un environnement peut dépendre de la structure même de cet environnement mais aussi du comportement de l'animal. L'activité des cellules spatiales peut refléter l'environnement dans lequel l'animal évolue mais aussi le comportement qu'il adopte en différents lieux**. Dans un environnement naturel, les animaux sont constamment amenés à faire face à ses transformations, la végétation change, les intempéries modifient l'environnement, des ressources apparaissent et disparaissent, le terrain comporte plus ou moins de relief… Une carte cognitive figée et rigide ne pourrait pas intégrer les changements perpétuels que subit un environnement, et au contraire, une carte qui intégrerait chaque petit changement ne permettrait pas de reconnaître la constance d'un environnement ou serait très coûteuse à produire et à utiliser. Un équilibre entre flexibilité et stabilité apparaît nécessaire. Les cellules spatiales peuvent intégrer un changement dans l'environnement selon qu'il est suffisamment important pour justifier un recodage ou une modulation de l'activité : elles peuvent traiter les informations sensorielles entrantes, les comparer aux informations mnésiques stockées et identifier si l'environnement est familier, familier mais légèrement modifié, ou complètement nouveau.

Mes travaux de recherche renforcent l'hypothèse d'un code spatial plus flexible, dans lequel la carte cognitive s'adapte au comportement de l'animal dans son environnement. Pour conclure, je fais l'hypothèse, certes simple mais nécessaire, que les cellules spatiales forment des représentations d'environnements complexes, une fonction indispensable puisque dans la nature les animaux doivent vivre dans des environnements riches et changeants.

Bibliographie

1. Aggleton, J. P. *et al.* Hippocampal-anterior thalamic pathways for memory: uncovering a network of direct and indirect actions. *Eur J Neurosci* **31**, 2292–2307 (2010).
2. Aggleton, J. P., Yanakieva, S., Sengpiel, F. & Nelson, A. J. The separate and combined properties of the granular (area 29) and dysgranular (area 30) retrosplenial cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* **185**, 107516 (2021).
3. Ainge, J. A., Tamosiunaite, M., Woergoetter, F. & Dudchenko, P. A. Hippocampal CA1 place cells encode intended destination on a maze with multiple choice points. *J Neurosci* **27**, 9769–9779 (2007).
4. Alexander, A. S. *et al.* Egocentric boundary vector tuning of the retrosplenial cortex. *SCIENCE ADVANCES* (2020).
5. Alexander, A. S. & Nitz, D. A. Retrosplenial cortex maps the conjunction of internal and external spaces. *Nat Neurosci* **18**, 1143–1151 (2015).
6. Alexander, A. S. & Nitz, D. A. Spatially Periodic Activation Patterns of Retrosplenial Cortex Encode Route Sub-spaces and Distance Traveled. *Current Biology* **27**, 1551-1560.e4 (2017).
7. Alexander, A. S., Robinson, J. C., Stern, C. E. & Hasselmo, M. E. Gated transformations from egocentric to allocentric reference frames involving retrosplenial cortex, entorhinal cortex, and hippocampus. *Hippocampus* **33**, 465–487 (2023).
8. Allen, K., Potvin, O., Thibaudeau, G., Doré, F. Y. & Goulet, S. Processing idiothetic cues to remember visited locations: Hippocampal and vestibular contributions to radial-arm maze performance. *Hippocampus* **17**, 642–653 (2007).
9. Alvernhe, A., Sargolini, F. & Poucet, B. Rats build and update topological representations through exploration. *Anim Cogn* **15**, 359–368 (2012).
10. Alvernhe, A., Save, E. & Poucet, B. Local remapping of place cell firing in the Tolman detour task: Place cell firing and detour behavior. *European Journal of Neuroscience* **33**, 1696–1705 (2011).
11. Alvernhe, A., Van Cauter, T., Save, E. & Poucet, B. Different CA1 and CA3 Representations of Novel Routes in a Shortcut Situation. *J. Neurosci.* **28**, 7324–7333 (2008).
12. Amemiya, S. & Redish, A. D. Manipulating Decisiveness in Decision Making: Effects of Clonidine on Hippocampal Search Strategies. *J Neurosci* **36**, 814–827 (2016).
13. Amin, E. *et al.* Selective lamina dysregulation in granular retrosplenial cortex (area 29) after anterior thalamic lesions: An in situ hybridization and trans-neuronal tracing study in rats. *Neuroscience* **169**, 1255–1267 (2010).
14. Anderson, M. I. & Jeffery, K. J. Heterogeneous Modulation of Place Cell Firing by Changes in Context. *J. Neurosci.* **23**, 8827–8835 (2003).
15. Aoki, Y., Igata, H., Ikegaya, Y. & Sasaki, T. The Integration of Goal-Directed Signals onto Spatial Maps of Hippocampal Place Cells. *Cell Rep* **27**, 1516-1527.e5 (2019).
16. Arleo, A. & Rondi-Reig, L. MULTIMODAL SENSORY INTEGRATION AND CONCURRENT NAVIGATION STRATEGIES FOR SPATIAL COGNITION IN REAL AND ARTIFICIAL ORGANISMS. *J. Integr. Neurosci.* **06**, 327–366 (2007).
17. Auger, S. D. & Maguire, E. A. Retrosplenial Cortex Indexes Stability beyond the Spatial Domain. *J. Neurosci.* **38**, 1472–1481 (2018).
18. Auger, S. D., Mullally, S. L. & Maguire, E. A. Retrosplenial Cortex Codes for Permanent Landmarks. *PLoS ONE* **7**, e43620 (2012).
19. Bannerman, D. M. & Yee, B. K. Double Dissociation of Function Within the Hippocampus: A Comparison of Dorsal, Ventral, and Complete Hippocampal Cytotoxic Lesions. (1999).
20. Barlow, J. S. Inertial Navigation as a Basis for Animal Navigation. (1964).
21. Barry, C. *et al.* The Boundary Vector Cell Model of Place Cell Firing and Spatial Memory. *Reviews in the Neurosciences* **17**, (2006).
22. Barry, C. & Burgess, N. Learning in a geometric model of place cell firing. *Hippocampus* **17**, 786–800 (2007).
23. Barry, C., Ginzberg, L. L., O'Keefe, J. & Burgess, N. Grid cell firing patterns signal environmental novelty by expansion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 17687–17692 (2012).

24. Barry, C., Hayman, R., Burgess, N. & Jeffery, K. J. Experience-dependent rescaling of entorhinal grids. *Nat Neurosci* **10**, 682–684 (2007).
25. Bassett, J. P. & Taube, J. S. Neural correlates for angular head velocity in the rat dorsal tegmental nucleus. *J Neurosci* **21**, 5740–5751 (2001).
26. Bassett, J. P., Tullman, M. L. & Taube, J. S. Lesions of the Tegmentomammillary Circuit in the Head Direction System Disrupt the Head Direction Signal in the Anterior Thalamus. *J. Neurosci.* **27**, 7564–7577 (2007).
27. Bassett, J. P., Wills, T. J. & Cacucci, F. Self-Organized Attractor Dynamics in the Developing Head Direction Circuit. *Current Biology* **28**, 609-615.e3 (2018).
28. Benhamou, S. On systems of reference involved in spatial memory. *Behavioural Processes* **40**, 149–163 (1997).
29. Benhamou, S. & Poucet, B. A comparative analysis of spatial memory processes. *Behavioural Processes* **35**, 113–126 (1996).
30. Benhamou, S. & Poucet, B. Landmark use by navigating rats (Rattus norvegicus) contrasting geometric and featural information. *Journal of Comparative Psychology* **112**, 317–322 (1998).
31. Benhamou, S., Sauvé, J.-P. & Bovet, P. Spatial memory in large scale movements: Efficiency and limitation of the egocentric coding process. *Journal of Theoretical Biology* **145**, 1–12 (1990).
32. Bennett, C. *et al.* Higher-Order Thalamic Circuits Channel Parallel Streams of Visual Information in Mice. *Neuron* **102**, 477-492.e5 (2019).
33. Bicanski, A. & Burgess, N. A neural-level model of spatial memory and imagery. *eLife* **7**, e33752 (2018).
34. Biegler, R. & Morris, R. G. M. Landmark stability is a prerequisite for spatial but not discrimination learning. *Nature* **361**, 631–633 (1993).
35. Biegler, R. & Morris, R. G. M. Landmark Stability: Studies Exploring Whether the Perceived Stability of the Environment Influences Spatial Representation. *Journal of Experimental Biology* **199**, 187–193 (1996).
36. Bjerknes, T. L., Langston, R. F., Kruge, I. U., Moser, E. I. & Moser, M.-B. Coherence among head direction cells before eye opening in rat pups. *Curr Biol* **25**, 103–108 (2015).
37. Blair, H. T., Cho, J. & Sharp, P. E. The Anterior Thalamic Head-Direction Signal Is Abolished by Bilateral But Not Unilateral Lesions of the Lateral Mammillary Nucleus. *J. Neurosci.* **19**, 6673–6683 (1999).
38. Boccara, C. N., Nardin, M., Stella, F., O'Neill, J. & Csicsvari, J. The entorhinal cognitive map is attracted to goals. *Science* **363**, 1443–1447 (2019).
39. Boccara, C. N. *et al.* Grid cells in pre- and parasubiculum. *Nat Neurosci* **13**, 987–994 (2010).
40. Bonnevie, T. *et al.* Grid cells require excitatory drive from the hippocampus. *Nat Neurosci* **16**, 309–317 (2013).
41. Bostock, E., Muller, R. U. & Kubie, J. L. Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing. *Hippocampus* **1**, 193–205 (1991).
42. Bourboulou, R. *et al.* Dynamic control of hippocampal spatial coding resolution by local visual cues. *eLife* **8**, e44487 (2019).
43. Brandon, M. P. *et al.* Reduction of Theta Rhythm Dissociates Grid Cell Spatial Periodicity from Directional Tuning. *Science* **332**, 595–599 (2011).
44. Breese, C., Hampson, R. & Deadwyler, S. Hippocampal place cells: stereotypy and plasticity. *J. Neurosci.* **9**, 1097–1111 (1989).
45. Brotons-Mas, J. R., Montejo, N., O'Mara, S. M. & Sanchez-Vives, M. V. Stability of subicular place fields across multiple light and dark transitions. *European Journal of Neuroscience* **32**, 648–658 (2010).
46. Brun, V. H. *et al.* Place Cells and Place Recognition Maintained by Direct Entorhinal-Hippocampal Circuitry. *Science* **296**, 2243–2246 (2002).
47. Brun, V. H. *et al.* Impaired Spatial Representation in CA1 after Lesion of Direct Input from Entorhinal Cortex. *Neuron* **57**, 290–302 (2008).
48. Brun, V. H. *et al.* Progressive increase in grid scale from dorsal to ventral medial entorhinal cortex. *Hippocampus* **18**, 1200–1212 (2008).
49. Burgess, N. Spatial memory: how egocentric and allocentric combine. *Trends in Cognitive Sciences* **10**, 551–557 (2006).
50. Burton, B. G., Hok, V., Save, E. & Poucet, B. Lesion of the ventral and intermediate hippocampus abolishes anticipatory activity in the medial prefrontal cortex of the rat. *Behavioural Brain Research* **199**, 222–234 (2009).
51. Burwell, R. & Witter, M. Basic anatomy of the parahippocampal region in monkeys and rats. in 34–59 (2002). doi:10.1093/acprof:oso/9780198509172.003.0003.
52. Bush, D., Barry, C., Manson, D. & Burgess, N. Using Grid Cells for Navigation. *Neuron* **87**, 507–520 (2015).
53. Butler, W. N., Hardcastle, K. & Giocomo, L. M. Remembered reward locations restructure entorhinal

spatial maps. *Science* **363**, 1447–1452 (2019).
54. Butler, W. N., Smith, K. S., van der Meer, M. A. A. & Taube, J. S. The Head-Direction Signal Plays a Functional Role as a Neural Compass during Navigation. *Curr Biol* **27**, 1259–1267 (2017).
55. Buzsáki, G. & Eidelberg, E. Direct afferent excitation and long-term potentiation of hippocampal interneurons. *J Neurophysiol* **48**, 597–607 (1982).
56. Byrne, P., Becker, S. & Burgess, N. Remembering the past and imagining the future: A neural model of spatial memory and imagery. *Psychological Review* **114**, 340–375 (2007).
57. Calton, J. L. *et al.* Hippocampal place cell instability after lesions of the head direction cell network. *J Neurosci* **23**, 9719–9731 (2003).
58. Carpenter, F., Manson, D., Jeffery, K., Burgess, N. & Barry, C. Grid Cells Form a Global Representation of Connected Environments. *Current Biology* **25**, 1176–1182 (2015).
59. Cenquizca, L. A. & Swanson, L. W. Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews* **56**, 1–26 (2007).
60. Chamizo, V. D., Manteiga, R. D., Rodrigo, T. & Mackintosh, N. J. Competition between landmarks in spatial learning: The role of proximity to the goal. *Behavioural Processes* **71**, 59–65 (2006).
61. Chen, G., Manson, D., Cacucci, F. & Wills, T. J. Absence of Visual Input Results in the Disruption of Grid Cell Firing in the Mouse. *Current Biology* **26**, 2335–2342 (2016).
62. Chen, L. L., Lin, L.-H. & Green, E. J. Head-direction cells in the rat posterior cortex. (1994).
63. Chen, L. L. & Nakamura, K. Head-centered representation and spatial memory in rat posterior parietal cortex. *Psychobiology* **26**, 119–127 (1998).
64. Cheng, H. Y., Overington, D. W. & Jeffery, K. J. A configural context signal simultaneously but separably drives positioning and orientation of hippocampal place fields. *Hippocampus* **34**, 73–87 (2024).
65. Cheng, K. A purely geometric module in the rat's spatial representation. *Cognition* **23**, 149–178 (1986).
66. Cho, J. & Sharp, P. E. Head direction, place, and movement correlates for cells in the rat retrosplenial cortex. *Behavioral Neuroscience* **115**, 3–25 (2001).
67. Chrastil, E. R., Tobyne, S. M., Nauer, R. K., Chang, A. E. & Stern, C. E. Converging meta-analytic and connectomic evidence for functional subregions within the human retrosplenial region. *Behavioral Neuroscience* **132**, 339–355 (2018).
68. Churchwell, J. C., Morris, A. M., Musso, N. D. & Kesner, R. P. Prefrontal and hippocampal contributions to encoding and retrieval of spatial memory. *Neurobiology of Learning and Memory* **93**, 415–421 (2010).
69. Ciocchi, S., Passecker, J., Malagon-Vina, H., Mikus, N. & Klausberger, T. Selective information routing by ventral hippocampal CA1 projection neurons. *Science* **348**, 560–563 (2015).
70. Clark, B. J., Hines, D. J., Hamilton, D. A. & Whishaw, I. Q. Movements of exploration intact in rats with hippocampal lesions. *Behavioural Brain Research* **163**, 91–99 (2005).
71. Clark, B. J., Simmons, C. M., Berkowitz, L. E. & Wilber, A. A. The retrosplenial-parietal network and reference frame coordination for spatial navigation. *Behavioral Neuroscience* **132**, 416–429 (2018).
72. Clark, B. J. & Taube, J. S. Vestibular and attractor network basis of the head direction cell signal in subcortical circuits. *Front. Neural Circuits* **6**, (2012).
73. Clark, B., Bassett, J., Wang, S. & Taube, J. Impaired head direction cell representation in the anterodorsal thalamus after lesions of the retrosplenial cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **30**, (2010).
74. Cohen, J. S. Exploration in the hippocampal-ablated albino rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **73**, 261–268 (1970).
75. Collett, T. S., Cartwright, B. A. & Smith, B. A. Landmark learning and visuo-spatial memories in gerbils. *J. Comp. Physiol.* **158**, 835–851 (1986).
76. Collett, T. S. & Graham, P. Animal Navigation: Path Integration, Visual Landmarks and Cognitive Maps. *Current Biology* **14**, R475–R477 (2004).
77. Cooper, B. G. & Mizumori, S. J. Y. Temporary Inactivation of the Retrosplenial Cortex Causes a Transient Reorganization of Spatial Coding in the Hippocampus. *J. Neurosci.* **21**, 3986–4001 (2001).
78. Coulter, M. E. *et al.* Closed-loop modulation of remote hippocampal representations with neurofeedback. Preprint at https://doi.org/10.1101/2024.05.08.593085 (2024).
79. Cowansage, K. K. *et al.* Direct Reactivation of a Coherent Neocortical Memory of Context. *Neuron* **84**, 432–441 (2014).
80. Cressant, A., Muller, R. & Poucet, B. Further study of the control of place cell firing by intra-apparatus objects. *Hippocampus* **9**, (1999).
81. Cressant, A., Muller, R. U. & Poucet, B. Failure of Centrally Placed Objects to Control the Firing Fields of Hippocampal Place Cells. *J. Neurosci.* **17**, 2531–2542 (1997).

82. Csicsvari, J., Hirase, H., Czurkó, A. & Buzsáki, G. Oscillatory coupling of hippocampal pyramidal cells and interneurons in the behaving Rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **19**, (1999).
83. Cullen, K. E. & Taube, J. S. Our sense of direction: progress, controversies and challenges. *Nat Neurosci* **20**, 1465–1473 (2017).
84. Czajkowski, R. *et al.* Superficially Projecting Principal Neurons in Layer V of Medial Entorhinal Cortex in the Rat Receive Excitatory Retrosplenial Input. *J. Neurosci.* **33**, 15779–15792 (2013).
85. Day, B. L. & Fitzpatrick, R. C. The vestibular system. *Curr Biol* **15**, R583-586 (2005).
86. De Bruin, J. P. C., Moita, M. P., De Brabander, H. M. & Joosten, R. N. J. M. A. Place and Response Learning of Rats in a Morris Water Maze: Differential Effects of Fimbria Fornix and Medial Prefrontal Cortex Lesions. *Neurobiology of Learning and Memory* **75**, 164–178 (2001).
87. De Lavilléon, G., Lacroix, M. M., Rondi-Reig, L. & Benchenane, K. Explicit memory creation during sleep demonstrates a causal role of place cells in navigation. *Nat Neurosci* **18**, 493–495 (2015).
88. Derdikman, D. *et al.* Fragmentation of grid cell maps in a multicompartment environment. *Nat Neurosci* **12**, 1325–1332 (2009).
89. Dhindsa, K. *et al.* Examining the role of the temporo-parietal network in memory, imagery, and viewpoint transformations. *Front. Hum. Neurosci.* **8**, (2014).
90. Diez-Chamizo, V., Sterio, D. & Mackintosh, N. J. Blocking and Overshadowing between Intra-Maze and Extra-Maze Cues: A Test of the Independence of Locale and Guidance Learning. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B* **37**, 235–253 (1985).
91. Drieu, C. & Zugaro, M. Hippocampal Sequences During Exploration: Mechanisms and Functions. *Front. Cell. Neurosci.* **13**, 232 (2019).
92. Dudchenko, P. A. & Taube, J. S. Correlation between head direction cell activity and spatial behavior on a radial arm maze. *Behavioral Neuroscience* **111**, 3–19 (1997).
93. Dudchenko, P. A. & Zinyuk, L. E. The formation of cognitive maps of adjacent environments: Evidence from the head direction cell system. *Behavioral Neuroscience* **119**, 1511–1523 (2005).
94. Dupret, D., O'Neill, J., Pleydell-Bouverie, B. & Csicsvari, J. The reorganization and reactivation of hippocampal maps predict spatial memory performance. *Nat Neurosci* **13**, 995–1002 (2010).
95. Duvelle, É. *et al.* Insensitivity of place cells to the value of spatial goals in a two-choice flexible navigation task. *J. Neurosci.* 1578–18 (2019) doi:10.1523/JNEUROSCI.1578-18.2018.
96. Duvelle, É. *et al.* Hippocampal place cells encode global location but not connectivity in a complex space. *Current Biology* **31**, 1221-1233.e9 (2021).
97. Eichenbaum, H., Kuperstein, M., Fagan, A. & Nagode. Cue-sampling and goal-approach correlates of hippocampal unit activity in rats performing an odor-discrimination task. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **7**, (1987).
98. Elduayen, C. & Save, E. The retrosplenial cortex is necessary for path integration in the dark. *Behavioural Brain Research* **272**, 303–307 (2014).
99. Epstein, R. A. Parahippocampal and retrosplenial contributions to human spatial navigation. *Trends Cogn Sci* **12**, 388–396 (2008).
100. Epstein, R. A. & Higgins, J. S. Differential Parahippocampal and Retrosplenial Involvement in Three Types of Visual Scene Recognition. *Cerebral Cortex* **17**, 1680–1693 (2007).
101. Epstein, R. A., Patai, E. Z., Julian, J. B. & Spiers, H. J. The cognitive map in humans: spatial navigation and beyond. *Nat Neurosci* **20**, 1504–1513 (2017).
102. Epstein, R. A. & Vass, L. K. Neural systems for landmark-based wayfinding in humans. *Phil. Trans. R. Soc. B* **369**, 20120533 (2014).
103. Erdem, U. & Hasselmo, M. A goal-directed spatial navigation model using forward planning based on grid cells. *The European journal of neuroscience* **35**, 916–31 (2012).
104. Etienne, A. S. Navigation of a Small Mammal by Dead Reckoning and Local Cues. *Curr Dir Psychol Sci* **1**, 48–52 (1992).
105. Etienne, A. S. & Jeffery, K. J. Path integration in mammals. *Hippocampus* **14**, 180–192 (2004).
106. Etienne, A. S., Maurer, R. & Séguinot, V. Path Integration in Mammals and its Interaction With Visual Landmarks. *Journal of Experimental Biology* **199**, 201–209 (1996).
107. Etienne, A. S., Teroni, E., Hurni, C. & Portenier, V. The effect of a single light cue on homing behaviour of the golden hamster. *Animal Behaviour* **39**, 17–41 (1990).
108. Fenton, A. A. *et al.* Unmasking the CA1 Ensemble Place Code by Exposures to Small and Large Environments: More Place Cells and Multiple, Irregularly Arranged, and Expanded Place Fields in the Larger Space. *J. Neurosci.* **28**, 11250–11262 (2008).

109. Fenton, A. A. *et al.* Attention-Like Modulation of Hippocampus Place Cell Discharge. *J Neurosci* **30**, 4613–4625 (2010).
110. Ferbinteanu, J., Shirvalkar, P. & Shapiro, M. L. Memory Modulates Journey-Dependent Coding in the Rat Hippocampus. *Journal of Neuroscience* **31**, 9135–9146 (2011).
111. Ferbinteanu, J. & Shapiro, M. L. Prospective and retrospective memory coding in the hippocampus. *Neuron* **40**, 1227–1239 (2003).
112. Fernández-Ruiz, A. *et al.* Long-duration hippocampal sharp wave ripples improve memory. *Science* **364**, 1082–1086 (2019).
113. Fischer, L. F., Soto-Albors, R. M., Buck, F. & Harnett, M. T. Representation of Visual Landmarks in Retrosplenial Cortex. (2020).
114. Fischer, L. F., Xu, L., Murray, K. T. & Harnett, M. T. Learning to use landmarks for navigation amplifies their representation in retrosplenial cortex. *bioRxiv* 2024.08.18.607457 (2024) doi:10.1101/2024.08.18.607457.
115. Foster, D. J. & Wilson, M. A. Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* **440**, 680–683 (2006).
116. Fox, S. E. & Ranck, J. B. Electrophysiological characteristics of hippocampal complex-spike cells and theta cells. *Exp Brain Res* **41**, 399–410 (1981).
117. Frank, L. M., Brown, E. N. & Wilson, M. Trajectory encoding in the hippocampus and entorhinal cortex. *Neuron* **27**, 169–178 (2000).
118. Frank, L. M., Brown, E. N. & Wilson, M. A. A Comparison of the Firing Properties of Putative Excitatory and Inhibitory Neurons From CA1 and the Entorhinal Cortex. *Journal of Neurophysiology* **86**, 2029–2040 (2001).
119. Fuhs, M. C., VanRhoads, S. R., Casale, A. E., McNaughton, B. & Touretzky, D. S. Influence of Path Integration Versus Environmental Orientation on Place Cell Remapping Between Visually Identical Environments. *Journal of Neurophysiology* **94**, 2603–2616 (2005).
120. Fyhn, M., Hafting, T., Treves, A., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Hippocampal remapping and grid realignment in entorhinal cortex. *Nature* **446**, 190–194 (2007).
121. Fyhn, M., Molden, S., Witter, M. P., Moser, E. I. & Moser, M.-B. Spatial Representation in the Entorhinal Cortex. *Science* **305**, 1258–1264 (2004).
122. Gallistel, C. R. *The Organization of Learning*. (MIT Press, Cambridge, Mass., 1990).
123. Geva-Sagiv, M., Las, L., Yovel, Y. & Ulanovsky, N. Spatial cognition in bats and rats: from sensory acquisition to multiscale maps and navigation. *Nat Rev Neurosci* **16**, 94–108 (2015).
124. Gibson, B., Butler, W. & Taube, J. The head-direction signal is critical for navigation requiring a cognitive map but not for learning a spatial habit. *Current biology : CB* **23**, (2013).
125. Gibson, B. M. & Shettleworth, S. J. Competition among spatial cues in a naturalistic food-carrying task. *Learning & Behavior* **31**, 143–159 (2003).
126. Gil, M. *et al.* Impaired path integration in mice with disrupted grid cell firing. *Nat Neurosci* **21**, 81–91 (2018).
127. Ginosar, G., Burak, Y., Sompolinsky, H. & Ulanovsky, N. Locally ordered representation of 3D space in the entorhinal cortex. *Nature* **596**, (2021).
128. Giocomo *et al.* Topography of head direction cells in medial entorhinal cortex. *Current biology : CB* **24**, (2014).
129. Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S. I., Buzsáki, G. & Zugaro, M. B. Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat Neurosci* **12**, 1222–1223 (2009).
130. Girardeau, G. & Zugaro, M. Hippocampal ripples and memory consolidation. *Current Opinion in Neurobiology* **21**, 452–459 (2011).
131. Golob, E. J. & Taube, J. S. Head Direction Cells in Rats with Hippocampal or Overlying Neocortical Lesions: Evidence for Impaired Angular Path Integration. *J. Neurosci.* **19**, 7198–7211 (1999).
132. Goodridge, J. P. & Taube, J. S. Interaction between the postsubiculum and anterior thalamus in the generation of head direction cell activity. *J Neurosci* **17**, 9315–9330 (1997).
133. Goodridge, J. P., Dudchenko, P. A., Worboys, K. A., Golob, E. J. & Taube, J. S. Cue control and head direction cells. *Behavioral Neuroscience* **112**, 749–761 (1998).
134. Gothard, K., Skaggs, W. & McNaughton, B. Dynamics of mismatch correction in the hippocampal ensemble code for space: interaction between path integration and environmental cues. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **16**, (1996).
135. Greene, C. M. & Cook, R. G. Landmark geometry and identity controls spatial navigation in rats. *Animal Learning & Behavior* **25**, 312–323 (1997).
136. Grieves, R. M., Duvelle, É., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex. *Journal of Neurophysiology* **118**, 2378–2388 (2017).

137. Grieves, R. M. *et al.* Irregular distribution of grid cell firing fields in rats exploring a 3D volumetric space. *Nat Neurosci* **24**, 1567–1573 (2021).
138. Grieves, R. M., Jenkins, B. W., Harland, B. C., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Place field repetition and spatial learning in a multicompartment environment. *Hippocampus* **26**, 118–134 (2016).
139. Grieves, R. M., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Place cells on a maze encode routes rather than destinations. *Elife* **5**, e15986 (2016).
140. Hafting, T., Fyhn, M., Molden, S., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature* **436**, 801–806 (2005).
141. Hales, J. B. *et al.* Medial Entorhinal Cortex Lesions Only Partially Disrupt Hippocampal Place Cells and Hippocampus-Dependent Place Memory. *Cell Reports* **9**, 893–901 (2014).
142. Hampson, R. E., Byrd, D. R., Konstantopoulos, J. K., Bunn, T. & Deadwyler, S. A. Hippocampal place fields: Relationship between degree of field overlap and cross-correlations within ensembles of hippocampal neurons. *Hippocampus* **6**, 281–293 (1996).
143. Hardcastle, K., Ganguli, S. & Giocomo, L. M. Environmental Boundaries as an Error Correction Mechanism for Grid Cells. *Neuron* **86**, 827–839 (2015).
144. Hargreaves, E. L., Rao, G., Lee, I. & Knierim, J. J. Major Dissociation Between Medial and Lateral Entorhinal Input to Dorsal Hippocampus. *Science* **308**, 1792–1794 (2005).
145. Harker, K. T. & Whishaw, I. Q. A reaffirmation of the retrosplenial contribution to rodent navigation: reviewing the influences of lesion, strain, and task. *Neurosci Biobehav Rev* **28**, 485–496 (2004).
146. Harland, B. *et al.* Lesions of the Head Direction Cell System Increase Hippocampal Place Field Repetition. *Current Biology* **27**, 2706-2712.e2 (2017).
147. Hartley, T., Burgess, N., Lever, C., Cacucci, F. & O'Keefe, J. Modeling place fields in terms of the cortical inputs to the hippocampus. *Hippocampus* **10**, 369–379 (2000).
148. Hayashi, Y., Sawa, A. & Hikida, T. Impaired hippocampal activity at the goal zone on the place preference task in a DISC1 mouse model. *Neuroscience Research* **106**, 70–73 (2016).
149. Hébert, M., Bulla, J., Vivien, D. & Agin, V. Are Distal and Proximal Visual Cues Equally Important during Spatial Learning in Mice? A Pilot Study of Overshadowing in the Spatial Domain. *Front. Behav. Neurosci.* **11**, 109 (2017).
150. Henriksen, E. J. *et al.* Spatial representation along the proximodistal axis of CA1. *Neuron* **68**, 127–137 (2010).
151. Hindley, E. L., Nelson, A. J. D., Aggleton, J. P. & Vann, S. D. Dysgranular retrosplenial cortex lesions in rats disrupt cross-modal object recognition. *Learn Mem* **21**, 171–179 (2014).
152. Hok, V., Save, E., Lenck-Santini, P. P. & Poucet, B. Coding for spatial goals in the prelimbic/infralimbic area of the rat frontal cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **102**, 4602–4607 (2005).
153. Hok, V., Chah, E., Save, E. & Poucet, B. Prefrontal Cortex Focally Modulates Hippocampal Place Cell Firing Patterns. *J. Neurosci.* **33**, 3443–3451 (2013).
154. Hok, V. *et al.* Goal-Related Activity in Hippocampal Place Cells. *J. Neurosci.* **27**, 472–482 (2007).
155. Hollup, S. A., Kjelstrup, K. G., Hoff, J., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Impaired Recognition of the Goal Location during Spatial Navigation in Rats with Hippocampal Lesions. *J. Neurosci.* **21**, 4505–4513 (2001).
156. Hollup, S. A., Molden, S., Donnett, J. G., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Accumulation of Hippocampal Place Fields at the Goal Location in an Annular Watermaze Task. *J. Neurosci.* **21**, 1635–1644 (2001).
157. Hoover, W. B. & Vertes, R. P. Collateral projections from nucleus reuniens of thalamus to hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat: a single and double retrograde fluorescent labeling study. *Brain Struct Funct* **217**, 191–209 (2012).
158. Iaria, G., Chen, J., Guariglia, C., Ptito, A. & Petrides, M. Retrosplenial and hippocampal brain regions in human navigation: complementary functional contributions to the formation and use of cognitive maps. *The European journal of neuroscience* **25**, (2007).
159. Ito, H. T., Zhang, S.-J., Witter, M. P., Moser, E. I. & Moser, M.-B. A prefrontal–thalamo–hippocampal circuit for goal-directed spatial navigation. *Nature* **522**, 50–55 (2015).
160. Jacob, P.-Y., Capitano, F., Poucet, B., Save, E. & Sargolini, F. Path integration maintains spatial periodicity of grid cell firing in a 1D circular track. *Nat Commun* **10**, 840 (2019).
161. Jacob, P.-Y. *et al.* An independent, landmark-dominated head-direction signal in dysgranular retrosplenial cortex. *Nat Neurosci* **20**, 173–175 (2017).
162. Jacob, P.-Y., Van Cauter, T., Poucet, B., Sargolini, F. & Save, E. Medial entorhinal cortex lesions induce degradation of CA1 place cell firing stability when self-motion information is used. *Brain and Neuroscience Advances* **4**, 239821282095300 (2020).
163. Jadhav, S. P., Kemere, C., German, P. W. & Frank, L. M. Awake hippocampal sharp-wave ripples support

spatial memory. *Science* **336**, 1454–1458 (2012).
164. Jankowski, M. M. *et al.* Nucleus reuniens of the thalamus contains head direction cells. *eLife* **3**, e03075 (2014).
165. Jeantet, Y. & Cho, Y. H. Evolution of hippocampal spatial representation over time in mice. *Neurobiology of Learning and Memory* **98**, 354–360 (2012).
166. Jeffery, K. J. & O'Keefe, J. M. Learned interaction of visual and idiothetic cues in the control of place field orientation. *Experimental Brain Research* **127**, 151–161 (1999).
167. Jeffery, K. J. Place Cells, Grid Cells, Attractors, and Remapping. *Neural Plasticity* **2011**, 1–11 (2011).
168. Jensen, O. & Lisman, J. E. Position Reconstruction From an Ensemble of Hippocampal Place Cells: Contribution of Theta Phase Coding. *Journal of Neurophysiology* **83**, 2602–2609 (2000).
169. Ji, D. & Wilson, M. A. Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* **10**, 100–107 (2007).
170. Johnson, A. & Redish, A. D. Neural Ensembles in CA3 Transiently Encode Paths Forward of the Animal at a Decision Point. *J. Neurosci.* **27**, 12176–12189 (2007).
171. Jones, B. F., Groenewegen, H. J. & Witter, M. P. Intrinsic connections of the cingulate cortex in the rat suggest the existence of multiple functionally segregated networks. *Neuroscience* **133**, 193–207 (2005).
172. Jones, B. F. & Witter, M. P. Cingulate cortex projections to the parahippocampal region and hippocampal formation in the rat. *Hippocampus* **17**, 957–976 (2007).
173. Julian, J. B., Keinath, A. T., Muzzio, I. A. & Epstein, R. A. Place recognition and heading retrieval are mediated by dissociable cognitive systems in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **112**, 6503–6508 (2015).
174. Jung, M. W. & McNaughton, B. L. Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer. *Hippocampus* **3**, 165–182 (1993).
175. Jung, M., Wiener, S. & McNaughton, B. Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *J. Neurosci.* **14**, 7347–7356 (1994).
176. Kamishina, H. *et al.* Cortical connections of the rat lateral posterior thalamic nucleus. *Brain Research* **1264**, 39–56 (2009).
177. Kanter, B. R. *et al.* A Novel Mechanism for the Grid-to-Place Cell Transformation Revealed by Transgenic Depolarization of Medial Entorhinal Cortex Layer II. *Neuron* **93**, 1480-1492.e6 (2017).
178. Kay, K. *et al.* Constant Sub-second Cycling between Representations of Possible Futures in the Hippocampus. *Cell* **180**, 552-567.e25 (2020).
179. Keene, C. & Bucci, D. Neurotoxic lesions of retrosplenial cortex disrupt signaled and unsignaled contextual fear conditioning. *Behavioral neuroscience* **122**, (2008).
180. Keinath, A. T., Julian, J. B., Epstein, R. A. & Muzzio, I. A. Environmental Geometry Aligns the Hippocampal Map during Spatial Reorientation. *Current Biology* **27**, 309–317 (2017).
181. Kentros, C. G., Agnihotri, N. T., Streater, S., Hawkins, R. D. & Kandel, E. R. Increased Attention to Spatial Context Increases Both Place Field Stability and Spatial Memory. *Neuron* **42**, 283–295 (2004).
182. Keshavarzi, S. *et al.* The retrosplenial cortex combines internal and external cues to encode head velocity during navigation. Preprint at https://doi.org/10.1101/2021.01.22.427789 (2021).
183. Kim, M. & Maguire, E. A. Hippocampus, Retrosplenial and Parahippocampal Cortices Encode Multicompartment 3D Space in a Hierarchical Manner. *Cerebral Cortex* **28**, 1898–1909 (2018).
184. Kinnavane, L., Vann, S. D., Nelson, A. J. D., O'Mara, S. M. & Aggleton, J. P. Collateral Projections Innervate the Mammillary Bodies and Retrosplenial Cortex: A New Category of Hippocampal Cells. *eNeuro* **5**, ENEURO.0383-17.2018 (2018).
185. Kjelstrup, K. B. *et al.* Finite Scale of Spatial Representation in the Hippocampus. *Science* **321**, 140–143 (2008).
186. Knierim, J. J., Kudrimoti, H. & McNaughton, B. Interactions between idiothetic cues and external landmarks in the control of place cells and head direction cells. *Journal of neurophysiology* **80**, (1998).
187. Knierim, J., Kudrimoti, H. & McNaughton, B. Place cells, head direction cells, and the learning of landmark stability. *J. Neurosci.* **15**, 1648–1659 (1995).
188. Knight, R., Hayman, R., Lin Ginzberg, L. & Jeffery, K. Geometric Cues Influence Head Direction Cells Only Weakly in Nondisoriented Rats. *J. Neurosci.* **31**, 15681–15692 (2011).
189. Knight, R. *et al.* Weighted cue integration in the rodent head direction system. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **369**, 20120512 (2014).
190. Kobayashi, T., Tran, A. H., Nishijo, H., Ono, T. & Matsumoto, G. Contribution of hippocampal place cell activity to learning and formation of goal-directed navigation in rats. *Neuroscience* **117**, 1025–1035 (2003).
191. Kobayashi, Y. & Amaral, D. G. Macaque monkey retrosplenial cortex: II. Cortical afferents. *J of Comparative Neurology* **466**, 48–79 (2003).

192. Koenig, J., Linder, A. N., Leutgeb, J. K. & Leutgeb, S. The Spatial Periodicity of Grid Cells Is Not Sustained During Reduced Theta Oscillations. *Science* **332**, 592–595 (2011).
193. Kononenko, N. L. & Witter, M. P. Presubiculum layer III conveys retrosplenial input to the medial entorhinal cortex. *Hippocampus* **22**, 881–895 (2012).
194. Kornblith, S., Cheng, X., Ohayon, S. & Tsao, D. Y. A Network for Scene Processing in the Macaque Temporal Lobe. *Neuron* **79**, 766–781 (2013).
195. Kornienko, O., Latuske, P., Bassler, M., Kohler, L. & Allen, K. Non-rhythmic head-direction cells in the parahippocampal region are not constrained by attractor network dynamics. *eLife* **7**, e35949 (2018).
196. Kropff, E., Carmichael, J. E., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Speed cells in the medial entorhinal cortex. *Nature* **523**, 419–424 (2015).
197. Krupic, J., Bauza, M., Burton, S., Lever, C. & O'Keefe, J. How environment geometry affects grid cell symmetry and what we can learn from it. *Phil. Trans. R. Soc. B* **369**, 20130188 (2014).
198. Krupic, J., Bauza, M., Burton, S., Barry, C. & O'Keefe, J. Grid cell symmetry is shaped by environmental geometry. *Nature* **518**, 232–235 (2015).
199. Krupic, J., Bauza, M., Burton, S. & O'Keefe, J. Local transformations of the hippocampal cognitive map. *Science* **359**, 1143–1146 (2018).
200. Kubie, J. L. & Fenton, A. A. Linear Look-Ahead in Conjunctive Cells: An Entorhinal Mechanism for Vector-Based Navigation. *Front. Neural Circuits* **6**, (2012).
201. LaChance, P. A., Graham, J., Shapiro, B. L., Morris, A. J. & Taube, J. S. Landmark-modulated directional coding in postrhinal cortex. *Sci. Adv.* **8**, eabg8404 (2022).
202. Lande, A. S., Garvert, A. C., Ebbesen, N. C., Jordbræk, S. V. & Vervaeke, K. Representations of tactile object location in the retrosplenial cortex. *Current Biology* **33**, 4599-4610.e7 (2023).
203. Langston, R. F. *et al.* Development of the spatial representation system in the rat. *Science* **328**, 1576–1580 (2010).
204. Latuske, P., Kornienko, O., Kohler, L. & Allen, K. Hippocampal Remapping and Its Entorhinal Origin. *Front. Behav. Neurosci.* **11**, 253 (2018).
205. Lavenex, P. Influence of local environmental olfactory cues on place learning in rats. *Physiology & Behavior* **58**, 1059–1066 (1995).
206. Lavenex, P. & Schenk, F. Olfactory traces and spatial learning in rats. *Animal Behaviour* **56**, 1129–1136 (1998).
207. Lee, I., Griffin, A., Zilli, E. & Eichenbaum, H. Gradual translocation of spatial correlates of neuronal firing in the hippocampus toward prospective reward locations. *Neuron* **51**, (2006).
208. Lei, X., Mou, W. & Zhang, L. Developing global spatial representations through across-boundary navigation. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition* **46**, 1–23 (2020).
209. Lenck-Santini, P.-P., Rivard, B., Muller, R. U. & Poucet, B. Study of CA1 place cell activity and exploratory behavior following spatial and nonspatial changes in the environment. *Hippocampus* **15**, 356–369 (2005).
210. Leutgeb, S., Ragozzino, K. E. & Mizumori, S. J. Convergence of head direction and place information in the CA1 region of hippocampus. *Neuroscience* **100**, 11–19 (2000).
211. Lever, C., Jeewajee, A. & Burgess, N. Boundary vector cells in the subiculum of the hippocampal formation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **29**, (2009).
212. Lipton, P. A., White, J. A. & Eichenbaum, H. Disambiguation of Overlapping Experiences by Neurons in the Medial Entorhinal Cortex. *J. Neurosci.* **27**, 5787–5795 (2007).
213. Lisman, J. & Grace, A. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* **46**, (2005).
214. Liu, X. *et al.* Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* **484**, 381–385 (2012).
215. Lomi, E. *et al.* Evidence for two distinct thalamocortical circuits in retrosplenial cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* **185**, 107525 (2021).
216. Long, X. & Zhang, S.-J. A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation. *Cell Research* **31**, (2021).
217. Louie, K. & Wilson, M. Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron* **29**, (2001).
218. Lozano, Y. R. *et al.* Retrosplenial and postsubicular head direction cells compared during visual landmark discrimination. *Brain and Neuroscience Advances* **1**, 239821281772185 (2017).
219. Lu, L. *et al.* Impaired hippocampal rate coding after lesions of the lateral entorhinal cortex. *Nat Neurosci* **16**, 1085–1093 (2013).
220. Maaswinkel, H. & Whishaw, I. Q. Homing with locale, taxon, and dead reckoning strategies by foraging

rats: sensory hierarchy in spatial navigation. *Behavioural Brain Research* **99**, 143–152 (1999).
221. Maguire, E. A. Eleanor A. Maguire. *Current Biology* **22**, R1025–R1027 (2012).
222. Mankin, E. A., Diehl, G. W., Sparks, F. T., Leutgeb, S. & Leutgeb, J. K. Hippocampal CA2 Activity Patterns Change over Time to a Larger Extent than between Spatial Contexts. *Neuron* **85**, 190–201 (2015).
223. Mankin, E. A. *et al.* Neuronal code for extended time in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 19462–19467 (2012).
224. Mao, D., Kandler, S., McNaughton, B. L. & Bonin, V. Sparse orthogonal population representation of spatial context in the retrosplenial cortex. *Nat Commun* **8**, 243 (2017).
225. Mao, D., Molina, L. A., Bonin, V. & McNaughton, B. L. Vision and Locomotion Combine to Drive Path Integration Sequences in Mouse Retrosplenial Cortex. *Current Biology* **30**, 1680-1688.e4 (2020).
226. Mao, D. *et al.* Hippocampus-dependent emergence of spatial sequence coding in retrosplenial cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115**, 8015–8018 (2018).
227. Marchette, S. A., Vass, L. K., Ryan, J. & Epstein, R. A. Anchoring the neural compass: coding of local spatial reference frames in human medial parietal lobe. *Nat Neurosci* **17**, 1598–1606 (2014).
228. Margules, J. & Gallistel, C. R. Heading in the rat: Determination by environmental shape. *Animal Learning & Behavior* **16**, 404–410 (1988).
229. Markus, E. J. *et al.* Interactions between location and task affect the spatial and directional firing of hippocampal neurons. *J. Neurosci.* **15**, 7079–7094 (1995).
230. Marozzi, E., Ginzberg, L. L., Alenda, A. & Jeffery, K. J. Purely Translational Realignment in Grid Cell Firing Patterns Following Nonmetric Context Change. *Cereb. Cortex* **25**, 4619–4627 (2015).
231. Marozzi, E. & Jeffery, K. J. Place, space and memory cells. *Current Biology* **22**, R939–R942 (2012).
232. Mathiasen, M. L., Dillingham, C. M., Kinnavane, L., Powell, A. L. & Aggleton, J. P. Asymmetric cross-hemispheric connections link the rat anterior thalamic nuclei with the cortex and hippocampal formation. *Neuroscience* **349**, 128–143 (2017).
233. McGregor, A., Hayward, A. J., Pearce, J. M. & Good, M. A. Hippocampal Lesions Disrupt Navigation Based on the Shape of the Environment. *Behavioral Neuroscience* **118**, 1011–1021 (2004).
234. McNAUGHTON, B. L. *et al.* Deciphering The Hippocampal Polyglot: the Hippocampus as a Path Integration System. *Journal of Experimental Biology* **199**, 173–185 (1996).
235. McNaughton, B. L., Barnes, C. A., Meltzer, J. & Sutherland, R. J. Hippocampal granule cells are necessary for normal spatial learning but not for spatially-selective pyramidal cell discharge. *Exp Brain Res* **76**, 485–496 (1989).
236. McNaughton, B., Barnes, C. & O'Keefe, J. The contributions of position, direction, and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely-moving rats. *Experimental brain research* **52**, (1983).
237. McNaughton, B. L., Battaglia, F. P., Jensen, O., Moser, E. I. & Moser, M.-B. Path integration and the neural basis of the 'cognitive map'. *Nat Rev Neurosci* **7**, 663–678 (2006).
238. McNaughton, L., Chen, L. L. & Markus, J. "DeadReckoning,"kmdmark Learning, and the Sense of Direction: A Neurophysiological and Computational Hypothesis. (1991).
239. Miao, C. *et al.* Hippocampal Remapping after Partial Inactivation of the Medial Entorhinal Cortex. *Neuron* **88**, 590–603 (2015).
240. Milczarek, M. M., Vann, S. D. & Sengpiel, F. Spatial Memory Engram in the Mouse Retrosplenial Cortex. *Current Biology* **28**, 1975-1980.e6 (2018).
241. Miller, A. M. P., Serrichio, A. C. & Smith, D. M. Dual-Factor Representation of the Environmental Context in the Retrosplenial Cortex. *Cerebral Cortex* **31**, 2720–2728 (2021).
242. Miller, A. M. P., Mau, W. & Smith, D. M. Retrosplenial Cortical Representations of Space and Future Goal Locations Develop with Learning. *Current Biology* **29**, 2083-2090.e4 (2019).
243. Miller, A., Vedder, L., Law, L. & Smith, D. Cues, context, and long-term memory: the role of the retrosplenial cortex in spatial cognition. *Frontiers in human neuroscience* **8**, (2014).
244. Miller, V. M. & Best, P. J. Spatial correlates of hippocampal unit activity are altered by lesions of the fornix and entorhinal cortex. *Brain Research* **194**, 311–323 (1980).
245. Mitchell, A. S., Czajkowski, R., Zhang, N., Jeffery, K. & Nelson, A. J. D. Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain and Neuroscience Advances* **2**, 239821281875709 (2018).
246. Mittelstaedt, M.-L. & Mittelstaedt, H. Homing by path integration in a mammal. *Naturwissenschaften* **67**, 566–567 (1980).
247. Miyashita, T. & Rockland, K. S. GABAergic projections from the hippocampus to the retrosplenial cortex in the rat. *Eur J of Neuroscience* **26**, 1193–1204 (2007).
248. Mizumori, S. J. & Williams, J. D. Directionally selective mnemonic properties of neurons in the lateral dorsal nucleus of the thalamus of rats. *J Neurosci* **13**, 4015–4028 (1993).

249. Mizumori, S. J. Y., Ragozzino, K. E. & Cooper, B. G. Location and head direction representation in the dorsal striatum of rats. *Psychobiology* **28**, 441–462 (2000).
250. Moita, M. A. P., Rosis, S., Zhou, Y., LeDoux, J. E. & Blair, H. T. Putting fear in its place: remapping of hippocampal place cells during fear conditioning. *J Neurosci* **24**, 7015–7023 (2004).
251. Morris, R. G. M., Garrud, P., Rawlins, J. N. P. & O'Keefe, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* **297**, 681–683 (1982).
252. Morris, R. G. M. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation* **12**, 239–260 (1981).
253. Moser, E. I., Moser, M.-B. & McNaughton, B. L. Spatial representation in the hippocampal formation: a history. *Nat Neurosci* **20**, 1448–1464 (2017).
254. Muenzinger, K. Vicarious Trial and Error at a Point of Choice: I. A General Survey of its Relation to Learning Efficiency. *The Pedagogical Seminary and Journal of Genetic Psychology* **53**, 75–86 (1938).
255. Muir, G. & Taube, J. Head direction cell activity and behavior in a navigation task requiring a cognitive mapping strategy. *Behavioural brain research* **153**, (2004).
256. Muir, J. *et al.* Disruption of the head direction cell signal after occlusion of the semicircular canals in the freely moving chinchilla. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **29**, (2009).
257. Muller, R., Bostock, E., Taube, J. & Kubie, J. On the directional firing properties of hippocampal place cells. *J. Neurosci.* **14**, 7235–7251 (1994).
258. Muller, R. & Kubie, J. The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J. Neurosci.* **7**, 1951–1968 (1987).
259. Muller, R., Kubie, J. & Ranck, J. Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. *J. Neurosci.* **7**, 1935–1950 (1987).
260. Muller, R., Taube, J. & Kubie, J. On the directional firing properties of hippocampal place cells. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **14**, (1994).
261. Murakami, T., Yoshida, T., Matsui, T. & Ohki, K. Wide-field Ca2+ imaging reveals visually evoked activity in the retrosplenial area. *Front. Mol. Neurosci.* **08**, (2015).
262. Muzzio, I. A. *et al.* Attention Enhances the Retrieval and Stability of Visuospatial and Olfactory Representations in the Dorsal Hippocampus. *PLoS Biol* **7**, e1000140 (2009).
263. Naber, P. A., Lopes Da Silva, F. H. & Witter, M. P. Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus* **11**, 99–104 (2001).
264. Nelson, A. J. D., Kinnavane, L., Amin, E., O'Mara, S. M. & Aggleton, J. P. Deconstructing the Direct Reciprocal Hippocampal-Anterior Thalamic Pathways for Spatial Learning. *J Neurosci* **40**, 6978–6990 (2020).
265. Neunuebel, J. P., Yoganarasimha, D., Rao, G. & Knierim, J. J. Conflicts between Local and Global Spatial Frameworks Dissociate Neural Representations of the Lateral and Medial Entorhinal Cortex. *J. Neurosci.* **33**, 9246–9258 (2013).
266. Nitz, D. A. Path shape impacts the extent of CA1 pattern recurrence both within and across environments. *Journal of Neurophysiology* **105**, 1815–1824 (2011).
267. Nyberg, N., Duvelle, É., Barry, C. & Spiers, H. J. Spatial goal coding in the hippocampal formation. *Neuron* **110**, 394–422 (2022).
268. O'Keefe, J. & Conway, D. H. Hippocampal place units in the freely moving rat: Why they fire where they fire. *Exp Brain Res* **31**, (1978).
269. O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research* **34**, 171–175 (1971).
270. O'Keefe, J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Experimental Neurology* **51**, 78–109 (1976).
271. O'Keefe, J. & Burgess, N. Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons. *Nature* **381**, 425–428 (1996).
272. O'Keefe, J. & Nadel, L. *The Hippocampus as a Cognitive Map*. (Clarendon Press, Oxford, 1978).
273. O'Keefe, J., Nadel, L., Keightley, S. & Kill, D. Fornix lesions selectively abolish place learning in the rat. *Experimental Neurology* **48**, 152–166 (1975).
274. O'Keefe, J. & Recce, M. L. Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus* **3**, 317–330 (1993).
275. O'Mara, S. M. & Aggleton, J. P. Space and Memory (Far) Beyond the Hippocampus: Many Subcortical Structures Also Support Cognitive Mapping and Mnemonic Processing. *Front Neural Circuits* **13**, 52 (2019).
276. O'Neill, J., Boccara, C. N., Stella, F., Schoenenberger, P. & Csicsvari, J. Superficial layers of the medial

entorhinal cortex replay independently of the hippocampus. *Science* **355**, 184–188 (2017).
277. O'Steen, W. K., Spencer, R. L., Bare, D. J. & McEwen, B. S. Analysis of severe photoreceptor loss and Morris water-maze performance in aged rats. *Behavioural Brain Research* **68**, 151–158 (1995).
278. O'keefe, J. & Conway, D. H. On the trail of the hippocampal engram. *Psychobiology* **8**, 229–238 (1980).
279. Ólafsdóttir, H. F., Bush, D. & Barry, C. The Role of Hippocampal Replay in Memory and Planning. *Curr Biol* **28**, R37–R50 (2018).
280. Olsen, G. M., Ohara, S., Iijima, T. & Witter, M. P. Parahippocampal and retrosplenial connections of rat posterior parietal cortex. *Hippocampus* **27**, 335–358 (2017).
281. Olson, J. M., Tongprasearth, K. & Nitz, D. A. Subiculum neurons map the current axis of travel. *Nat Neurosci* **20**, 170–172 (2017).
282. Opalka, A. N. & Wang, D. V. Hippocampal efferents to retrosplenial cortex and lateral septum are required for memory acquisition. *Learn Mem* **27**, 310–318 (2020).
283. Packard, M. G. & McGaugh, J. L. Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: Further evidence for multiple memory systems. *Behavioral Neuroscience* **106**, 439–446 (1992).
284. Packer, A. M., Russell, L. E., Dalgleish, H. W. P. & Häusser, M. Simultaneous all-optical manipulation and recording of neural circuit activity with cellular resolution in vivo. *Nat Methods* **12**, 140–146 (2015).
285. Page, H. J. I. & Jeffery, K. J. Landmark-Based Updating of the Head Direction System by Retrosplenial Cortex: A Computational Model. *Front. Cell. Neurosci.* **12**, 191 (2018).
286. Papale, A. E., Zielinski, M. C., Frank, L. M., Jadhav, S. P. & Redish, A. D. Interplay between Hippocampal Sharp-Wave-Ripple Events and Vicarious Trial and Error Behaviors in Decision Making. *Neuron* **92**, 975–982 (2016).
287. Park, E., Dvorak, D. & Fenton, A. A. Ensemble Place Codes in Hippocampus: CA1, CA3, and Dentate Gyrus Place Cells Have Multiple Place Fields in Large Environments. *PLoS ONE* **6**, (2011).
288. Park, S. & Chun, M. M. Different roles of the parahippocampal place area (PPA) and retrosplenial cortex (RSC) in panoramic scene perception. *Neuroimage* **47**, 1747–1756 (2009).
289. Parron, C., Poucet, B. & Save, E. Entorhinal cortex lesions impair the use of distal but not proximal landmarks during place navigation in the rat. *Behavioural Brain Research* **154**, 345–352 (2004).
290. Pastalkova, E., Itskov, V., Amarasingham, A. & Buzsáki, G. Internally Generated Cell Assembly Sequences in the Rat Hippocampus. *Science* **321**, 1322–1327 (2008).
291. Paxinos, G. & Watson, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. (Academic Press, 2007).
292. Paz-Villagrán, V., Save, E. & Poucet, B. Independent coding of connected environments by place cells. *Eur J of Neuroscience* **20**, 1379–1390 (2004).
293. Paz-Villagrán, V., Save, E. & Poucet, B. Spatial discrimination of visually similar environments by hippocampal place cells in the presence of remote recalibrating landmarks. *Eur J of Neuroscience* **23**, 187–195 (2006).
294. Peer, M., Ron, Y., Monsa, R. & Arzy, S. Processing of different spatial scales in the human brain. *eLife* **8**, e47492 (2019).
295. Pérez-Escobar, J. A., Kornienko, O., Latuske, P., Kohler, L. & Allen, K. Visual landmarks sharpen grid cell metric and confer context specificity to neurons of the medial entorhinal cortex. *eLife* **5**, e16937 (2016).
296. Pfeiffer, B. E. & Foster, D. J. Hippocampal place-cell sequences depict future paths to remembered goals. *Nature* **497**, 74–79 (2013).
297. Plitt, M. H. & Giocomo, L. M. Spatial memory: Place cell activity is causally related to behavior. *Current Biology* **31**, R335–R337 (2021).
298. Poitreau, J. *et al.* Navigation using global or local reference frames in rats with medial and lateral entorhinal cortex lesions. *Behavioural Brain Research* **413**, 113448 (2021).
299. Pothuizen, H. H. J., Aggleton, J. P. & Vann, S. D. Do rats with retrosplenial cortex lesions lack direction? *European Journal of Neuroscience* **28**, 2486–2498 (2008).
300. Pothuizen, H. H. J., Davies, M., Aggleton, J. P. & Vann, S. D. Effects of selective granular retrosplenial cortex lesions on spatial working memory in rats. *Behavioural Brain Research* **208**, 566–575 (2010).
301. Pothuizen, H. H. J., Davies, M., Albasser, M. M., Aggleton, J. P. & Vann, S. D. Granular and dysgranular retrosplenial cortices provide qualitatively different contributions to spatial working memory: evidence from immediate-early gene imaging in rats. *Eur J of Neuroscience* **30**, 877–888 (2009).
302. Poucet, B. & Hok, V. Remembering goal locations. *Current Opinion in Behavioral Sciences* **17**, 51–56 (2017).
303. Poucet, B. *et al.* Spatial navigation and hippocampal place cell firing: the problem of goal encoding. *Reviews in the neurosciences* **15**, (2004).

304. Poucet, B. & Herrmann, T. Exploratory patterns of rats on a complex maze provide evidence for topological coding. *Behavioural Processes* **53**, 155–162 (2001).
305. Poucet, B. Spatial cognitive maps in animals: New hypotheses on their structure and neural mechanisms. *Psychological Review* **100**, 163–182 (1993).
306. Poucet, B., Save, E. & Lenck-Santini, P.-P. Sensory and Memory Properties of Hippocampal Place Cells. *Reviews in the Neurosciences* **11**, (2000).
307. Poucet, B., Thinus-Blanc, C. & Muller, R. Place cells in the ventral hippocampus of rats. *Neuroreport* **5**, 2045–8 (1994).
308. Poulter, S., Lee, S. A., Dachtler, J., Wills, T. J. & Lever, C. Vector trace cells in the subiculum of the hippocampal formation. *Nat Neurosci* **24**, 266–275 (2021).
309. Powell, A. *et al.* Stable Encoding of Visual Cues in the Mouse Retrosplenial Cortex. *Cerebral Cortex* **30**, 4424–4437 (2020).
310. Powell, A. L. *et al.* Lesions of retrosplenial cortex spare immediate-early gene activity in related limbic regions in the rat. *Brain Neurosci Adv* **2**, 2398212818811235 (2018).
311. Prados, J. & Trobalon, J. B. Locating an invisible goal in a water maze requires at least two landmarks. *Psychobiology* **26**, 42–48 (1998).
312. Prasad, J. A. & Chudasama, Y. Viral tracing identifies parallel disynaptic pathways to the hippocampus. *The Journal of Neuroscience* **33**, 8494–8503 (2013).
313. Quirk, G., Muller, R. & Kubie, J. The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat's recent experience. *J. Neurosci.* **10**, 2008–2017 (1990).
314. Ramirez, S. *et al.* Creating a False Memory in the Hippocampus. *Science* **341**, 387–391 (2013).
315. Ranganath, C. & Ritchey, M. Two cortical systems for memory-guided behaviour. *Nat Rev Neurosci* **13**, 713–726 (2012).
316. Redhead, E. S., Roberts, A., Good, M. & Pearce, J. M. Interaction Between Piloting and Beacon Homing by Rats in a Swimming Pool. (1997).
317. Redish, A. D., Elga, A. N. & Touretzky, D. S. A coupled attractor model of the rodent head direction system. (1996).
318. Redish, A. D. *Beyond the Cognitive Map: From Place Cells to Episodic Memory*. (The MIT Press, 1999). doi:10.7551/mitpress/1571.001.0001.
319. Redish, A. D. Vicarious trial and error. *Nat Rev Neurosci* **17**, 147–159 (2016).
320. Rice, J., Wallace, D. & Hamilton, D. Lesions of the hippocampus or dorsolateral striatum disrupt distinct aspects of spatial navigation strategies based on proximal and distal information in a cued variant of the Morris water task. *Behavioural brain research* **289**, (2015).
321. Robertson, C. E., Hermann, K. L., Mynick, A., Kravitz, D. J. & Kanwisher, N. Neural Representations Integrate the Current Field of View with the Remembered 360° Panorama in Scene-Selective Cortex. *Current Biology* **26**, 2463–2468 (2016).
322. Robinson, N. T. M. *et al.* Targeted Activation of Hippocampal Place Cells Drives Memory-Guided Spatial Behavior. *Cell* **183**, 1586-1599.e10 (2020).
323. Rossier, J., Haeberli, C. & Schenk, F. Auditory cues support place navigation in rats when associated with a visual cue. *Behavioural Brain Research* **117**, 209–214 (2000).
324. Rossier, J. & Schenk, F. Olfactory and/or visual cues for spatial navigation through ontogeny: Olfactory cues enable the use of visual cues. *Behavioral Neuroscience* **117**, 412–425 (2003).
325. Rotenberg, A. & Muller, R. U. Variable place-cell coupling to a continuously viewed stimulus: evidence that the hippocampus acts as a perceptual system. in *The Hippocampal and Parietal Foundations of Spatial Cognition* (eds. Burgess, N., Jeffery, K. J. & Keefe, J. O.) 186–202 (Oxford University PressOxford, 1998). doi:10.1093/oso/9780198524533.003.0010.
326. Roth, M. *et al.* Thalamic nuclei convey diverse contextual information to layer 1 of visual cortex. *Nature neuroscience* **19**, (2016).
327. Samsonovich, A. & McNaughton, B. L. Path Integration and Cognitive Mapping in a Continuous Attractor Neural Network Model. *J. Neurosci.* **17**, 5900–5920 (1997).
328. Samsonovich, A. V. A Continuous-Attractor Model of Flip Cell Phenomena. in *Biologically Inspired Cognitive Architectures (BICA) for Young Scientists* (eds. Samsonovich, A. V. & Klimov, V. V.) vol. 636 163–172 (Springer International Publishing, Cham, 2018).
329. Sanguinetti-Scheck, J. I. & Brecht, M. Home, head direction stability, and grid cell distortion. *Journal of Neurophysiology* **123**, 1392–1406 (2020).
330. Sarel, A., Finkelstein, A., Las, L. & Ulanovsky, N. Vectorial representation of spatial goals in the hippocampus of bats. *Science (New York, N.Y.)* **355**, (2017).

331. Sargolini, F. *et al.* Conjunctive Representation of Position, Direction, and Velocity in Entorhinal Cortex. *Science* **312**, 758–762 (2006).
332. Sato, M. *et al.* Distinct Mechanisms of Over-Representation of Landmarks and Rewards in the Hippocampus. *Cell Rep* **32**, 107864 (2020).
333. Save, E., Buhot, M.-C., Foreman, N. & Thinus-Blanc, C. Exploratory activity and response to a spatial change in rats with hippocampal or posterior parietal cortical lesions. *Behavioural Brain Research* **47**, 113–127 (1992).
334. Save, E. & Moghaddam, M. Effects of lesions of the associative parietal cortex on the acquisition and use of spatial memory in egocentric and allocentric navigation tasks in the rat. *Behavioral Neuroscience* **110**, 74–85 (1996).
335. Save, E., Nerad, L. & Poucet, B. Contribution of multiple sensory information to place field stability in hippocampal place cells. *Hippocampus* **10**, 64–76 (2000).
336. Save, E. & Poucet, B. Involvement of the hippocampus and associative parietal cortex in the use of proximal and distal landmarks for navigation. *Behavioural Brain Research* **109**, 195–206 (2000).
337. Save, E., Poucet, B., Foreman, N. & Buhot, M.-C. Object Exploration and Reactions to Spatial and Nonspatial Changes in Hooded Rats Following Damage to Parietal Cortex or Hippocampal Formation. (1992).
338. Savelli, F., Yoganarasimha, D. & Knierim, J. J. Influence of boundary removal on the spatial representations of the medial entorhinal cortex. *Hippocampus* **18**, 1270–1282 (2008).
339. Schlesiger, M. I., Boublil, B. L., Hales, J. B., Leutgeb, J. K. & Leutgeb, S. Hippocampal Global Remapping Can Occur without Input from the Medial Entorhinal Cortex. *Cell Reports* **22**, 3152–3159 (2018).
340. Sharp, P. E. & Koester, K. Lesions of the mammillary body region severely disrupt the cortical head direction, but not place cell signal. *Hippocampus* **18**, 766–784 (2008).
341. Sharp, P. E., Tinkelman, A. & Cho, J. Angular velocity and head direction signals recorded from the dorsal tegmental nucleus of gudden in the rat: Implications for path integration in the head direction cell circuit. *Behavioral Neuroscience* **115**, 571–588 (2001).
342. Sharp, P., Blair, H., Etkin, D. & Tzanetos, D. Influences of vestibular and visual motion information on the spatial firing patterns of hippocampal place cells. *J. Neurosci.* **15**, 173–189 (1995).
343. Sherrill, K. R. *et al.* Hippocampus and Retrosplenial Cortex Combine Path Integration Signals for Successful Navigation. *J. Neurosci.* **33**, 19304–19313 (2013).
344. Shibata, H. Direct projections from the anterior thalamic nuclei to the retrohippocampal region in the rat. *The Journal of comparative neurology* **337**, (1993).
345. Shibata, H., Kondo, S. & Naito, J. Organization of retrosplenial cortical projections to the anterior cingulate, motor, and prefrontal cortices in the rat. *Neuroscience Research* **49**, 1–11 (2004).
346. Shin, J. D., Tang, W. & Jadhav, S. P. Dynamics of Awake Hippocampal-Prefrontal Replay for Spatial Learning and Memory-Guided Decision Making. *Neuron* **104**, 1110-1125.e7 (2019).
347. Shine, J. P., Valdés-Herrera, J. P., Hegarty, M. & Wolbers, T. The Human Retrosplenial Cortex and Thalamus Code Head Direction in a Global Reference Frame. *J. Neurosci.* **36**, 6371–6381 (2016).
348. Simonnet, J. & Fricker, D. Cellular components and circuitry of the presubiculum and its functional role in the head direction system. *Cell Tissue Res* **373**, 541–556 (2018).
349. Simonnet, J. *et al.* Activity dependent feedback inhibition may maintain head direction signals in mouse presubiculum. *Nat Commun* **8**, 16032 (2017).
350. Singer, A. C., Karlsson, M. P., Nathe, A. R., Carr, M. F. & Frank, L. M. Experience-Dependent Development of Coordinated Hippocampal Spatial Activity Representing the Similarity of Related Locations. *J. Neurosci.* **30**, 11586–11604 (2010).
351. Sit, K. K. & Goard, M. J. Coregistration of heading to visual cues in retrosplenial cortex. *Nat Commun* **14**, 1992 (2023).
352. Skaggs, W. E., Knierim, J. J., Kudrimoti, H. S. & McNaughton, B. L. A model of the neural basis of the rat's sense of direction. *Adv Neural Inf Process Syst* **7**, 173–180 (1995).
353. Skaggs, W. E. & McNaughton, B. L. Spatial Firing Properties of Hippocampal CA1 Populations in an Environment Containing Two Visually Identical Regions. *J. Neurosci.* **18**, 8455–8466 (1998).
354. Smith, A. E., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. The stimulus control of local enclosures and barriers over head direction and place cell spatial firing. *Brain and Behavior* **11**, e02070 (2021).
355. Smith, D. M., Barredo, J. & Mizumori, S. J. Y. Complimentary roles of the hippocampus and retrosplenial cortex in behavioral context discrimination. *Hippocampus* **22**, 1121–1133 (2012).
356. Smith, D. M. & Mizumori, S. J. Y. Learning-related development of context-specific neuronal responses to places and events: the hippocampal role in context processing. *J Neurosci* **26**, 3154–3163 (2006).
357. Solstad, T., Boccara, C. N., Kropff, E., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Representation of Geometric Borders in

the Entorhinal Cortex. *Science* **322**, 1865–1868 (2008).
358. Spiers, H. J., Hayman, R. M. A., Jovalekic, A., Marozzi, E. & Jeffery, K. J. Place Field Repetition and Purely Local Remapping in a Multicompartment Environment. *Cerebral Cortex* **25**, 10–25 (2015).
359. Spiers, H. J., Olafsdottir, H. F. & Lever, C. Hippocampal CA1 activity correlated with the distance to the goal and navigation performance. *Hippocampus* **28**, 644–658 (2018).
360. Sripanidkulchai, K. & Wyss, J. M. Thalamic projections to retrosplenial cortex in the rat. *J Comp Neurol* **254**, 143–165 (1986).
361. Stackman, R. W. & Taube, J. S. Firing properties of rat lateral mammillary single units: head direction, head pitch, and angular head velocity. *J Neurosci* **18**, 9020–9037 (1998).
362. Stackman, R. W. & Herbert, A. M. Rats with lesions of the vestibular system require a visual landmark for spatial navigation. *Behavioural Brain Research* **128**, 27–40 (2002).
363. Stackman, R. W., Golob, E. J., Bassett, J. P. & Taube, J. S. Passive Transport Disrupts Directional Path Integration by Rat Head Direction Cells. *Journal of Neurophysiology* **90**, 2862–2874 (2003).
364. Stackman, R. & Taube, J. Firing properties of head direction cells in the rat anterior thalamic nucleus: dependence on vestibular input. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **17**, (1997).
365. Steffenach, H.-A., Witter, M., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Spatial Memory in the Rat Requires the Dorsolateral Band of the Entorhinal Cortex. *Neuron* **45**, 301–313 (2005).
366. Stensola, H. *et al.* The entorhinal grid map is discretized. *Nature* **492**, 72–78 (2012).
367. Subramanian, D. L., Miller, A. M. P. & Smith, D. M. A comparison of hippocampal and retrosplenial cortical spatial and contextual firing patterns. *Hippocampus* **34**, 357–377 (2024).
368. Sugar, J. & Witter, M. P. Postnatal development of retrosplenial projections to the parahippocampal region of the rat. *eLife* **5**, e13925 (2016).
369. Sugar, J., Witter, M. P., Van Strien, N. M. & Cappaert, N. L. M. The Retrosplenial Cortex: Intrinsic Connectivity and Connections with the (Para)Hippocampal Region in the Rat. An Interactive Connectome. *Front. Neuroinform.* **5**, (2011).
370. Sulpizio, V., Committeri, G., Lambrey, S., Berthoz, A. & Galati, G. Selective role of lingual/parahippocampal gyrus and retrosplenial complex in spatial memory across viewpoint changes relative to the environmental reference frame. *Behavioural Brain Research* **242**, 62–75 (2013).
371. Sutherland, R. J., Whishaw, I. Q. & Kolb, B. A behavioural analysis of spatial localization following electrolytic, kainate- or colchicine-induced damage to the hippocampal formation in the rat. *Behavioural Brain Research* **7**, 133–153 (1983).
372. Sutherland, R. J. & Hoesing, J. M. Posterior Cingulate Cortex and Spatial Memory: A Microlimnology Analysis. in *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook* (eds. Vogt, B. A. & Gabriel, M.) 461–477 (Birkhäuser, Boston, MA, 1993). doi:10.1007/978-1-4899-6704-6_17.
373. Takahashi, N., Kawamura, M., Shiota, J., Kasahata, N. & Hirayama, K. Pure topographic disorientation due to right retrosplenial lesion. *Neurology* **49**, 464–469 (1997).
374. Tan, H. M., Bassett, J. P., O'Keefe, J., Cacucci, F. & Wills, T. J. The Development of the Head Direction System before Eye Opening in the Rat. *Curr Biol* **25**, 479–483 (2015).
375. Tanaka, K. Z. *et al.* The hippocampal engram maps experience but not place. *Science* **361**, 392–397 (2018).
376. Tang, W., Shin, J. D., Frank, L. M. & Jadhav, S. P. Hippocampal-Prefrontal Reactivation during Learning Is Stronger in Awake Compared with Sleep States. *J. Neurosci.* **37**, 11789–11805 (2017).
377. Tang, W., Shin, J. D. & Jadhav, S. P. Multiple time-scales of decision-making in the hippocampus and prefrontal cortex. *Elife* **10**, e66227 (2021).
378. Tanila, H. Hippocampal place cells can develop distinct representations of two visually identical environments. *Hippocampus* **9**, 235–246 (1999).
379. Taube, J. S. Head direction cells recorded in the anterior thalamic nuclei of freely moving rats. *J Neurosci* **15**, 70–86 (1995).
380. Taube, J. S. & Burton, H. L. Head direction cell activity monitored in a novel environment and during a cue conflict situation. *Journal of Neurophysiology* **74**, 1953–1971 (1995).
381. Taube, J. S. The Head Direction Signal: Origins and Sensory-Motor Integration. *Annu. Rev. Neurosci.* **30**, 181–207 (2007).
382. Taube, J., Muller, R. & Ranck, J. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J. Neurosci.* **10**, 420–435 (1990).
383. Thompson, L. T. & Best, P. J. Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *Brain Research* **509**, 299–308 (1990).

384. Thompson, S. M. & Robertson, R. T. Organisation of subcortical pathways for sensory projections to the limbic cortex. I. Subcortical projections to the medial limbic cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology* **265**, 175–188 (1987).
385. Thompson, S. M. & Robertson, R. T. Organisation of subcortical pathways for sensory projections to the limbic cortex. II. Afferent projections to the thalamic lateral dorsal nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology* **265**, 189–202 (1987).
386. Todd, T. P., Fournier, D. I. & Bucci, D. J. Retrosplenial cortex and its role in cue-specific learning and memory. *Neurosci Biobehav Rev* **107**, 713–728 (2019).
387. Todd, T. P., Mehlman, M. L., Keene, C. S., DeAngeli, N. E. & Bucci, D. J. Retrosplenial cortex is required for the retrieval of remote memory for auditory cues. *Learn. Mem.* **23**, 278–288 (2016).
388. Tolman, E. C. *Purposive Behavior in Animals and Men*. xiv, 463 (Century/Random House UK, London, England, 1932).
389. Tolman, E. C., Ritchie, B. F. & Kalish, D. Studies in spatial learning. I. Orientation and the short-cut. *Journal of Experimental Psychology* **36**, 13–24 (1946).
390. Tolman, E. C. & Honzik, C. H. *'Insight' in Rats*. (University of California Press, 1930).
391. Tolman, E. C. COGNITIVE MAPS IN RATS AND MEN. (1948).
392. Touretzky, D. S. Attractor Network Models of Head Direction Cells. (2005) doi:10.7551/mitpress/3447.003.0026.
393. Touretzky, D. S. & Redish, A. D. Theory of rodent navigation based on interacting representations of space. *Hippocampus* **6**, 247–270 (1996).
394. Traissard, N. *et al.* Combined Damage to Entorhinal Cortex and Cholinergic Basal Forebrain Neurons, Two Early Neurodegenerative Features Accompanying Alzheimer's Disease: Effects on Locomotor Activity and Memory Functions in Rats. *Neuropsychopharmacol* **32**, 851–871 (2007).
395. Tsanov, M. *et al.* Theta-modulated head direction cells in the rat anterior thalamus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **31**, (2011).
396. Uster, H. J., Bättig, K. & Nägeli, H. H. Effects of maze geometry and experience on exploratory behavior in the rat. *Animal Learning & Behavior* **4**, 84–88 (1976).
397. Valerio, S. & Taube, J. Head Direction Cell Activity Is Absent in Mice without the Horizontal Semicircular Canals. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **36**, (2016).
398. Van Cauter, T. *et al.* Distinct Roles of Medial and Lateral Entorhinal Cortex in Spatial Cognition. *Cerebral Cortex* **23**, 451–459 (2013).
399. Van Cauter, T., Poucet, B. & Save, E. Unstable CA1 place cell representation in rats with entorhinal cortex lesions. *Eur J of Neuroscience* **27**, 1933–1946 (2008).
400. van der Meer, M. A. A., Richmond, Z., Braga, R. M., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Evidence for the use of an internal sense of direction in homing. *Behav Neurosci* **124**, 164–169 (2010).
401. Van Groen, T. & Michael Wyss, J. Connections of the retrosplenial granular a cortex in the rat. *J of Comparative Neurology* **300**, 593–606 (1990).
402. Van Groen, T. & Wyss, J. M. Connections of the retrosplenial granular b cortex in the rat. *J of Comparative Neurology* **463**, 249–263 (2003).
403. Van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M. & Witter, M. P. The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. *Nat Rev Neurosci* **10**, 272–282 (2009).
404. Van Wijngaarden, J. B., Babl, S. S. & Ito, H. T. Entorhinal-retrosplenial circuits for allocentric-egocentric transformation of boundary coding. *eLife* **9**, e59816 (2020).
405. Vann, S. & Aggleton, J. Testing the importance of the retrosplenial guidance system: effects of different sized retrosplenial cortex lesions on heading direction and spatial working memory. *Behavioural brain research* **155**, (2004).
406. Vann, S. D. & Aggleton, J. P. Selective dysgranular retrosplenial cortex lesions in rats disrupt allocentric performance of the radial-arm maze task. *Behavioral Neuroscience* **119**, 1682–1686 (2005).
407. Vann, S. D., Aggleton, J. P. & Maguire, E. A. What does the retrosplenial cortex do? *Nat Rev Neurosci* **10**, 792–802 (2009).
408. Vantomme, G. *et al.* A Thalamic Reticular Circuit for Head Direction Cell Tuning and Spatial Navigation. *Cell Reports* **31**, 107747 (2020).
409. Vedder, L. C., Miller, A. M. P., Harrison, M. B. & Smith, D. M. Retrosplenial Cortical Neurons Encode Navigational Cues, Trajectories and Reward Locations During Goal Directed Navigation. *Cereb. Cortex* cercor;bhw192v1 (2017) doi:10.1093/cercor/bhw192.
410. Vélez-Fort, M. *et al.* A Circuit for Integration of Head- and Visual-Motion Signals in Layer 6 of Mouse Primary Visual Cortex. *Neuron* **98**, 179-191.e6 (2018).

411. Vogt, B. A. & Miller, M. W. Cortical connections between rat cingulate cortex and visual, motor, and postsubicular cortices. *J of Comparative Neurology* **216**, 192–210 (1983).
412. Vogt, B. A. & Peters, A. Form and distribution of neurons in rat cingulate cortex: Areas 32, 24, and 29. *J of Comparative Neurology* **195**, 603–625 (1981).
413. Wallace, D. G., Hines, D. J., Pellis, S. M. & Whishaw, I. Q. Vestibular Information Is Required for Dead Reckoning in the Rat. *J. Neurosci.* **22**, 10009–10017 (2002).
414. Wang, M., Foster, D. J. & Pfeiffer, B. E. Alternating sequences of future and past behavior encoded within hippocampal theta oscillations. *Science* **370**, 247–250 (2020).
415. Watanabe, S. & Yoshida, M. Auditory cued spatial learning in mice. *Physiology & Behavior* **92**, 906–910 (2007).
416. Watson, J. B. Kinesthetic and Organic Sensations: Their Role in the Reactions of the White Rat to the Maze. *The Journal of Philosophy, Psychology and Scientific Methods* **4**, 584 (1907).
417. Wernle, T. *et al.* Integration of grid maps in merged environments. *Nat Neurosci* **21**, 92–101 (2018).
418. Whishaw, I. Q. & Mittleman, G. Visits to starts, routes, and places by rats (Rattus norvegicus) in swimming pool navigation tasks. *J Comp Psychol* **100**, 422–431 (1986).
419. Whitlock, J. R. & Derdikman, D. Head direction maps remain stable despite grid map fragmentation. *Front. Neural Circuits* **6**, (2012).
420. Wiener, S. I. Spatial and behavioral correlates of striatal neurons in rats performing a self-initiated navigation task. *J. Neurosci.* **13**, 3802–3817 (1993).
421. Wiener, S. I., Berthoz, A. & Zugaro, M. B. Multisensory processing in the elaboration of place and head direction responses by limbic system neurons. *Cognitive Brain Research* **14**, 75–90 (2002).
422. Wilber, A. A., Clark, B. J., Forster, T. C., Tatsuno, M. & McNaughton, B. L. Interaction of egocentric and world-centered reference frames in the rat posterior parietal cortex. *J Neurosci* **34**, 5431–5446 (2014).
423. Wills, T. J., Cacucci, F., Burgess, N. & O'Keefe, J. Development of the hippocampal cognitive map in preweanling rats. *Science* **328**, 1573–1576 (2010).
424. Wilson, M. A. & McNaughton, B. L. Dynamics of the Hippocampal Ensemble Code for Space. *Science* **261**, 1055–1058 (1993).
425. Wood, E. R., Dudchenko, P. A., Robitsek, R. J. & Eichenbaum, H. Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron* **27**, 623–633 (2000).
426. Wyss, J. M. & Van Groen, T. Connections between the retrosplenial cortex and the hippocampal formation in the rat: A review. *Hippocampus* **2**, 1–11 (1992).
427. Wyss, J. & Sripanidkulchai, K. The topography of the mesencephalic and pontine projections from the cingulate cortex of the rat. *Brain research* **293**, (1984).
428. Xiao, Z., Lin, K. & Fellous, J.-M. Conjunctive reward–place coding properties of dorsal distal CA1 hippocampus cells. *Biol Cybern* **114**, 285–301 (2020).
429. Xie, H. *et al.* In vivo imaging of immediate early gene expression reveals layer-specific memory traces in the mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **111**, 2788–2793 (2014).
430. Xu, H., Baracskay, P., O'Neill, J. & Csicsvari, J. Assembly Responses of Hippocampal CA1 Place Cells Predict Learned Behavior in Goal-Directed Spatial Tasks on the Radial Eight-Arm Maze. *Neuron* **101**, (2019).
431. Yamamoto, J. & Tonegawa, S. Direct Medial Entorhinal Cortex Input to Hippocampal CA1 Is Crucial for Extended Quiet Awake Replay. *Neuron* **96**, 217-227.e4 (2017).
432. Yamawaki, N., Corcoran, K. A., Guedea, A. L., Shepherd, G. M. G. & Radulovic, J. Differential Contributions of Glutamatergic Hippocampal→Retrosplenial Cortical Projections to the Formation and Persistence of Context Memories. *Cerebral Cortex* **29**, 2728–2736 (2019).
433. Yamawaki, N. *et al.* Long-range inhibitory intersection of a retrosplenial thalamocortical circuit by apical tuft-targeting CA1 neurons. *Nat Neurosci* **22**, 618–626 (2019).
434. Yamawaki, N., Radulovic, J. & Shepherd, G. M. G. A Corticocortical Circuit Directly Links Retrosplenial Cortex to M2 in the Mouse. *J. Neurosci.* **36**, 9365–9374 (2016).
435. Yan, Y., Burgess, N. & Bicanski, A. A model of head direction and landmark coding in complex environments. *PLoS Comput Biol* **17**, e1009434 (2021).
436. Yoder, R. M. *et al.* Both visual and idiothetic cues contribute to head direction cell stability during navigation along complex routes. *Journal of Neurophysiology* **105**, 2989–3001 (2011).
437. Yoder, R. M., Clark, B. J. & Taube, J. S. Origins of Landmark Encoding in the Brain. *Trends Neurosci* **34**, 561–571 (2011).
438. Yoder, R. M., Peck, J. R. & Taube, J. S. Visual Landmark Information Gains Control of the Head Direction Signal at the Lateral Mammillary Nuclei. *J. Neurosci.* **35**, 1354–1367 (2015).

439. Yoder, R. M. & Taube, J. S. Head Direction Cell Activity in Mice: Robust Directional Signal Depends on Intact Otolith Organs. *J. Neurosci.* **29**, 1061–1076 (2009).
440. Yoder, R. M. & Taube, J. S. Projections to the anterodorsal thalamus and lateral mammillary nuclei arise from different cell populations within the postsubiculum: Implications for the control of head direction cells. *Hippocampus* **21**, 1062–1073 (2011).
441. Yoganarasimha, D. & Knierim, J. J. Coupling between place cells and head direction cells during relative translations and rotations of distal landmarks. *Exp Brain Res* **160**, 344–359 (2005).
442. Yoganarasimha, D., Yu, X. & Knierim, J. J. Head Direction Cell Representations Maintain Internal Coherence during Conflicting Proximal and Distal Cue Rotations: Comparison with Hippocampal Place Cells. *J. Neurosci.* **26**, 622–631 (2006).
443. Youngstrom, I. A. & Strowbridge, B. W. Visual landmarks facilitate rodent spatial navigation in virtual reality environments. *Learn. Mem.* 84–90 (2012) doi:10.1101/lm.023523.111.
444. Zaremba, J. *et al.* Impaired hippocampal place cell dynamics in a mouse model of the 22q11.2 deletion. *Nature neuroscience* **20**, (2017).
445. Zhang, K. Representation of spatial orientation by the intrinsic dynamics of the head-direction cell ensemble: a theory. *J. Neurosci.* **16**, 2112–2126 (1996).
446. Zhang, N., Grieves, R. M. & Jeffery, K. J. Environment Symmetry Drives a Multidirectional Code in Rat Retrosplenial Cortex. *J. Neurosci.* **42**, 9227–9241 (2022).
447. Zoladek, L. & Roberts, W. A. The sensory basis of spatial memory in the rat. *Animal Learning & Behavior* **6**, 77–81 (1978).
448. Zugaro, M., Tabuchi, E. & Wiener, S. Influence of conflicting visual, inertial and substratal cues on head direction cell activity. *Experimental brain research* **133**, (2000).
449. Zugaro, M. B., Arleo, A., Berthoz, A. & Wiener, S. I. Rapid Spatial Reorientation and Head Direction Cells. *J. Neurosci.* **23**, 3478–3482 (2003).
450. Zugaro, M. B. *et al.* Rat anterodorsal thalamic head direction neurons depend upon dynamic visual signals to select anchoring landmark cues. *Eur J of Neuroscience* **20**, 530–536 (2004).

Annexes

Article de these soumis à la revue *iScience* :

Retrosplenial cortex encodes both local and global space in connected environments

Célia Laurent[1], David M. Smith[2], Francesca Sargolini[1], Pierre-Yves Jacob*[1]

[1] Aix Marseille Univ, CNRS, CRPN, Marseille, France
[2] Department of Psychology, Cornell University, Ithaca, New York, USA

Corresponding author: pierre-yves.jacob@univ-amu.fr

Abstract

In everyday life, mammals have to find their way between interconnected spaces. How the brain processes spatial information in these complex environments is a crucial question for understanding how we navigate. Theoretical frameworks have proposed that the brain produces simultaneous activities that are either maintained in connected spaces (global reference frame) or distinguished in each space (local reference frames). The different head direction signals discovered in the retrosplenial cortex (RSC) suggest that this brain area supports both local and global spatial activity. We tested this hypothesis by recording RSC neurons in environments consisting of 2 or 4 connected rooms that are either identical or different. We observed two types of head direction activity simultaneously: one showing opposite or orthogonal directional activity in the 2 and 4 connected spaces and thus anchored to local reference frames, and one maintaining a stable head direction activity across connected spaces and thus anchored to the global reference frame. We also found that other RSC neurons show a spatial pattern that repeats oppositely or orthogonally in the 2 and 4 connected spaces respectively. In contrast, hippocampal place cells activity never shows opposite or orthogonal patterns, but rather a spatial remapping or a translational repeated activity. Overall, the results show that only the RSC has the simultaneous neuronal activity supporting local and global reference frames, necessary to form a spatial representation in connected environments.

Introduction

Deciphering the spatial systems of the brain in complex spaces is crucial to understand how mammals navigate in ecological conditions. Recent studies have described new classes of spatial-coding neurons in the retrosplenial cortex (RSC), including the multidirectional cells (MDCs) that can be observed only in complex environments made of connected rooms (*Alexander et al., 2020; Jacob et al., 2017; Subramanian et Smith, 2024; Zhang et al., 2022*). In contrast to a head direction cell (HDC) that maintains a unique preferred firing direction (PFD) across different connected rooms, a MDC changes its PFD between rooms leading to a bidirectional or tetradirectional activity in the global polar activity. The discovery of MDCs shows that a single and homogeneous environment such as an open field is not sufficient to reveal the multifaceted activity of the space-coding neurons, and this constitutes a serious limitation in the current models of neural space codes.

The functional role of the MDCs in the RSC is unknown. From a wide perspective, the RSC is involved in a range of cognitive functions, including navigation and episodic memory (*Miller et al. 2019; Mitchell et al., 2018; Sherril et al., 2013; Takahashi et al., 1997; Vedder et al., 2016*). This is not surprising given the intense anatomical connections between the RSC, the medial entorhinal cortex and the hippocampus which are key structures in spatial cognition (*Cenquizca et Swanson, 2007; Czajkowski et al., 2013; Jones et Witter, 2007; Naber et al., 2001; Sugar et Witter, 2016; Van Groen et Wyss, 1992, 2003; Vogt et Miller, 1983*).

In addition, the RSC receives strong projections from primary visual areas, and vision has a major role in navigation (*Muller, Kubie et Ranck, 1987; Vélez-Fort et al., 2018; Vogt et Miller, 1983; Wyss et Van Groen, 1992, 2003; Yoder et al., 2011*). Therefore, it is possible that the RSC participates in these functions by processing visual features of the space to anchor the brain directional system to different reference frames. Results from fMRI studies in humans are consistent with this hypothesis but are contradictory as to whether the RSC has a specific role in anchoring the spatial representation to the local or the global reference frame (*Kim et Maguire, 2018; Marchette et al., 2014; Peer et al., 2019; Shine et al., 2016; Sulpizio et al., 2013*). The existence of both HDCs and MDCs within the RSC possibly reconciles these two opposing views. A local reference frame involves a single room limited by walls. For an

environment made of several connected rooms, there will be as many local reference frames as there will be rooms visited by the subject. The global reference frame unifies the set of local rooms into a single representation. Since MDCs change their directional firing in connected rooms, they are good candidates for establishing a local reference frame. Conversely, the HDCs may help construct a global reference frame since their directional firing remains stable across different connected rooms.

Studies on MDCs used connected rooms that are visually and tactilely identical, thus making these external features ambiguous to dissociate the rooms. Moreover, the opposite or orthogonal repetition of similar connected rooms could possibly induce an artificial multidirectional firing. To specifically assess whether MDCs firing properties result from a dissociation between the different rooms, we recorded RSC neurons in environments made of 2- or 4-connected-rooms that are different visually and tactilely. We observed that the bidirectional activity in the 2-connected-rooms environment becomes tetradirectional in the 4-connected-rooms environment. In contrast, HDCs remain unidirectional in all environments.

We also observed that neurons with no clear place-related activity (no directional activities and no place fields) nonetheless showed repeated opposite or orthogonal spatial patterns in the 2- and 4-connected-rooms environments, respectively. Finally, we recorded in the same environment the hippocampal place cells and showed that they either remapped or repeated their firing fields between rooms, suggesting that they can be differentially anchored to local or global cues.

Altogether, these results highlight the RSC as a key structure in forming spatial representations at different spatial reference frames, a cognitive process that may be critical for navigating in complex spaces.

Methods

Subjects. A total of 15 adult Long Evans rats (Charles River Laboratories), 12 males and 3 females weighing between 250 and 350g were housed in individual cages (40 cm long x 26 cm wide x 16 cm high) with *ad lib* food and water and kept in a temperature-controlled room (20°C +/- 2°C) with natural light/dark cycle. One week after arrival, animals were handled daily by the experimenter for 7 days. During this period, they were habituated to the recording apparatus by letting them explore the environment for 10–20 min per day.

All experimental procedures were conducted with the approval of the local French National Ethics Committees and in accordance with the EEC (2010/63/UE) guidelines for the care and use of laboratory animals. The present study was specifically approved by Neurosciences Ethics Committee N°71 of the French National Committee of animal experimentation.

Microdrives and surgery. Recordings were made using tetrodes, each composed of four twisted 25 µm polyimide-coated platinum-iridium (90%/10%) wires (California Fine Wire, CA), attached to an Axona microdrive (Axona Ltd, St Albans, UK). Surgery was performed under sterile conditions and general anesthesia (Isoflurane, 4% for induction, 2% to 0.5% for maintenance), an opioid analgesic (Buprenorphine, 0.05 mg/kg, SC) is administered at least 30 minutes before. Tetrodes were then stereotaxically implanted in the dysgranular RSC (n = 14 rats; coordinates in mm from Bregma: AP: -5.0 to -5.5mm, ML: +/-0.75 to 1.0mm and DV: 0.4 to 0.5mm under the dura) and/or the dorsal hippocampus (n = 4 rats; coordinates in mm from Bregma: AP: -3.8, ML: +/-3 and DV: 1.5mm under the dura) either in the left or right hemisphere. As a postoperative treatment, rats received an injection of antibiotic (Oxytetracycline, 10 mg/kg) and of anti-inflammatory/analgesic (Carprofen, 5 mg/kg). After surgery, the rats were allowed 7 days of recovery before the experiment began. They were then placed on a food deprivation schedule that kept them at 90% of their free-feeding body weight.

Apparatus. The 2- and 4-connected-rooms environments were derived from a 150 x 150 cm square arena with 60 cm high grey walls and covered with a gray vinyl sheet that can be wiped with a moistened sponge to neutralize smells. The apparatus was isolated from the rest of the

room by an opaque circular curtain 260 cm in diameter. Ceiling lights lighted the environments homogeneously and a radio fixed to the ceiling above the environments was used to mask uncontrolled directional sounds. The unit recording system and equipment for controlling the experiment were in an adjacent room.

To create a two visually identical opposite connected rooms, we divided the arena in 2 equal rectangular rooms (75 x 150 cm) by inserting a 60 cm high wall with a door at the center (an aperture of 10 cm at the base and 15 cm at the top) (**Figure 1A and Supplementary figure 1A**). For the four visually identical orthogonal connected rooms, we divided the arena in four equal square rooms (75 x 75 cm) by inserting two 60 cm high walls perpendicularly, each having two doors allowing to connect each room with the two adjacent ones (**Figure 2A and Supplementary figure 1B**). We polarized each room with identical white cue cards (30 x 40 cm, one per room) attached to the opposite short walls in the 2-identical-rooms environment, or to the orthogonally arranged walls in the 4-identical-rooms environment. To maximize the difference between the rooms, in the 2- and 4-different-rooms environments, each cue card had a specific pattern (a circle, stripes, a square, a star, a triangle) and each floor was covered with vinyl of different texture and visual pattern (**Supplementary figure 1C and D**).

Recording setup. Both screening and recordings were performed in the experimental room. A counterbalanced cable was attached at one end to an automatic commutator and at the other end to the headstage containing a field effect transistor amplifier for each tetrode wire. The signals from each tetrode wire were amplified 10 000 times, bandpass filtered between 0.3 and 3 kHz with Neuralynx amplifiers (Neuralynx, Bozeman, MT, USA), digitized (32 kHz), and stored by DataWave Sciworks acquisition system (DataWave Technologies, Longmont, CO, USA). Two light-emitting diodes (LED), one red and one green attached to the headstage provided the position and the orientation of the rat's head. The LEDs were imaged with a CCD camera fixed to the ceiling above the maze, and their position was tracked at 25 Hz with a digital spot-follower. A food dispenser of 20 mg food pellets was located 2 m above the environment. Animals were moving freely while food was randomly dropped on the floor to motivate them to explore the entirety of the environment.

Recording protocols. Recordings began one week after the surgery. The animals were daily screened in an individual box to identify single unit activity. When no single unit was observed

or after a completed recording protocol, the tetrodes were lowered 50 µm. When one or several units were isolated, we started one of the 3 recording protocols of the study:

1. one session in the 2-identical-connected-rooms environment followed by one session in the 2-different-connected-rooms environment.
2. one session in the 4-identical-connected-rooms environment followed by one session in the 4-different-connected-rooms environment.
3. one session in the 2-different-connected-rooms environment followed by one session in the 4-different-connected-rooms environment.

Each session lasted 10-20 minutes, and the floor was cleaned between sessions and at the end of the protocol. Between successive sessions, the rats were not disconnected but were removed from the apparatus and placed in a random location in an individual box to let the experimenter manipulate the apparatus (changing the visual cues, the floors and/or the central walls, cleaning the walls and the floor). Animals were then mildly disoriented by rotating the box before the next session.

Data analyses. All data analyses (except for the spike sorting) were performed with Matlab® custom scripts.

Spike sorting. Spike sorting was performed manually using the graphical cluster-cutting software Offline Sorter (Plexon). Units selected for analysis had to be well-discriminated clusters with spiking activity clearly dissociated from background noise. Units having inter-spike intervals < 2 ms (refractory period), were removed due to poor isolation. To prevent repeated recordings of the same cell over days, clusters that recurred on the same tetrodes in the same cluster space across recording sessions were only analyzed one time.

Directionality analyses. The rat's head direction was calculated for each tracker sample from the projection of the relative position of the two LEDs onto the horizontal plane. The directional tuning for each cell was obtained by dividing the number of spikes when the rat faced a particular direction (in bins of 6°) by the total amount of time the rat spent facing that direction. The cell's PFD is the circular mean of the directional tuning. Further analyses were only performed on cells having a peak firing rate exceeding 1 Hz.

Direction cells selection. To assess the directional specificity of **HDCs,** the Rayleigh vector length was used, with significant directionality being assigned to cells whose Rayleigh vector score exceeded 0.2. **Bidirectional cells (BDCs)** were identified with a flip score exceeding 0.6, as in a previous study in which it was necessary to select BDCs (*Jacob et al. 2017*). The flip score was calculated with an autocorrelation procedure, by rotating the polar firing rate plot in steps of 6° and calculating the correlation between the rotated and unrotated plots at each step. The flip score for each cell was defined as the difference between the correlations at the expected peak (180°) and the expected trough (90°). **MDCs** were defined as cells showing multidirectional activity in the 4-connected-rooms environment but showing unipolar activity in individual rooms. MDCs were selected based on one criterion: the Rayleigh vector score calculated from the directional activity in each of the four rooms had to exceed 0.2 in at least one of the four rooms.

Stability of the BDCs and HDCs activities. We assessed the stability of BDCs and HDCs by comparing the flip score of BDCs and the Rayleigh vector length of HDCs between the 2-identical- and the 2-different-connected-rooms environments. Then, for each BDC and HDC we computed the circular correlation between the directional firing in the 2-identical- and 2-different-connected-rooms environments. From this we extracted the maximum correlation coefficient and the corresponding angle. The distribution of all angles was then computed for all BDCs and HDCS separately, and the Rayleigh test was used to test its uniformity and to calculate the mean circular direction. For the correlation coefficients, we calculated the mean values separately for BDCs and HDCs and tested whether it significantly differed from 0 using either a one-sample t-test or a one-sample Wilcoxon test.

Characterization of the MDCs activity. We calculated the Rayleigh vector length and the PFD in each room, and we compared their values between the 4-identical- and 4-different-connected-rooms environments using a two-way ANOVA (with environments and rooms as main factors). Since the rooms in the 4-connected-rooms environments are arranged orthogonally, we tested whether the PFDs were separated by 90° between rooms. For each cell, we calculated the differences between the PFDs of any two adjacent rooms and tested whether they were distributed around 90°, extracting the circular mean value and the corresponding angle. Finally, we tested the multidirectional stability between the 4-identical and 4-different-connected-rooms using the same procedure as for BDCs and HDCs activity (previous section).

Comparison between 2-different and 4-different-connected-rooms environments. We analyzed whether cells changed their activity between 2- and 4-different-connected-rooms environments by comparing the peak firing rate and either the flip scores or the vector lengths, respectively for BDCs and HDCS, using a repeated measure ANOVA. Then, we assessed the stability of HDCs and BDCs between rooms or sessions as previously described.

Spatial ratemaps and place cell selection. Spatial ratemaps were generated by dividing the environment into square bins, each 2.5 × 2.5 cm in size. Spikes per bin were divided by the time spent in that bin to provide a raw firing ratemap. Smoothed firing ratemaps were then generated using a boxcar procedure in which the firing rate in each bin was replaced by that of the mean of itself plus the immediately surrounding bins. The firing rate of the cell was color-coded from low (light blue) to high (dark red). In both raw and smoothed ratemaps, pixels that were not visited by the rat were displayed in white.

For each map, we calculated two classical measures of spatial selectivity:

- the spatial coherence as the spatial autocorrelation of the non-smoothed place field and measures the extent to which the firing rate in a particular bin is predicted by the average rate of the eight surrounding bins.

- the spatial information content, expressed in bits per spike and is calculated as follows:

$$I = i \sum P(i) \left(\frac{\lambda i}{\lambda} log_2 \frac{\lambda i}{\lambda} \right)$$

Where $P(i)$ is the occupancy probability of bin, λi is the mean firing rate in bin and λ is the overall mean firing rate.

Hippocampal cells were categorized as place cells if they satisfied 4 criteria in at least one room of the 2- or 4-connected-rooms environments:

1- the place field should include at least nine contiguous pixels of the non-smoothed ratemap with a firing rate above the mean firing rate (averaged over the environment).
2- the peak firing rate should exceed 1Hz.
3- the spatial coherence score should exceed 0.4.
4- the spatial information content should exceed 1.

Spatial correlation. To analyze whether both place cells and RSC neurons have repeated, opposite or unrelated spatial activity between rooms, we constructed for each cell the ratemaps in each separated room. For the 2-connected-rooms environments, we calculated the Pearson product-moment correlation coefficient on Fisher-transformed values between the 2 non-smoothed spatial ratemaps either unchanged or rotated by 180°, to match the position of the door and the visual cue cards. For the 4-connected-rooms environments, we calculated all possible spatial correlations between any two rooms (4 correlations for adjacent rooms and 2 correlations for opposite rooms) which we either averaged altogether, or averaged according to whether the rooms were adjacent or opposite. In order to assess whether place fields rotated or repeated across rooms, we calculated the mean spatial correlation of the unchanged rooms and after rotating three of the four rooms by 90°, -90° and 180° in order to overlap the position of the doors and the visual cue cards.

Finally, we tested whether place cell activity changed between multicompartment environments with identical and different rooms by calculating the spatial correlation between 2-identical and 2-different-connected-rooms environments as well as between 4-identical and 4-different-connected-rooms environments.

Statistical analyses. Statistics were performed with GraphPad Prism 9® and included Mann-Whitney U test, one-sample Wilcoxon test, one-sample Student's t-test, two-samples Student's t-test either paired or unpaired, one-way ANOVA, two-way ANOVA and repeated-measure ANOVA, Tukey's post hoc, were performed when allowed. Rayleigh tests for uniformity and circular V-tests were performed with Matlab®.

Histology. At the completion of the experiment, after induction of deep sedation (Domitor, 500µg/kg) rats received an overdose of barbiturate (Euthasol, 200 mg/kg). The brains were removed and frozen with isopentane cooled at -80°C. Then 25 µm-thick coronal sections were mounted on glass slides (SuperFrost Plus®, ThermoFisher) and stained with thionine. The position of the tips of the electrodes was determined from digital pictures, acquired with a Leica Microscope (Wetzlar, Germany), and imported in an image manipulation program (Gimp 2.8, distributed under General Public License). Delimitations of the RSC were based on Paxinos and Watson's stereotaxic atlas (*Paxinos et Watson, 2007*), recording sites were determined by measuring backwards from the deepest point of the track.

Results

BDCs and HDCs maintain directional activity in the 2-visually-different-connected-rooms environment.

A previous study has described the properties of the RSC BDCs firing in two opposite directions in two visually symmetrical connected rooms having different odors (*Jacob et al., 2017*). To investigate how local and global reference frames influence BDCs and HDCs, we implanted recording electrodes in the dysgranular RSC (**Supplementary figure 2**). We first identified both BDCs and HDCs in a 2-visually-symmetrical-connected-rooms environment (S1-2id) but without any odor cues as the original experimental setup. Then, animals were exposed to an environment made of 2-visually-different-connected-rooms (S2-2dif) (**Figure 1A**). Among 1206 RSC neurons recorded in 9 rats we identified **30** BDCs (**Figure 1B-C**) and **77** HDCs **(Figure 1D-E)**. The Rayleigh test showed no significant clustering of the PFDs, indicating that both BDCs and HDCs represent the entire range of 360° directions (**Supplementary figure 3**; Rayleigh test for BDCs, $Z = 0.45$, $p = 0.64$; Rayleigh test for HDCs, $Z = 0.62$, $p = 0.54$). These results indicate that odors are not critical for BDCs and HDCs firing.

We then compared the activity of **26** BDCs and **40** HDCs between S1-2id and S2-2diff. We found similar flip scores between the two environments (**Figure 1F**: mean S1-2id = 0.94±0.34, mean S2-2diff = 0.77±0.43, unpaired t-test, $t(54) = 1.62$, $p = 0.11$), although 6 BDCs lost their bidirectional pattern in S2-2diff. BDCs maintained a similar double angle vector length (**Supplementary figure 4**; mean S1-2id = 0.29±0.08, mean S2-2diff = 0.25±0.01, unpaired t-test, $t(54) = 1.53$, $p = 0.13$) and peak firing rate (**Figure 1F**: mean S1-2id = 4.54±4.05, mean S2-2diff = 3.77±2.90, unpaired t-test, $t(54) = 0.81$, $p = 0.42$). As in S1-2id, in S2-2diff the BDCs show directional activity uniformly distributed around the 360° directions (**Supplementary figure 3;** Rayleigh test, $Z = 1.27$, $p = 0.28$). We then tested the stability of BDCs between S1-2id and S2-2diff by computing the circular correlation of BDCs firing by step of 6°, from which we extracted the maximum correlation values and their corresponding angles. The mean correlation value was significantly greater than 0 (**Figure 1G left panel** mean = 0.67±0.13, one sample t-test on Fisher-transformed values, $t(25) = 25.58$; $p < 0.0001$), and angles at maximum correlation were clustered close to 0° (**Figure 1G right panel**; mean vector length, VL = 0.72;

mean direction, dir = 4°; V-test for 0°, V = 18.83, $p < 0.001$), indicating that bidirectional activities are stable between S1-2id and S2-2diff.

Similar results were obtained for the 40 HDCs recorded in S1-2id and S2-2diff. The Rayleigh vector length (mean S1-2id = 0.29±0.11, mean S2-2diff = 0.33±0.19) and peak firing rate (mean S1-2id = 9.46±22.35, mean S2-2diff = 7.06±10.78) did not change between the two environments (**Figure 1H:** unpaired t-test for Rayleigh vector length, $t(115) = 1.23$, $p = 0.22$; unpaired t-test for peak firing rate, $t(115) = 0.64$, $p = 0.52$) and directional activities are uniformly distributed (**Supplementary figure 3;** Rayleigh test, $Z = 0.79$, $p = 0.46$). HDCs displayed great stability between S1-2id and S2-2diff, although 5 of them lost their directional activity in S2-2diff. The mean of correlation value between S1-2id and S2-2diff is significantly greater than 0 (**Figure 1I left panel**; mean value = 0.74±0.19, one sample t-test on Fisher-transformed values, $t(39) = 23.79$; $p < 0.0001$) and the distribution of angles at maximum correlation were clustered close to 0° (**Figure 1I right panel**; mean vector length, VL = 0.71; mean direction, dir = -7°; V-test for 0°, V = 28.32, $p < 0.001$).

Altogether, these results indicate that the visual ambiguity caused by the two identical rooms is not likely to generate BDCs firing but rather depends on the structure of the environment. This supports the hypothesis that BDCs and HDCs are anchored to local and global reference frames, respectively. This is also supported by simultaneous recordings of both BDCs and HDCs in S1-2id and S2-2diff (**Supplementary figure 5**).

Figure 1

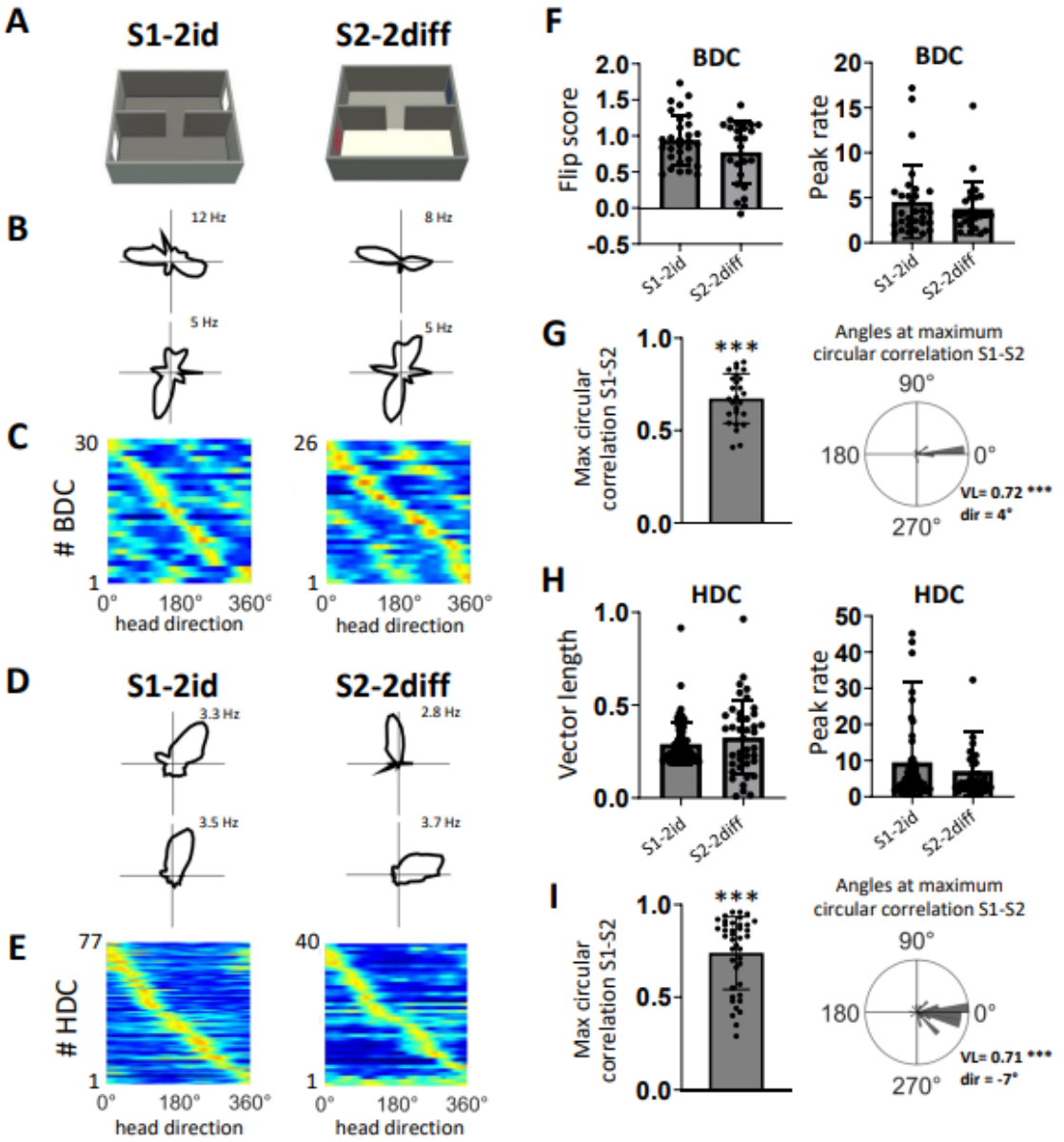


Figure 1. Bidirectional and head direction firings are maintained between 2-identical and 2-different-connected-rooms. A. Animals successively explored two environments consisting of 2-connected-rooms either identical (S1-2id: same visual cue and floor) or different (S2-2diff: different visual cues and different floors). **B.** Example of 2 BDCs recorded in the two environments (individual example on top and bottom). For each cell, the peak firing rate is indicated. **C.** Directional activity of 30 BDCs recorded in S1-2id (left); among them, 26 BDCs were successively recorded in S2-2diff (right). Activity is color-coded from blue (no activity) to orange (peak firing rate) and BDCs are sorted according to their PFD. **D.** Example of 2 HDCs recorded in the two environments (top and bottom); the peak firing rate is indicated. **E.** Color-coded directional activity of 77 HDCs recorded in S1-2id (left); among them 40 HDCs were successively recorded in S2-2diff (right). HDCs were sorted according to their PFD. **F.** Mean

flip score (left) and peak rate (right) of BDCs in S1-2id and S2-2diff. **G.** Left: The mean of maximum circular correlation values of BDCs activity between the two environments is significantly greater than 0. Right: The angles at maximum correlation values are clustered near 0° (dir = 4°). **H.** Mean vector length (left) and peak rate (right) of HDCs in the two environments. **I.** As for the BDCs, HDCs show both an average maximum circular correlation value greater than 0 and a distribution of the corresponding angles clustered near 0° (dir = 7°). Individual data are represented by black dots. VL: vector length; dir: mean value of angle distributions. *** $p < 0.001$ One sample t-test and Rayleigh test.

RSC neurons show multidirectional activity in 4-connected-rooms environments.

To test the 'local-global reference frames' hypothesis, we recorded RSC cells activity in both 4-visually-identical-connected rooms (S1-4id) and 4-visually-different-connected-rooms (S2-4diff) environments (**Figure 2A**). According to this hypothesis, we should expect some cells to show multidirectional activity. To select MDCs, we computed the Rayleigh vector length of cells directional activity in each room. Cells having a vector length above 0.2 at least in one room were selected as putative MDCs. Over 3 rats, we identified **22** MDCs in S1-4id, and among them we followed the activity of **11** MDCs in S2-4diff (**Figure 2B-C-D**). The distribution of PFDs represents all the 360° directions (**Figure 2D;** Rayleigh test for S1-4id, Z = 0.23, p = 0.80; S2-4diff, Z = 0.43, p = 0.80). Visual inspection of the MDCs' directional tuning curves in figure 2B shows a tetradirectional activity in S1-4id that tends to become bidirectional in S2-4diff. However, it is possible that such bidirectional activity is indeed tetradirectional, with two firing directions overshadowing the two others. We thus constructed the head direction activity in each room (**Figure 2C**) and observed that MDCs show a unipolar activity resembling a 'classical' HDC activity. We thus compared vector lengths and peak rates of MDCs between rooms (**Figure 2E-F**). The two-way ANOVA shows a room effect for both vector length and peak rate, but no environment S1-4id x S2-4diff effect and no interaction between the two factors (two-way ANOVA, vector length: room effect, $F(3,93) = 3.36$, $p = 0.02$; environment S1-4id x S2-4diff effect, $F(1,31) = 0.11$, $p = 0.74$; environment x room effect, $F(3,93) = 1.88$, $p = 0.14$; peak rate: room effect, $F(3,93) = 5.08$, $p = 0.003$; environment effect, $F(1,31) = 0.28$, $p = 0.60$; environment x room effect, $F(3,93) = 1.82$, $p = 0.15$). We then calculated for each MDC the difference between the PFDs in the 4 rooms for both S1-4id and S2-4diff (**Figure 2G**). The distribution of these differences show that MDCs have orthogonal PFDs between rooms (S1-4id: mean vector length, VL = 0.64; mean direction, dir = 95°; Z = 36.45, $p < 0.001$; S2-4diff: mean vector length, VL = 0.54; mean direction, dir = 90°; Z = 13.11, $p < 0.001$), indicating that MDCs firing is tetradirectional in the 4-rooms environments.

Finally, we analyzed the circular correlation of MDCs activity between S1-4id and S2-4diff (**Figure 2H left panel**). The median of the correlation coefficient was significantly greater than 0 (median value = 0.57; one sample Wilcoxon test on Fisher-transformed values, W = 66, p = 0.001). Moreover, the distribution of angles at maximum correlation are clustered close to 0° (**Figure 2H right panel**; mean vector length, VL = 0.96; mean direction, dir = 8°; V-test for 0°, V = 10.53, p < 0.001). These results indicate that the RSC possesses neurons having multidirectional firing in 4-different-connected-rooms.

Figure 2

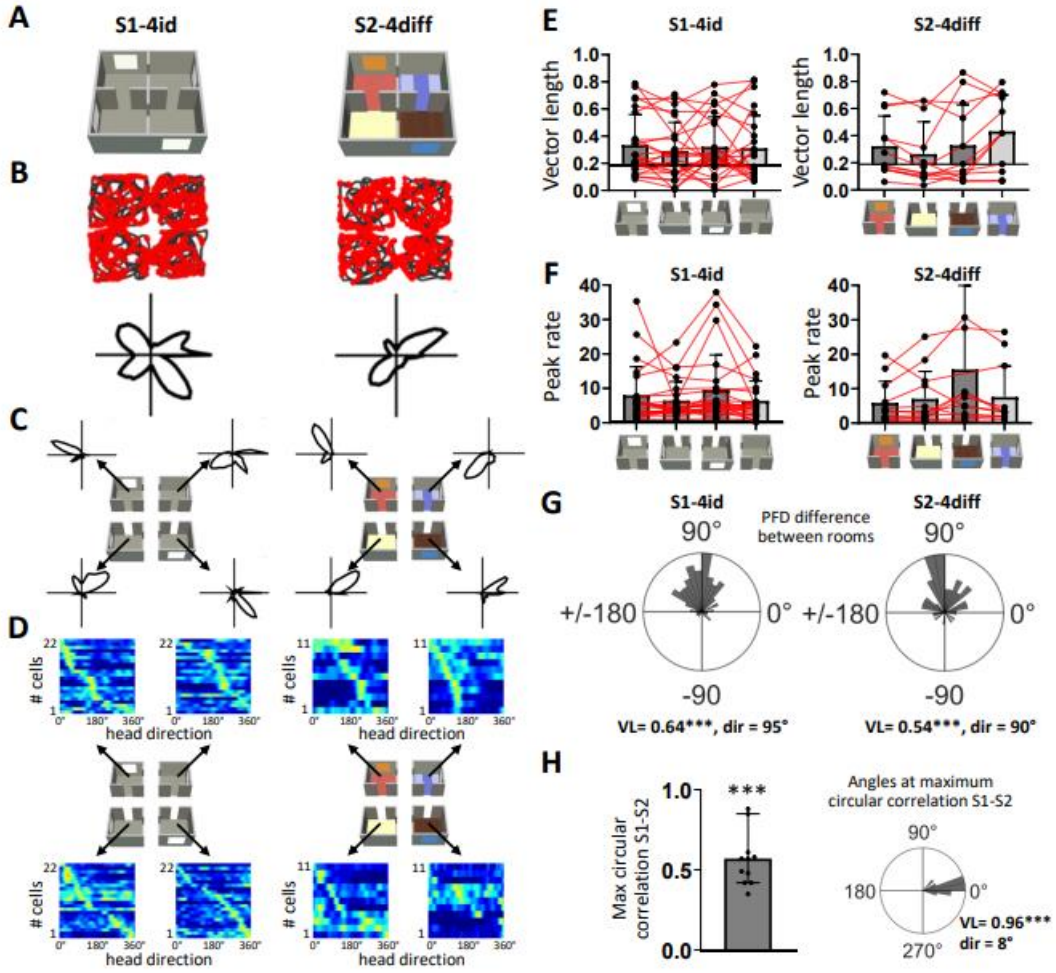


Figure 2. Multidirectional firing in a 4 rooms environment. A. Animals successively explored two environments consisting of 4-connected-rooms either identical (S1-4id: same visual cue and floor) or different (S2-4diff: different visual cues and different floors). **B.** Example of one MDC recorded in the two environments. Top: Action potentials (red dots) superimposed on the animal's path (black). Bottom: polar plot of the firing rate *vs* head direction. **C.** Tuning curve of a MDC activity for each room separately. **D.** Directional activity in each room for 22 MDCs recorded in S1-4id (left); among them, 11 MDCs were successively recorded in S2-4diff (right). MDCs have unipolar activity in each room. **E-F.** Mean vector

length (E) and peak rate (F) of MDCs in each room of the S1-4id and S2-4diff environments. **G.** The polar distribution of PFD differences between rooms shows that MDCs have PFD shifted by 90° from one room to the other, in both S1-4id and S2-4diff. **H.** MDCs maintain a stable multidirectional pattern between S1-4id and S2-4diff. The mean of maximum circular correlation values of MDCs activity between the two environments is significantly greater than 0 (left). The distribution of the corresponding angles is clustered near 0° (dir = 8°). Individual data are represented by black dots. VL: Vector length; dir: mean direction of distribution. *** $p < 0.001$, Rayleigh test and one sample Wilcoxon test.

BDCs in 2-different-connected-rooms become MDCs in the 4-different-connected-rooms environments.

We next investigated whether MDCs and BDCs are the same population of neurons, in two additional rats. We identified 42 BDCs in the 2-different-connected-rooms (S1-2diff) and followed the activity of 32 of them in the 4-different-connected-rooms (S2-4diff) (**Figure 3A**). Rayleigh tests on BDCs PFDs showed no significant clustering in both S1-2diff and S2-4diff, indicating that BDCs represent the entire range of 360° directions (**Supplementary figure 3**; Rayleigh test for S1-2diff, Z = 0.87, p = 0.42; Rayleigh test for S2-4diff, Z = 1.41, p = 0.25). **Figure 3A** shows examples of 2 BDCs recorded in S1-2diff that become multidirectional in S2-4diff. The drop of the flip score in S2-4diff indicates that BDCs loose the bidirectional pattern in the 4-different-connected-rooms environment (mean S1-2diff = 0.91±0.27, mean S2-4diff = -0.07±0.42, unpaired t-test, t(72) = 11.97, p < 0.001), while the peak firing rate does not change (mean S1-2diff = 5.32±4.85, mean S2-4diff = 4.36±4.10, unpaired t-test, t(72) = 0.90, p = 0.37) (**Figure 3B**). Then we asked whether BDCs show unipolar activity within each room in S1-2diff and S2-4diff. **Figure 3C** show examples of the directional activity of two BDCs in each room, for both S1-2diff and S2-4diff environments. Both BDCs show clear unipolar activity in each room of the S2-4diff environment, even if the multidirectional pattern is not clearly evident from the global polar plot (see the example of BDC 4). **Figure 3D-E** shows the directional activity of all BDCs in each room, sorted by direction. All BDCs have significant unipolar activity in each room of the S1-2diff environment (**Supplementary figure 6**; S1-2diff, mean vectors length, room 1 = 0.22±0.16, room 2 = 0.22±0.15, paired t-test, t(41) = 0.10, p = 0.92). We observed same results for BDCs in S2-4diff (**Supplementary figure 6**; S2-4diff, mean vectors length, room 1 = 0.30±0.20, room 2 = 0.28±0.16, room 3 = 0.29±0.19, room 4 = 0.33±0.22, one-way ANOVA, F(2.492,77.25) = 0.73, p = 0.51).

We also calculated for each BDC the PFD difference between the 2 or 4 rooms for S1-2diff and S2-4diff respectively (**Figure 3F**). The distribution of the differences shows that BDCs have

opposite PFDs between rooms in S1-2diff and orthogonal PFDs between rooms in S2-4diff (S1-2diff: mean vector length, VL = 0.40; mean direction, dir = 170°; Z = 6.63, p = 0.001; S2-4diff: mean vector length, VL = 0.43; mean direction, dir = 83°; Z = 24.18, p < 0.001), indicating that BDCs firing becomes tetradirectional in the 4-connected-rooms environment.

Finally, circular correlations of BDCs activity between S1-2diff and S2-4diff shows a median correlation value (0.47) significantly greater than 0 (one sample Wilcoxon test on Fisher-transformed values, W = 528; p < 0.001) (**Figure 3G left panel**). The distribution of angles at maximum correlation values between S1-2diff and S2-4diff is clustered near 0°, -90° and 180°, with only -90° being significant for the circular V-test (mean vector length, VL = 0.24; mean direction, dir = 87°; V-test for 0°, V = 0.46, p = 0.45; V-test for -90°, V = 7.56, p = 0.03; V-test for 180°, V = -0.46, p = 0.55) (**Figure 3G right panel**). Altogether, these results indicate that BDCs become MDCs when increasing the number of different connected rooms from 2 to 4.

We used same analysis for the RSC HDCs (**Figure 3H**). We recorded 145 HDCs in S1-2diff and we followed the activity of 113 of them in S2-4diff. Few HDCs were recorded simultaneously with BDCs in both S1-2diff and S2-4diff (**Supplementary figure 5**). We observed no differences of the vector lengths (**Figure 3I left panel:** mean S1-2diff = 0.45±0.24, mean S2-4diff = 0.46±0.23, unpaired t-test, t(256) = 0.62, p = 0.53) nor the peak firing rate (**Figure 3I right panel:** mean S1-2diff = 17.54±23.94, mean S2-4diff = 16.87±24.57, unpaired t-test, t(256) = 0.22, p = 0.83). The PFDs of HDCs are uniformly distributed around 360° in S2-4diff (**Supplementary figure 3**; Rayleigh test for S2-4diff, Z = 0.37, p = 0.69) but not in S1-2diff (**Supplementary figure 3**; Rayleigh test for S1-2diff, Z = 3.21, p = 0.04). Consistently with well-established HDCs properties, the PFDs remain stable in the different rooms of both environments (**Figure 3J-L**), with similar vector length between the rooms and between environments (**Supplementary figure 6**; mean S1-2diff, room 1 = 0.47±0.24, room 2 = 0.45±0.25, paired t-test, t(144) = 1.27, p = 0.21; mean S2-4diff, room 1 = 0.50±0.26, room 2 = 0.46±0.26, room 3 = 0.51±0.26, room 4 = 0.51±0.26, one-way ANOVA, F(2.38,266.9) = 1.68, p = 0.18). The distribution of PFD differences between rooms confirms that HDCs maintains the same PFD across connected rooms in both S1-2diff and S2-4diff (**Figure 3M**: S1-2diff: mean vector length, VL = 0.74; mean direction, dir = 5°; Z = 79.89, p < 0.001; S2-4diff: mean vector length, VL = 0.63; mean direction, dir = 8°; Z = 177.93, p < 0.001).

Finally, PFDs remain stable between S1-2diff and S2-4diff (**Figure 3N left panel**: mean of correlation = 0.88±0.11, one sample t-test on Fisher-transformed values, t(79) = 70.38, p < 0.0001 ; **Figure 3N right panel:** mean vector length, VL = 0.48; mean direction, dir = 5°; V-

test for 0°, $V = 38.37$, $p < 0.001$), confirming that HDCs are not affected by environmental changes nor by the number of connected rooms (*Jacob et al., 2017; Lozano et al., 2017; Zhang et al., 2022*).

Figure 3

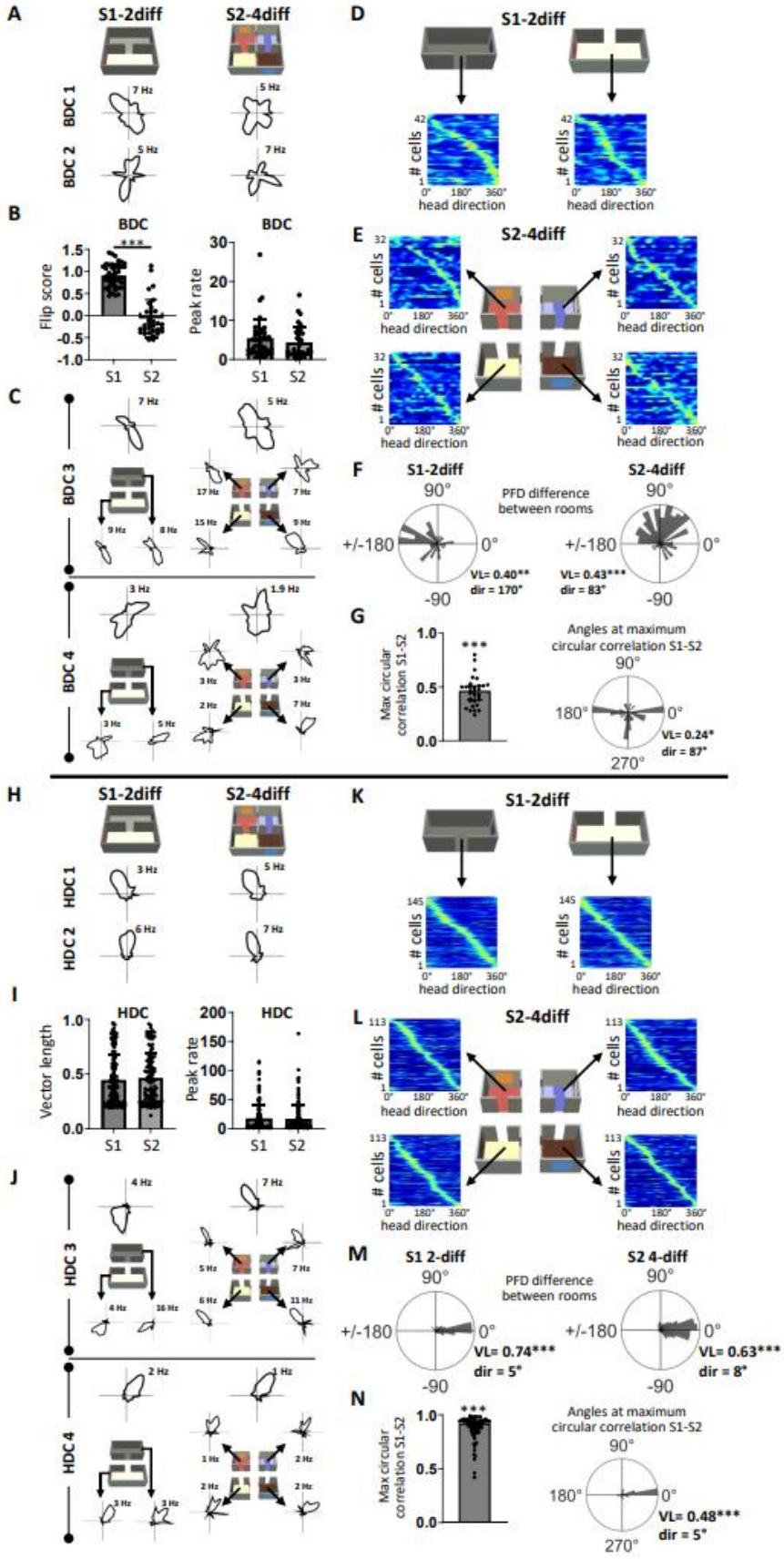

A
S1-2diff
S2-4diff
BDC 1
BDC 2
7 Hz
5 Hz
5 Hz
7 Hz
B
BDC
Flip score
***
S1
S2
BDC
Peak rate
S1
S2
C
BDC 3
BDC 4
7 Hz
5 Hz
17 Hz
7 Hz
15 Hz
9 Hz
9 Hz
8 Hz
3 Hz
1.9 Hz
3 Hz
3 Hz
2 Hz
7 Hz
3 Hz
5 Hz
D
S1-2diff
cells
head direction
E
S2-4diff
cells
head direction
F
S1-2diff
S2-4diff
PFD difference
between rooms
90°
+/-180
0°
-90
VL= 0.40**
dir = 170°
VL= 0.43***
dir = 83°
G
Max circular correlation S1-S2
***
Angles at maximum
circular correlation S1-S2
180°
270°
VL= 0.24*
dir = 87°
H
S1-2diff
S2-4diff
HDC 1
HDC 2
3 Hz
5 Hz
6 Hz
7 Hz
I
HDC
Vector length
S1
S2
HDC
Peak rate
S1
S2
J
HDC 3
HDC 4
4 Hz
7 Hz
4 Hz
16 Hz
5 Hz
7 Hz
6 Hz
11 Hz
2 Hz
1 Hz
1 Hz
2 Hz
2 Hz
2 Hz
3 Hz
3 Hz
K
S1-2diff
cells
head direction
L
S2-4diff
cells
head direction
M
S1 2-diff
S2 4-diff
PFD difference
between rooms
90°
+/-180
0°
-90
VL= 0.74***
dir = 5°
VL= 0.63***
dir = 8°
N
Max circular correlation S1-S2
***
Angles at maximum
circular correlation S1-S2
180°
270°
VL= 0.48***
dir = 5°

Figure 3. Bidirectional cells in a 2-rooms environment become tetradirectional in a 4-rooms environment. A. Top: Animal successively explored two environments made of 2-different-connected-rooms (S1-2diff) and 4-different-connected-rooms (S2-4diff). Middle & bottom: polar plot of firing rate *vs* head direction of 2 BDCs (BDC1 and BDC2) in S1-2diff and S2-4diff. **B.** The mean flip score (left) of BDCs significantly decreases in the 4 rooms environment, while the mean peak rate (right) does not change between the two environments. **C.** Example of the tuning curves of two BDCs (BDC3 and BDC4) for each room separately reveals that BDCs have unipolar activity in each room regardless of the number of connected rooms. **D-E.** Directional activity in each room of 42 BDCs recorded in S1-2diff (top). Among them, 32 were successively recorded in S2-4diff, where they became MDCs (bottom). All cells show unipolar activity in each room. **F.** Polar distributions of PFD differences between rooms in S1-2diff and S2-4diff. Distributions are opposite in the 2 rooms environment (Vector length = 0.40*** and mean direction = 170°) and orthogonal in the 4 rooms environment (Vector length = 0.43*** and mean direction = 83°). **G.** BDCs activity between S1-2diff and S2-4diff are shifted by multiples of 90°. The mean of maximum circular correlation values of BDCs activity between the two environments is significantly greater than 0 (left). The distribution of corresponding angles is clustered around orthogonal values (right). **H.** Example of polar activity of 2 HDCs (HDC1 and HDC2) in S1-2diff and S2-4diff. **I.** The mean vector length (left) and peak rate (right) of HDCs do not change between S1-2diff and S2-4diff. **J-K-L.** HDCs maintain unipolar activity between connected rooms. (J) Examples of the tuning curves of two HDCs (HDC3 and HDC4) for each room separately. (K-L) Directional activity in each room of 145 HDCs in S1-2diff (K); among them, 113 HDCs were also recorded in S2-4diff (L). **M.** HDCs maintain the same PFD between rooms as shown by polar distributions of the PFD differences between rooms in S1-2diff (left) and S2-4diff (right), respectively. Both distributions are clustered near 0° (5° and 8° respectively) **N.** HDCs activity is stable between S1-2diff and S2-4diff. The mean of the maximum circular correlation values between S1-2diff and S2-4diff is significantly greater than 0 (left) and the corresponding angles are clustered near 0° (dir = 5°; right) (right). Peak frequencies are indicated for polar plots; individual data are represented by black dots; VL: vector length; dir: mean value of angle distributions. *** $p < 0.001$, Two sample, one sample t-test, one sample Wilcoxon test and Rayleigh test.

RSC encodes spatial information anchored to features of the rooms.

The RSC has been shown to provide a spatial code for a particular context at single-cell level (*Alexander et al., 2015, 2017; Mao et al., 2017, 2018; Milczarek et al., 2018; Miller et al., 2019, 2021; Vedder et al., 2016; Xie et al., 2014*). In our study each room may provide a single context. We therefore asked whether the RSC neurons encode this type of spatial information. For each cell that were not directional (neither a HDC nor a BDC nor a MDC), we constructed the spatial ratemap for each room, and we calculated the spatial correlation between the rooms, either unrotated or rotated to overlap the position of the door and visual cues. We hypothesized

to observe 3 possible results (**Figure 4A and 5B**): 1) a spatial pattern oppositely and orthogonally repeated respectively in 2- and 4-connected-rooms environments; 2) a spatial pattern identically repeated in all rooms, irrespective of the environment; and 3) a different spatial pattern in each room. For both 2-identical (S1-2id) and 2-different-connected-rooms (S2-2diff) environments, we recorded 222 non-directional cells and observed greater mean spatial correlation for rotated ratemaps compared to unrotated ratemaps, the latter having a mean correlation value close to 0 (**Figure 4B-E**). Repeated measure ANOVA shows a unrotated/rotated ratemap effect ($F(1,221) = 71.51$, $p < 0.0001$), an identic/different rooms effect ($F(1,221) = 4.24$, $p = 0.041$) and no interaction ($F(1,221) = 0.82$, $p = 0.37$). Tuckey's post hoc confirm the significantly greater spatial correlation for rotated ratemaps compared to unrotated ones (S1-2id and S2-2diff, $p < 0.0001$). These results suggest that RSC neurons encode spatial information that is oppositely repeated in 2-connected-rooms environments.

Figure 4

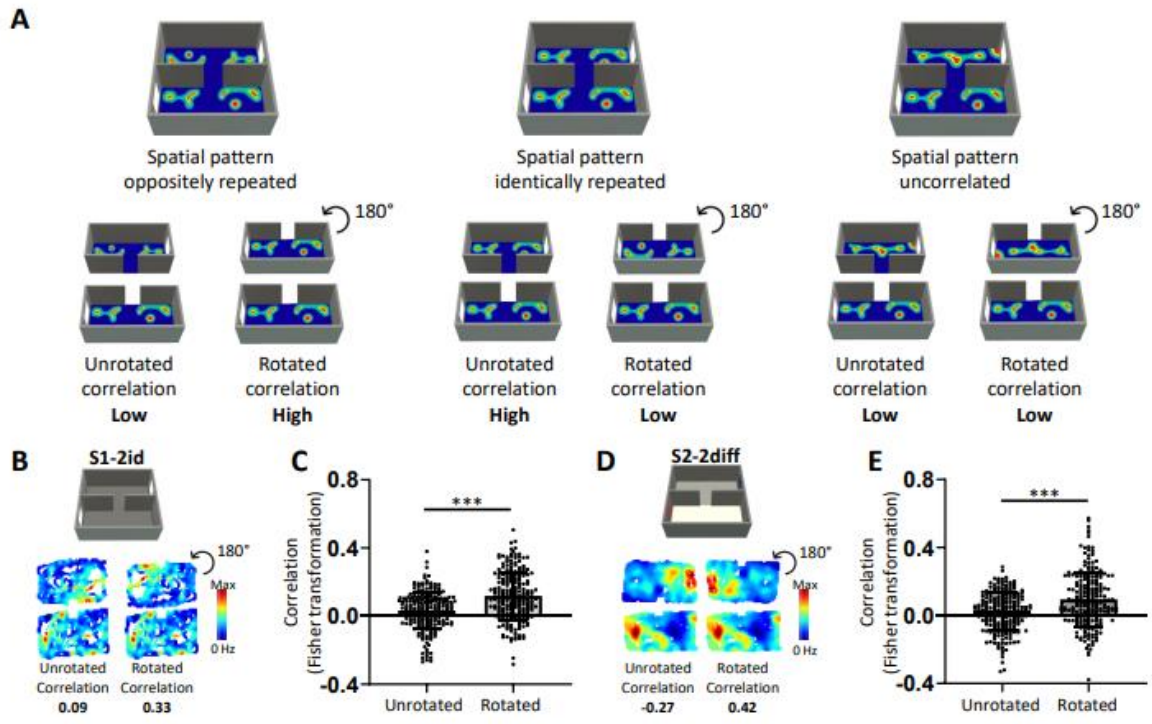


Figure 4. RSC neuron spatial activity is oppositely repeated between 2-connected-rooms. **A.** Three hypothetical spatial patterns in the 2-connected-rooms environments (top) and the corresponding spatial correlation (either low or high). **B-D.** Examples of spatial ratemaps in the 2-identical-connected-rooms (B – S1-2id) and in the 2-different-connected-rooms (D – S2-2diff) environments showing repeated and opposite spatial patterns. **C-E.** The average of spatial

correlation values is significantly greater for rotated ratemaps than for unrotated ratemaps, regardless of whether connected rooms are identical or different (n = 222). Individual data are represented by black dots. *** $p < 0.001$, Repeated measure ANOVA.

For the 4-connected-rooms environments, we performed the same analysis on 76 cells recorded in 4-identical (S1-4id) and 4-different-rooms (S2-4diff) environments (**Figure 5**). Similarly to 2-connected-rooms environments, the average spatial correlation is significantly greater for rotated ratemaps compared to unrotated ratemaps, the latter having a mean correlation value close to 0 (**Figure 5C-D and 5F-G**). The repeated measure ANOVA shows a significant unrotated/rotated ratemap effect ($F(1,75) = 86.88$, $p < 0.0001$), no identic/different rooms effect ($F(1,75) = 0.08$, $p = 0.78$), and no interaction ($F(1,75) = 3.91$, $p=0.052$). These results indicate that in 4-connected-rooms environments RSC neurons encode spatial information that is orthogonally repeated. To confirm this, we separated the maps from opposite and adjacent rooms. Since opposite rooms have 180° symmetry, we should expect the rotated maps to be positively correlated and the unrotated maps to be anti-correlated. As for the adjacent rooms, having a 90°-degree symmetry, rotated maps should be positively correlated while unrotated maps should have no correlation. For both S1-4id and S2-4diff environments the repeated measure ANOVA shows an adjacent/opposite rooms effect (S1-4id: $F(1,75) = 53.84$, $p < 0.0001$; S2-4diff: $F(1,75) = 34.49$, $p < 0.0001$), an unrotated/rotated ratemap effect (S1-4id: $F(1,75) = 71.21$, $p < 0.0001$; S2-4diff: $F(1,75) = 89.15$, $p < 0.0001$) and an interaction (S1-4id: $F(1,75) = 31.62$, $p < 0.0001$; S2-4diff: $F(1,75) = 37.78$, $p < 0.0001$) (**Figure 5E and 5H**). Tukey's post hoc confirms that the correlation between unrotated ratemaps is significantly lower for opposite rooms compared to adjacent rooms, while no differences is observed between opposite and adjacent rooms for rotated ratemaps.

Overall, these results confirm that non-directional RSC neurons support spatial information that is anchored to spatial features of the rooms.

Figure 5

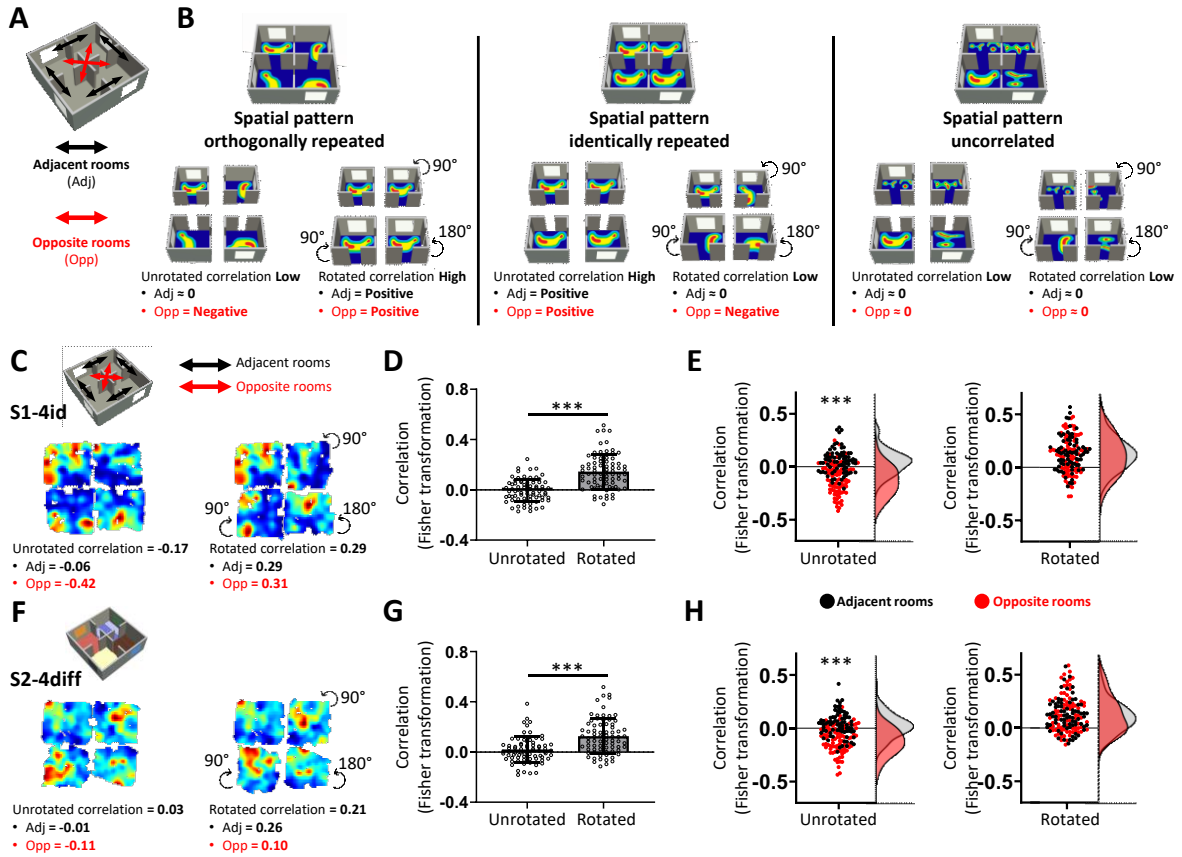


Figure 5. RSC neuron spatial activity is orthogonally repeated between 4-connected rooms.

A. Diagram of the 4-connected-rooms environment with comparisons between adjacent rooms (black arrows) and opposite rooms (red arrows). **B.** Top: the three hypothetical spatial firing patterns. Bottom: hypothetical spatial correlation for the three patterns, for unrotated and rotated adjacent and opposite rooms. **C-F.** Examples of spatial ratemaps in the 4-identical-connected-rooms (C – S1-4id) and in the 4-different-connected-rooms (F – S2-4diff) environments showing repeating and orthogonal spatial patterns. **D-G.** The average spatial correlation values reveal that RSC neurons spatial activity correlates better for rotated ratemaps than unrotated ratemaps, for both S1-4id and S2-4diff (n = 76). **E-H.** Means and distributions of spatial correlation values for adjacent (black dots) and opposite (red dots) rooms. For unrotated ratemaps, negative correlations are observed between opposite rooms and null correlations between adjacent rooms, while for rotated ratemaps both adjacent and opposite rooms comparisons yield positive correlation values. Individual data are represented by black or red dots. *** $p < 0.001$, Repeated measure ANOVA.

Hippocampal place cell activity is repeated or remapped but never flipped between rooms.

The hippocampus connects directly and densely to the granular RSC and indirectly and sparsely to the dysgranular RSC (*Cenquizca & Swanson, 2007; Lomi et al., 2021; Miyashita &*

Rockland, 2007; Van Groen & Wyss, 1990, 1992, 2003). The hippocampus possesses place cells whose activity can either remap or be identically repeated in connected rooms environments (*Cheng et al., 2024; Duvelle et al., 2021; Grieves et al., 2016; Paz-Villagrán et al., 2004; Skaggs & McNaughton, 1998; Spiers et al., 2015*). We asked whether the opposite and orthogonal repeated spatial activity found in the RSC can also be observed in hippocampal place cells in the 2- and 4-connected-rooms environments. We recorded neurons from the hippocampus of 4 animals (**Supplementary figure 7**; 3 animals were simultaneously implanted in the RSC) and calculated the spatial correlation between ratemaps of each room that were either unrotated or rotated, to compare with the 3 possible spatial patterns: 1) oppositely and orthogonally repeated in the 2- and the 4-connected-rooms environments respectively; 2) identically repeated; and 3) unrelated between rooms (**Figure 6A and 7A**).

We analyzed 60 place cells in the 2-identical-connected-rooms environment (S1-2id) and followed the activity of 31 of these place cells in the 2-different-connected-rooms environment (S2-2diff) (**Figure 6B-C**). We removed the 5 place cells with place fields located at the door because the analyses will not be able to show a specific spatial activity (**Supplementary figure 8**). We used a value of 0.4 as a threshold to assess significant spatial correlation. We found that place cell activity mainly remaps between rooms in both S1-2id and S2-2diff (51/60 place cells, 85%), a small proportion showing repeated place fields (5/60 place cells, 8%), but no cell displaying opposite or repeated place fields (**Figure 6D-E**). We then tested whether place cell activity was stable between S1-2id and S2-2diff. **Figure 6F** shows that the distribution of the correlation values between the two environments is bimodal, indicating that place cells activity can be either stable or not (kernel fitting, peaks at 0 and 0.55). We also found that the stability or instability of the firing fields is session dependent (**Supplementary figure 9**), indicating that place cell activity is highly coherent.

Figure 6

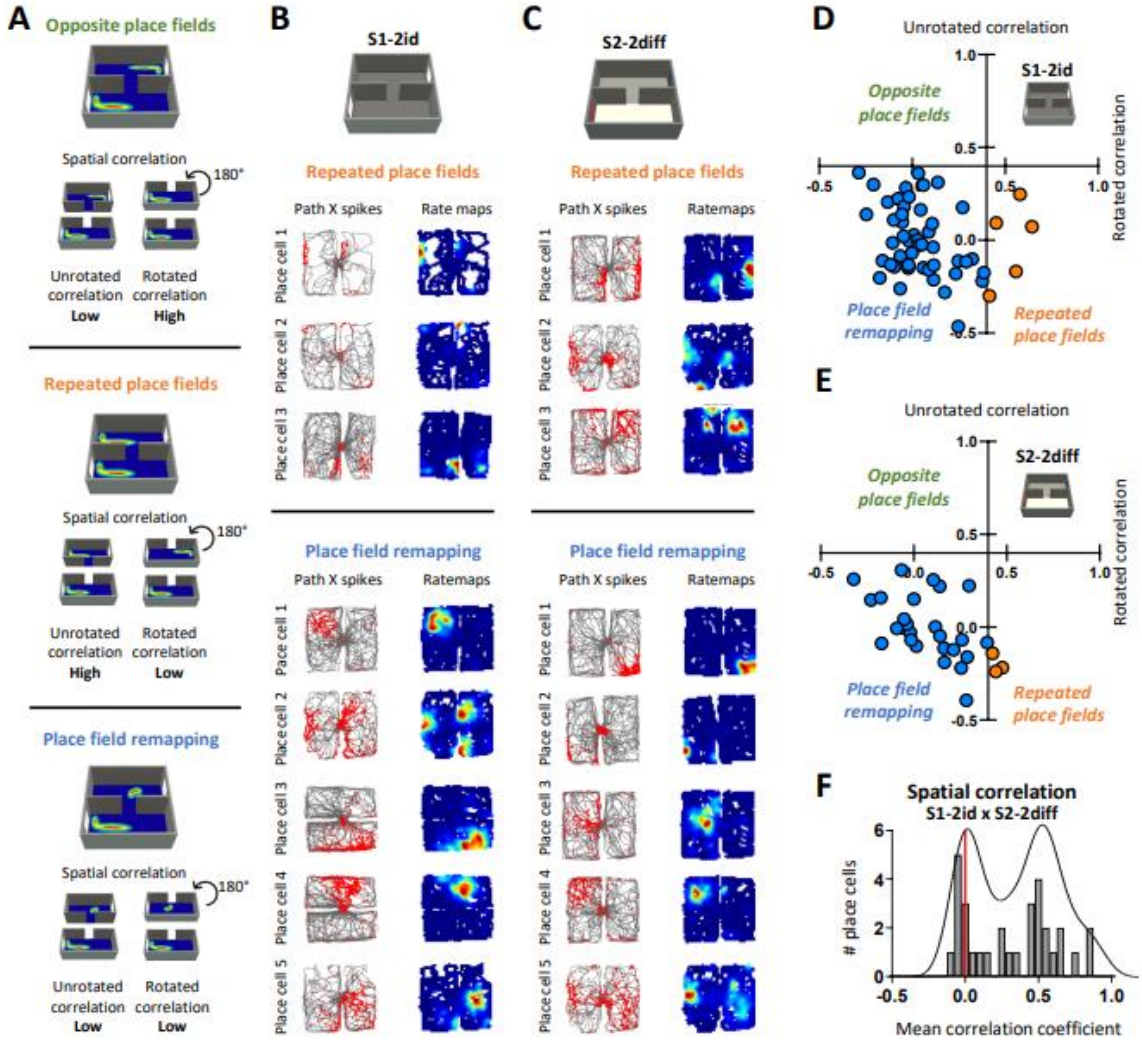


Figure 6. Hippocampal place cells activity is either repeated or remap between 2-connected-rooms. A. Three hypothetical spatial patterns observed in the 2-connected-rooms environments (top) and the corresponding correlation (bottom, high *vs* low) between unrotated and rotated ratemaps. **B-C.** Examples of place cells activity with repeating and remapping fields between rooms for both 2-identical (S1-2id) and 2-different-connected-rooms (S2-2diff) environments. **D-E.** The scatter plot of the correlation values for all place cells according to the three hypothetical spatial patterns (blue: remapping fields, orange: repeated fields, green: opposite fields) reveals that place cells never show opposite place fields for both S1-2id (n = 60) and S2-2diff (n = 31). **F.** Distribution of spatial correlation values of place cell activity between S1-2id and S2-2diff and the corresponding kernel fitting curves, showing stable and unstable place cell activity.

For the 4-connected-rooms environments, we analyzed 206 place cells in 4-identical-connected-rooms (S1-4id) and followed the activity of 141 of these place cells in 4-different-connected-rooms (S2-4diff) (**Figure 7B-C**). We observed that nearly all place cells remap in S1-4id (205/206 place cells, 99.5%), with only one place cell showing a repeated activity (0.5%) (**Figure 7D**). In S2-4diff, we found exclusively place cells that remap between rooms (**Figure 7E**). However, we never observed orthogonally repeated place fields in any of the 4-connected-rooms environment. Finally, we also observed a stable or unstable place cell spatial activity between S1-4id X S2-4diff (kernel fitting, peaks at 0.05 and 0.7), both being session dependent (**Figure 7F**, **Supplementary figure 10**).

Figure 7

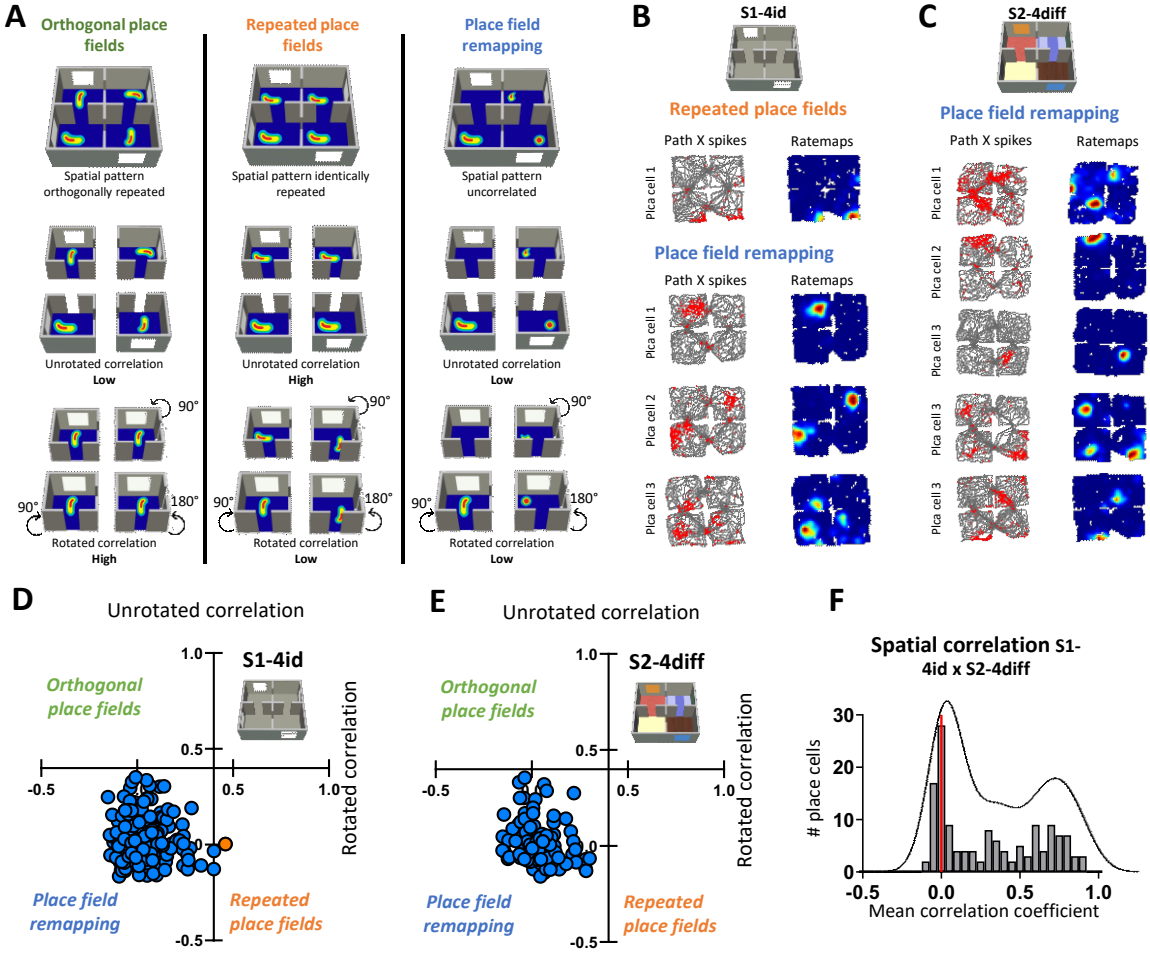


Figure 7. Hippocampal place cells activity is either repeated or remapped between 4-connected-rooms. A. Three hypothetical spatial patterns observed in the 4-connected-rooms environment (top), and the corresponding correlation values (bottom, high *vs* low) for unrotated and rotated ratemaps. **B-C.** Examples of place cells with repeating and remapping fields

between rooms for both 4-identical (S1-4id) and 4-different (S2-4diff) connected-rooms environments. **D-E.** The scatter plot of correlation values for all place cells according to the three hypothetical spatial patterns (blue: remapping fields, orange: repeated fields, green: orthogonal fields) reveals that place cells show almost exclusively remapping between rooms for both S1-4id (n = 206) and S2-4diff (n = 141). **F.** Distribution of spatial correlation values of place cells activity between S1-4id and S2-4diff and the corresponding kernel fitting curves, showing stable and unstable place cell activity.

Discussion

Since its discovery, the HD system is thought to orient animals' navigation regardless of the complexity of the environment (*Chen et al., 1994; Cho & Sharp, 2001; Dudchenko & Zinyuk, 2005; Taube et al., 1990; Taube & Burton, 1995; Yoder et al., 2011*). Here we show that alongside the HDCs that maintain the same PFD between connected spaces, the RSC contains another population of directionally modulated cells, the MDCs, having PFD that change between connected rooms. Previous studies describing MDCs activity have used rooms that are visually and tactilely identical (*Jacob et al., 2017; Zhang et al., 2022*) possibly making rooms difficult to tell apart for the rats, thus questioning the nature of the multidirectional pattern that could arise from the repetition of similar external cues. We invalidated this visual ambiguity effect by showing that MDCs activity is present when the rooms are different. In addition, we recorded BDCs where there were no odors to distinguish between rooms (unlike in previous studies), suggesting that visual and tactile information are sufficient to support the firing of BDCs and HDCs. We also observed that MDCs show opposite bidirectional activity in an environment composed of two opposite rooms, and orthogonal directional activity in four rooms arranged orthogonally. This indicates that increasing the number of connected rooms (from two to four) leads to an increase in the number of directional activities that are anchored to the relative orientation of the rooms. Analyses of cells' activity specific to the rooms revealed that MDCs have unipolar activity within each room, resembling an HDC. When following cells activity between the 2-rooms and 4-rooms environments, the MDCs maintained their multidirectional activity while the HDCs always remain unipolar and therefore never become multidirectional. This strongly suggests that MDCs and HDCs form two distinct populations of directional cells, thus challenging the hypothesis of a single HD system in which all HDCs are

integrated into a unique attractor network (*Clark & Taube, 2012; Redish et al., 1996; Skaggs et al., 1995; Zhang, 1996*). Thus, several HDCs attractor networks possibly exist in the brain (*Kornienko et al., 2018; LaChance et al., 2022; Samsonovich, 2018*), or not all RSC directional cells belong to the unique attractor network and their activity may not be explained by attractor dynamics (*Page & Jeffery, 2018; Yan et al., 2021*). Future studies will help sort out these alternative hypotheses.

A crucial question is to identify what determines the multidirectional pattern of MDCs? A possibility is that a single feature of the environment shapes this firing pattern, such as the door. However, in the 4-rooms environments, the animal can access rooms through 2 doors, each leading to an adjacent room, but we never observed MDCs with orthogonal bidirectional activity in a single room. Similarly, Zhang *et al.* study (2022) showed that MDCs have unipolar activity in single compartments while animals entered to the rooms *via* a unique central door. This suggests that the number of doors does not determine the multidirectional firing. Moreover, it is unlikely that visual cues shape MDCs firing, since the multidirectional activity is maintained in total darkness (*Jacob et al., 2017; Zhang et al., 2022*). Finally, it is unconvincing that MDCs are egocentric boundary vector cells as their PFDs are uniformly distributed in all directions and not clustered according to the orientation of the walls, as well as MDCs fire at every position and not just close to the walls (*Alexander et al., 2020*). Therefore, we propose that the key factor is not a single feature of the environment, but rather the ensemble of elements (environmental features, symmetry and orientation of the rooms, topology, navigation, goals, etc.) that make it possible to determine what constitutes the local and global reference frames. In return, these frames are essential for navigating in connected rooms.

A room limited by walls provides a single reference frame which includes both spatial and non-spatial features. In a more complex environment made of several connected rooms, there will be as many local reference frames as there will be rooms visited by the subject. A global reference frame unifies the set of local rooms into an overall representation and gives access to the spatial organization of the environment in its totality as well as to the way by which the local rooms are connected with each other (the topology). Thus, the subject can infer the most direct and efficient path between two distant places and navigate efficiently between rooms. MDCs activities are consistent with a role of the RSC in anchoring the spatial map within local reference frames, since their PFDs change each time the animal moves from one room to another. In contrast, HDCs that maintain the same PFD can anchor the spatial map in a global reference frame in multicompartment environments. Single room space as an open field is a

special case in which either the unique local reference frame merges with the global one, or there is no local reference frame but only a global one. It is therefore not surprising to observe that the activity of MDCs is lost or becomes unidirectional while HDCs activity remains unchanged (*Jacob et al., 2017; Zhang et al., 2022*).

MDCs and HDCs account for around 10% of neurons in the RSC, which also contain cells with either other spatial correlates such as position and movement (*Alexander et al., 2015, 2017, 2020; Chen et al., 1994; Cho & Sharp, 2001; Keshavarzi et al., 2021; Mao et al., 2018; Miller et al., 2019, 2021; Smith et al., 2012*) or no directly observable spatial correlates (*Auger & Maguire, 2018; Todd et al., 2019*). We analyzed non-directional cells and found that they carry spatial information that is anchored to the features of the room, *i.e.* showing repeated opposite activity in the 2-connected-rooms environments and repeated orthogonal activity in the 4-connected-rooms environments. Interestingly, we found that hippocampal place cell activity could be either different or identical between rooms, but never oppositely or orthogonally repeated as observed in the RSC, indicating that the two structures do not represent the local space in the same way. Moreover, place cells activity showed either remapping or repetition of place fields between rooms, but never the two simultaneously (*Grieves et al., 2016, 2017; Harland et al., 2017; Paz-Villagran et al., 2004; Spiers et al., 2015*). Similarly, the entorhinal cortex, which is directly connected to the RSC (*Czajkowski et al., 2013; Jones & Witter, 2007; Sugar & Witter, 2016; Van Groen & Wyss, 1992*), contains grid cells that code for animal position and are anchored to either local or global spaces but not both simultaneously (*Carpenter et al., 2015; Derdikman et al., 2009; Sanguinetti-Scheck & Brecht, 2020*). In contrast, MDCs and HDCs were observed simultaneously in the RSC. These findings highlight the RSC as the unique and critical brain structure to form spatial representations within different reference frames simultaneously. These local *vs* global representations could be conveyed to the hippocampal and entorhinal spatial systems which use one of the two reference frames, possibly depending on the information that is appropriate for the animal current behavior or current environment.

Along with findings of simultaneous coding of both allocentric and egocentric space in the RSC in humans and rodents (*Alexander et al., 2015, 2020, 2023; Byrne et al., 2007; Clark et al., 2018; Kim & Maguire, 2018; Marchette et al., 2014; Peer et al., 2019; Shine et al., 2016; Van Wijngaarden et al., 2020*), our findings suggest that the RSC system establishes a representation of space by combining different spatial dimensions. The integration of all these dimensions in

a coherent representation within the retrosplenial-entorhinal-hippocampal network may support the ability to navigate in complex spaces.

Acknowledgments

This work was supported by a grant from the Agence Nationale de la Recherche (ANR-21-CE37-0006-01), by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) and Aix-Marseille University (AMU). We thank the Spatial Cognition group for their insightful comments on the manuscript, S. Quitard for the histological work, the Olympique de Marseille and Jul. C. Laurent salary for this work was provided by the ANR grant.

Author contributions

C.L., P.Y.J. and F.S. designed the study. C.L. and P.Y.J. performed surgeries and recordings. C.L. & P.Y.J. analyzed data. All authors interpreted data and discussed results. C.L. and P.Y.J. wrote the manuscript. All authors commented and edited the manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing financial interests.

References

1. Alexander, A. S., Carstensen, L. C., Hinman, J. R., Raudies, F., Chapman, G. W. & Hasselmo, M. E. Egocentric boundary vector tuning of the retrosplenial cortex. *SCIENCE ADVANCES* (2020).

2. Alexander, A. S. & Nitz, D. A. Retrosplenial cortex maps the conjunction of internal and external spaces. *Nat Neurosci* **18**, 1143–1151 (2015).

3. Alexander, A. S. & Nitz, D. A. Spatially Periodic Activation Patterns of Retrosplenial Cortex Encode Route Sub-spaces and Distance Traveled. *Current Biology* **27**, 1551-1560.e4 (2017).

4. Alexander, A. S., Robinson, J. C., Stern, C. E. & Hasselmo, M. E. Gated transformations from egocentric to allocentric reference frames involving retrosplenial cortex, entorhinal cortex, and hippocampus. *Hippocampus* **33**, 465–487 (2023).

5. Auger, S. D. & Maguire, E. A. Retrosplenial Cortex Indexes Stability beyond the Spatial Domain. *J. Neurosci.* **38**, 1472–1481 (2018).

6. Byrne, P., Becker, S. & Burgess, N. Remembering the past and imagining the future: A neural model of spatial memory and imagery. *Psychological Review* **114**, 340–375 (2007).

7. Carpenter, F., Manson, D., Jeffery, K., Burgess, N. & Barry, C. Grid Cells Form a Global Representation of Connected Environments. *Current Biology* **25**, 1176–1182 (2015).

8. Cenquizca, L. A. & Swanson, L. W. Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews* **56**, 1–26 (2007).

9. Chen, L. L., Lin, L.-H. & Green, E. J. Head-direction cells in the rat posterior cortex. (1994).

10. Cheng, H. Y., Overington, D. W. & Jeffery, K. J. A configural context signal simultaneously but separably drives positioning and orientation of hippocampal place fields. *Hippocampus* **34**, 73–87 (2024).

11. Cho & Sharp. Head direction, place, and movement correlates for cells in the rat retrosplenial cortex. (2001).

12. Clark, B. J., Simmons, C. M., Berkowitz, L. E. & Wilber, A. A. The retrosplenial-parietal network and reference frame coordination for spatial navigation. *Behavioral Neuroscience* **132**, 416–429 (2018).

13. Clark, B. J. & Taube, J. S. Vestibular and attractor network basis of the head direction cell signal in subcortical circuits. *Front. Neural Circuits* **6**, (2012).

14. Czajkowski, R., Sugar, J., Zhang, S.-J., Couey, J. J., Ye, J. & Witter, M. P. Superficially Projecting Principal Neurons in Layer V of Medial Entorhinal Cortex in the Rat Receive Excitatory Retrosplenial Input. *J. Neurosci.* **33**, 15779–15792 (2013).

15. Derdikman, D., Whitlock, J. R., Tsao, A., Fyhn, M., Hafting, T., Moser, M.-B. & Moser, E. I. Fragmentation of grid cell maps in a multicompartment environment. *Nat Neurosci* **12**, 1325–1332 (2009).

16. Dudchenko, P. A. & Zinyuk, L. E. The formation of cognitive maps of adjacent environments: Evidence from the head direction cell system. *Behavioral Neuroscience* **119**, 1511–1523 (2005).

17. Duvelle, É., Grieves, R. M., Liu, A., Jedidi-Ayoub, S., Holeniewska, J., Harris, A., Nyberg, N., Donnarumma, F., Lefort, J. M., Jeffery, K. J., Summerfield, C., Pezzulo, G. & Spiers, H. J. Hippocampal place cells encode global location but not connectivity in a complex space. *Current Biology* **31**, 1221-1233.e9 (2021).

18. Grieves, R. M., Duvelle, É., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex. *Journal of Neurophysiology* **118**, 2378–2388 (2017).

19. Grieves, R. M., Jenkins, B. W., Harland, B. C., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Place field repetition and spatial learning in a multicompartment environment. *Hippocampus* **26**, 118–134 (2016).

20. Harland, B., Grieves, R. M., Bett, D., Stentiford, R., Wood, E. R. & Dudchenko, P. A. Lesions of the Head Direction Cell System Increase Hippocampal Place Field Repetition. *Current Biology* **27**, 2706-2712.e2 (2017).

21. Jacob, P.-Y., Casali, G., Spieser, L., Page, H., Overington, D. & Jeffery, K. An independent, landmark-dominated head-direction signal in dysgranular retrosplenial cortex. *Nat Neurosci* **20**, 173–175 (2017).

22. Jones, B. F. & Witter, M. P. Cingulate cortex projections to the parahippocampal region and hippocampal formation in the rat. *Hippocampus* **17**, 957–976 (2007).

23. Keshavarzi, S., Bracey, E. F., Faville, R. A., Campagner, D., Tyson, A. L., Lenzi, S. C., Branco, T. & Margrie, T. W. The retrosplenial cortex combines internal and external cues to encode head velocity during navigation. Preprint at https://doi.org/10.1101/2021.01.22.427789 (2021).

24. Kim, M. & Maguire, E. A. Hippocampus, Retrosplenial and Parahippocampal Cortices Encode Multicompartment 3D Space in a Hierarchical Manner. *Cerebral Cortex* **28**, 1898–1909 (2018).

25. Kornienko, O., Latuske, P., Bassler, M., Kohler, L. & Allen, K. Non-rhythmic head-direction cells in the parahippocampal region are not constrained by attractor network dynamics. *eLife* **7**, e35949 (2018).

26. LaChance, P. A., Graham, J., Shapiro, B. L., Morris, A. J. & Taube, J. S. Landmark-modulated directional coding in postrhinal cortex. *Sci. Adv.* **8**, eabg8404 (2022).

27. Lomi, E., Mathiasen, M. L., Cheng, H. Y., Zhang, N., Aggleton, J. P., Mitchell, A. S. & Jeffery, K. J. Evidence for two distinct thalamocortical circuits in retrosplenial cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* **185**, 107525 (2021).

28. Lozano, Y. R., Page, H., Jacob, P.-Y., Lomi, E., Street, J. & Jeffery, K. Retrosplenial and postsubicular head direction cells compared during visual landmark discrimination. *Brain and Neuroscience Advances* **1**, 239821281772185 (2017).

29. Mao, D., Kandler, S., McNaughton, B. L. & Bonin, V. Sparse orthogonal population representation of spatial context in the retrosplenial cortex. *Nat Commun* **8**, 243 (2017).

30. Mao, D., Neumann, A. R., Sun, J., Bonin, V., Mohajerani, M. H. & McNaughton, B. L. Hippocampus-dependent emergence of spatial sequence coding in retrosplenial cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115**, 8015–8018 (2018).

31. Marchette, S. A., Vass, L. K., Ryan, J. & Epstein, R. A. Anchoring the neural compass: coding of local spatial reference frames in human medial parietal lobe. *Nat Neurosci* **17**, 1598–1606 (2014).

32. Milczarek, M. M., Vann, S. D. & Sengpiel, F. Spatial Memory Engram in the Mouse Retrosplenial Cortex. *Current Biology* **28**, 1975-1980.e6 (2018).

33. Miller, A. M. P., Serrichio, A. C. & Smith, D. M. Dual-Factor Representation of the Environmental Context in the Retrosplenial Cortex. *Cerebral Cortex* **31**, 2720–2728 (2021).

34. Miller, A. M. P., Mau, W. & Smith, D. M. Retrosplenial Cortical Representations of Space and Future Goal Locations Develop with Learning. *Current Biology* **29**, 2083-2090.e4 (2019).

35. Mitchell, A. S., Czajkowski, R., Zhang, N., Jeffery, K. & Nelson, A. J. D. Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain and Neuroscience Advances* **2**, 239821281875709 (2018).

36. Miyashita, T. & Rockland, K. S. GABAergic projections from the hippocampus to the retrosplenial cortex in the rat. *Eur J of Neuroscience* **26**, 1193–1204 (2007).

37. Muller, R., Kubie, J. & Ranck, J. Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. *J. Neurosci.* **7**, 1935–1950 (1987).

38. Naber, P. A., Lopes Da Silva, F. H. & Witter, M. P. Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus* **11**, 99–104 (2001).

39. Page, H. J. I. & Jeffery, K. J. Landmark-Based Updating of the Head Direction System by Retrosplenial Cortex: A Computational Model. *Front. Cell. Neurosci.* **12**, 191 (2018).

40. Paxinos, G. & Watson, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. (Academic Press, 6th edn., 2007).

41. Paz-Villagrán, V., Save, E. & Poucet, B. Independent coding of connected environments by place cells. *Eur J of Neuroscience* **20**, 1379–1390 (2004).

42. Peer, M., Ron, Y., Monsa, R. & Arzy, S. Processing of different spatial scales in the human brain. *eLife* **8**, e47492 (2019).

43. Redish, A. D., Elga, A. N. & Touretzky, D. S. A coupled attractor model of the rodent head direction system. (1996).

44. Samsonovich, A. V. A Continuous-Attractor Model of Flip Cell Phenomena. in *Biologically Inspired Cognitive Architectures (BICA) for Young Scientists* (eds. Samsonovich, A. V. & Klimov, V. V.) vol. 636 163–172 (Springer International Publishing, Cham, 2018).

45. Sanguinetti-Scheck, J. I. & Brecht, M. Home, head direction stability, and grid cell distortion. *Journal of Neurophysiology* **123**, 1392–1406 (2020).

46. Sherrill, K. R., Erdem, U. M., Ross, R. S., Brown, T. I., Hasselmo, M. E. & Stern, C. E. Hippocampus and Retrosplenial Cortex Combine Path Integration Signals for Successful Navigation. *J. Neurosci.* **33**, 19304–19313 (2013).

47. Shine, J. P., Valdés-Herrera, J. P., Hegarty, M. & Wolbers, T. The Human Retrosplenial Cortex and Thalamus Code Head Direction in a Global Reference Frame. *J. Neurosci.* **36**, 6371–6381 (2016).

48. Skaggs, W. E., Knierim, J. J., Kudrimoti, H. S. & McNaughton, B. L. A Model of the Neural Basis of the Rat's Sense of Direction. (1995).

49. Skaggs, W. E. & McNaughton, B. L. Spatial Firing Properties of Hippocampal CA1 Populations in an Environment Containing Two Visually Identical Regions. *J. Neurosci.* **18**, 8455–8466 (1998).

50. Smith, D. M., Barredo, J. & Mizumori, S. J. Y. Complimentary roles of the hippocampus and retrosplenial cortex in behavioral context discrimination. *Hippocampus* **22**, 1121–1133 (2012).

51. Spiers, H. J., Hayman, R. M. A., Jovalekic, A., Marozzi, E. & Jeffery, K. J. Place Field Repetition and Purely Local Remapping in a Multicompartment Environment. *Cerebral Cortex* **25**, 10–25 (2015).

52. Subramanian, D. L., Miller, A. M. P. & Smith, D. M. A comparison of hippocampal and retrosplenial cortical spatial and contextual firing patterns. *Hippocampus* **34**, 357–377 (2024).

53. Sugar, J. & Witter, M. P. Postnatal development of retrosplenial projections to the parahippocampal region of the rat. *eLife* **5**, e13925 (2016).

54. Sulpizio, V., Committeri, G., Lambrey, S., Berthoz, A. & Galati, G. Selective role of lingual/parahippocampal gyrus and retrosplenial complex in spatial memory across viewpoint changes relative to the environmental reference frame. *Behavioural Brain Research* **242**, 62–75 (2013).

55. Takahashi, N., Kawamura, M., Shiota, J., Kasahata, N. & Hirayama, K. Pure topographic disorientation due to right retrosplenial lesion. *Neurology* **49**, 464–469 (1997).

56. Taube, J. S. & Burton, H. L. Head direction cell activity monitored in a novel environment and during a cue conflict situation. *Journal of Neurophysiology* **74**, 1953–1971 (1995).

57. Taube, J., Muller, R. & Ranck, J. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J. Neurosci.* **10**, 420–435 (1990).

58. Todd, T. P., Fournier, D. I. & Bucci, D. J. Retrosplenial cortex and its role in cue-specific learning and memory. *Neurosci Biobehav Rev* **107**, 713–728 (2019).

59. Van Groen, T. & Michael Wyss, J. Connections of the retrosplenial granular a cortex in the rat. *J of Comparative Neurology* **300**, 593–606 (1990).

60. Van Groen, T. & Wyss, J. M. Connections of the retrosplenial granular b cortex in the rat. *J of Comparative Neurology* **463**, 249–263 (2003).

61. Van Wijngaarden, J. B., Babl, S. S. & Ito, H. T. Entorhinal-retrosplenial circuits for allocentric-egocentric transformation of boundary coding. *eLife* **9**, e59816 (2020).

62. Vedder, L. C., Miller, A. M. P., Harrison, M. B. & Smith, D. M. Retrosplenial Cortical Neurons Encode Navigational Cues, Trajectories and Reward Locations During Goal Directed Navigation. *Cereb. Cortex* cercor;bhw192v1 (2016).

63. Vélez-Fort, M., Bracey, E. F., Keshavarzi, S., Rousseau, C. V., Cossell, L., Lenzi, S. C., Strom, M. & Margrie, T. W. A Circuit for Integration of Head- and Visual-Motion Signals in Layer 6 of Mouse Primary Visual Cortex. *Neuron* **98**, 179-191.e6 (2018).

64. Vogt, B. A. & Miller, M. W. Cortical connections between rat cingulate cortex and visual, motor, and postsubicular cortices. *J of Comparative Neurology* **216**, 192–210 (1983).

65. Wyss, J. M. & Van Groen, T. Connections between the retrosplenial cortex and the hippocampal formation in the rat: A review. *Hippocampus* **2**, 1–11 (1992).

66. Xie, H., Liu, Y., Zhu, Y., Ding, X., Yang, Y. & Guan, J.-S. In vivo imaging of immediate early gene expression reveals layer-specific memory traces in the mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **111**, 2788–2793 (2014).

67. Yan, Y., Burgess, N. & Bicanski, A. A model of head direction and landmark coding in complex environments. *PLoS Comput Biol* **17**, e1009434 (2021).

68. Yoder, R. M., Clark, B. J., Brown, J. E., Lamia, M. V., Valerio, S., Shinder, M. E. & Taube, J. S. Both visual and idiothetic cues contribute to head direction cell stability during navigation along complex routes. *Journal of Neurophysiology* **105**, 2989–3001 (2011).

69. Zhang, K. Representation of spatial orientation by the intrinsic dynamics of the head-direction cell ensemble: a theory. *J. Neurosci.* **16**, 2112–2126 (1996).

70. Zhang, N., Grieves, R. M. & Jeffery, K. J. Environment Symmetry Drives a Multidirectional Code in Rat Retrosplenial Cortex. *J. Neurosci.* **42**, 9227–9241 (2022).

Article publié dans la revue Progress in Neurobiology :

Contents lists available at ScienceDirect

Progress in Neurobiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pneurobio

Long-lasting spatial memory deficits and impaired hippocampal plasticity following unilateral vestibular loss

Nada El Mahmoudi [a,*], Célia Laurent [a], David Péricat [b], Isabelle Watabe [a], Agnès Lapotre [a], Pierre-Yves Jacob [a], Alain Tonetto [c], Brahim Tighilet [a], Francesca Sargolini [a,*]

[a] Aix-Marseille Université -CNRS, Laboratoire de Neurosciences Cognitives, LNC UMR 7291, Centre Saint Charles, Case C; 3 Place Victor Hugo, 13331, Marseille Cedex 03, France
[b] Université de Toulouse Paul Sabatier -CNRS, Institut de pharmacologie et de biologie structurale, Toulouse, France
[c] Aix Marseille Université-CNRS, Centrale Marseille, FSCM (FR 1739), PRATIM, F-13397 Marseille, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Unilateral vestibular loss
Vestibular compensation
Spatial navigation
Spatial memory
Hippocampus

ABSTRACT

Unilateral vestibular loss (UVL) induces a characteristic vestibular syndrome composed of various posturo-locomotor, oculomotor, vegetative and perceptivo-cognitive symptoms. Functional deficits are progressively recovered over time during vestibular compensation, that is supported by the expression of multiscale plasticity mechanisms. While the dynamic of post-UVL posturo-locomotor and oculomotor deficits is well characterized, the expression over time of the cognitive deficits, and in particular spatial memory deficits, is still debated. In this study we aimed at investigating spatial memory deficits and their recovery in a rat model of unilateral vestibular neurectomy (UVN), using a wide spectrum of behavioral tasks. In parallel, we analyzed markers of hippocampal plasticity involved in learning and memory. Our results indicate the UVN affects all domains of spatial memory, from working memory to reference memory and object-in-place recognition. These deficits are associated with long-lasting impaired plasticity in the ipsilesional hippocampus. These results highlight the crucial role of symmetrical vestibular information in spatial memory and contribute to a better understanding of the cognitive disorders observed in vestibular patients.

1. Introduction

Vestibular receptors located in the inner ears detect linear and angular head accelerations, including earth gravity. This information is conveyed to the vestibular nuclei (VNs) located in the brainstem, before being broadcasted to a large spectrum of brain structures, including cortical and subcortical areas. Based on these anatomical properties, it is not surprising that the vestibular system participates in numerous functions including postural and motor control, spatial navigation and memory (Cullen, 2019, 2012; McCall et al., 2017; Vidal et al., 2015).

The impact of complete deprivation of vestibular inputs on spatial memory has already been reported in previous studies using models of bilateral vestibular loss (BVL) (Baek et al., 2010; Besnard et al., 2012; Zheng et al., 2007). However, little is known about the consequences of unilateral vestibular loss (UVL), although it has the highest prevalence in vestibular patients (for review see Brandt and Dieterich, 2017).

UVL is well known to induce a characteristic vestibular syndrome composed of posturo-locomotor, oculomotor, vegetative and perceptivo-cognitive symptoms (Bronstein and Dieterich, 2019; Uffer and Hegemann, 2016). The underlying mechanisms involve the appearance of an electrophysiological imbalance between the ipsi- and contra-lesional VNs provoked by the unilateral loss of peripheral vestibular inputs to the VNs (Dutia, 2010; Mccabe and Ryu, 1969; Precht et al., 1966). With time, the restoration of the electrophysiological balance between VNs leads to a progressive and spontaneous functional recovery called vestibular compensation (Curthoys and Halmagyi, 1995; Darlington and Smith, 2000; Lacour et al., 2016; Smith and Curthoys, 1989). Vestibular compensation is supported by multifactorial mechanisms acting at various temporal and spatial scales. A non-exhaustive list includes the reorganization of neuronal networks connectivity (Grosch et al., 2021; Zwergal et al., 2016), sensorimotor substitution (Jamali et al., 2014; Sadeghi et al., 2011, 2010; Zennou-Azogui et al., 1994), modifications of second-order vestibular neuron's properties (Beraneck et al., 2004, 2003) and an intense expression of adaptative plasticity mechanisms in the ipsilesional VNs (for review see Tighilet and Chabbert, 2019).

The implication of these mechanisms in the restoration of posturo-

* Corresponding authors.
E-mail addresses: nada.el-mahmoudi@esi-frankfurt.de, nada.elmahmoudi@gmail.com (N. El Mahmoudi), francesca.sargolini@univ-amu.fr (F. Sargolini).

https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2023.102403
Received 3 August 2022; Received in revised form 25 November 2022; Accepted 4 January 2023
Available online 21 February 2023
0301-0082/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

locomotor and oculomotor functions following UVL has been well documented (Curthoys and Halmagyi, 1995; Dutheil et al., 2016, 2009; Mao et al., 2021; Zennou-Azogui et al., 1996, 1994). However, it is still unclear whether the same mechanisms could help restoring cognitive functions, such as spatial memory. Studies in the literature have indeed reported conflicted results regarding the expression and recovery of spatial memory deficits during vestibular compensation, in both humans and rodents (Chapuis et al., 1992; Guidetti et al., 2020, 2007; Hüfner et al., 2007; Nguyen et al., 2021; Péruch et al., 2005, 1999; Zheng et al., 2006). This discrepancy possibly arises from the use of different behavioral paradigms that test distinct spatial memory processes (i.e. spatial reference memory, working memory, recognition memory, etc.) (Bannerman et al., 2014, 2008; Niewoehner et al., 2007). So far, no study has considered all domains of spatial memory when evaluating deficits caused by UVL. This is precisely the purpose of our study, that aimed at providing a comprehensive description of spatial memory deficits following UVL using a wide spectrum of behavioral paradigms, in adult rats submitted to unilateral vestibular neurectomy (UVN). In parallel, we analyzed the expression of plasticity mechanisms within the dorsal hippocampus, to characterize the cellular processes involved in UVN-induced spatial cognitive deficits. In particular, we focused on the expression of the GluN2B subunit of the NMDA receptor in the CA3 region and cell proliferation in the dentate gyrus (DG), both impaired following bilateral BVL (Besnard et al., 2012; Truchet et al., 2019; Zheng et al., 2012). Behavioral performance and hippocampal plasticity were assessed at different time points after UVN, thus allowing to draw a dynamic picture of cognitive and cellular deficits post-UVN and the possible restoration of both functions during vestibular compensation.

2. Materials & methods

2.1. Study design

We evaluated mid- and long-term behavioral impairments following

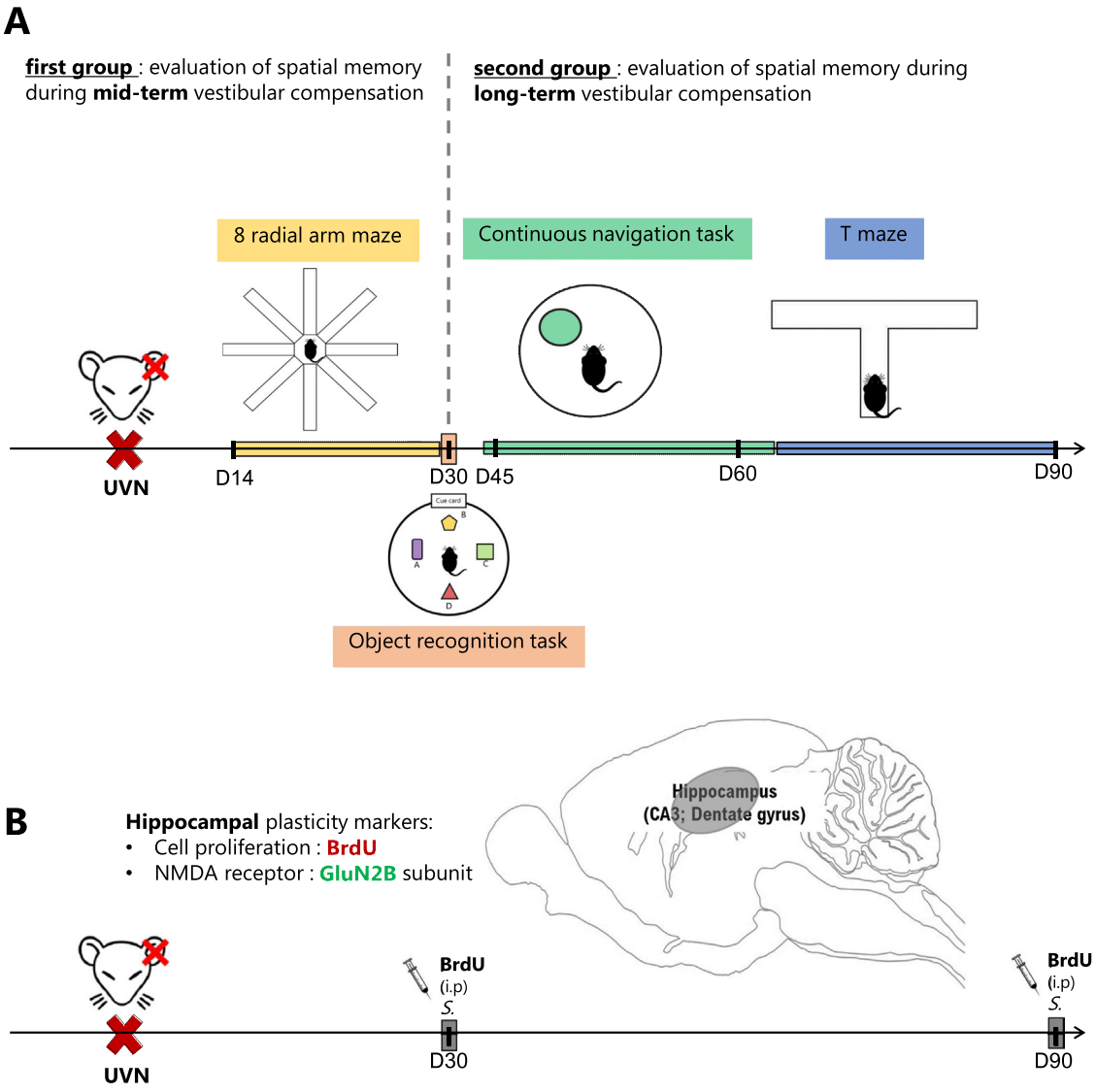


Fig. 1. : Study design. A. Experimental protocol used to study the effects of unilateral vestibular neurectomy (UVN) on spatial memory. A first group of animals composed of sham (n = 14) and UVN (n = 10) rats was trained in radial arm maze (spatial working memory) and object recognition tasks during mid-term vestibular compensation (from the 14th to the 30th day post-UVN). A second group of animals composed of sham (n = 8) and UVN (n = 9) rats was trained in the continuous navigation task (spatial reference memory) and in the T maze (spatial working memory) during long-term vestibular compensation (from the 45th to the 90th day post-UVN). **B.** At the end of behavioral trainings, animals were injected with intraperitoneal (i.p) 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU: 200 mg/kg) and sacrificed (S.) by intracardiac PFA perfusion for immunohistochemistry. Expression of cell proliferation (BrdU) and NMDA receptor (GluN2B subunit) was visualized within the dorsal hippocampus in both ipsi (left) and contralesional (right) part of the dentate gyrus (DG) and the CA3 in both UVN and sham groups.

unilateral vestibular neurectomy (UVN), using behavioral tasks assessing different spatial cognitive functions: from spatial working memory to reference memory and object-in-place recognition (Fig. 1**A**). We decided to use a large panel of tasks throughout the entire post-UVN period instead of using the same at both mid-term and long-term, so as to provide a broad description of UVN induced spatial impairments. It is worth mentioning that this strategy may have some limitations, but these can be partially overcome by the comparison between tasks sharing common processes (i.e. allocentric or egocentric). For all rats, the appearance of a characteristic vestibular syndrome at animals' awakening proved the success of UVN. In the mid-term group, spatial memory evaluations (radial arm maze and object recognition) started the 14th day post-UVN since most posturo-locomotor deficits were compensated at this time in all UVN animals. Indeed, posturo-locomotor and vestibular deficits involved in the vestibular syndrome and their recovery were evaluated in the same rats, and these results were published in a separate study (El Mahmoudi et al., 2021). For the long-term group, animals were tested in the continuous navigation task and the T-maze from the 45th day post-UVN. At the end of the behavioral protocols (Fig. 1**B**) all animals were injected with 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU: 200 mg/kg) and sacrificed by intracardiac PFA perfusion to quantify, at the level of the dorsal hippocampus, both cell proliferation and the expression of NMDA receptor subunit GluN2B, two markers of cellular plasticity involved in spatial memory (Deng et al., 2010; Drapeau et al., 2003; Halt et al., 2012; Shipton and Paulsen, 2014).

2.2. Animals & ethical statements

41 adult Long Evans female rats weighing between 250 and 350 g (10–12 weeks old at the beginning of the study) were used in this study. All experiments were performed in accordance with the National Institute of Health's Guide for Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication no. 80–23) revised in 1996 for the UK Animals (Scientific Procedures) Act of 1986 and associated guidelines or the Policy on Ethics approved by the Society for Neuroscience in November 1989 and amended in November 1993 and under veterinary and National Ethical Committee supervision (French Agriculture Ministry Authorization). The present study was specifically approved by Neurosciences Ethics Committee N°71 of the French National Committee of animal experimentation (APAFIS #33363). Every effort was made to minimize both the number and the suffering of animals used in this experiment. Food was restricted to 4 pellets per rat per day starting from the 14th-day post-surgery and weight was monitored to ensure it would not decrease below 90% of the free-feeding weight. Rats had free access to water and were housed with a littermate in a temperature- and humidity-controlled colony room that was kept on an 12:12 h light: dark cycle.

2.3. Unilateral vestibular neurectomy (UVN)

Unilateral vestibular loss was induced by left unilateral vestibular neurectomy (UVN) consisting in sectioning the left vestibular nerve (Péricat et al., 2017). Briefly, animals were anesthetized with isoflurane (4%) 30 min after a subcutaneous injection of buprenorphine (Buprecare®; 0.02 mg/kg). The animals were intubated, and the anaesthesia was maintained during the surgery with isoflurane (3%). To access the left vestibular nerve, the tympanic bulla approach was used (see Péricat et al., 2017 for details). The left vestibular nerve was then sectioned at a post-ganglion level, close to the brainstem. For the sham groups, the surgery was limited to the perforation of the tympanic bulla. Before awakening, animals were injected subcutaneously with a solution of Ringer Lactate (Virbac; 10 ml/kg) to alleviate the dehydration resulting from the surgery. The success of the UVN (n = 19) was attested by the immediate appearance of postural, locomotor, and oculomotor deficits (Péricat et al., 2017). UVN rats were injected daily with NaCl 0.9% (2 ml/kg) to prevent from dehydration during the acute phase of the vestibular syndrome (first 3 post-lesional days).

2.4. Behavioral procedures: evaluation of spatial memory

Animals were handled daily for 1 week before the beginning of the study to reduce their stress during the experiments.

2.4.1. 8-arm radial maze task

2.4.1.1. Behavioural procedure. Spatial working memory was assessed in a 8-arm radial maze task, according to (Martineau et al., 2019). The apparatus consisted of an elevated (50 cm high) maze with eight arms (50 cm long, 10 cm wide) radiating from an octagonal central platform (20 cm in diameter) with a food cup (5 cm diameter) located at the end of each arm. Rats had access to several visual extra maze cues in the room during the task. Rat's behavior was monitored using a video-tracking system (EthoVision XT 15, Noldus) with a camera placed above the maze. First, rats were habituated to the maze by letting them explore the apparatus with their littermates for 10 min twice a day for 2 days. Food rewards (Kellogg's Cocopop's) were randomly scattered all over the floor. Then, they underwent a total of 20 training sessions during 10 consecutive days. The 2 training sessions in one day were spaced by at least 2 h. A typical training session consisted in placing the animals individually in the central platform and allowing them to visit all 8 baited arms to eat the Cocopop's (1 per arm) with a time limit of 5 min. Each time the rat re-entered a previously visited arm it was scored as a repetition error. If the rat omitted an arm, it was scored as an omission error.

2.4.1.2. Data analyses. Data were analyzed using custom programs (Matlab®). For all analyses, the daily performance was assessed by averaging the results from the 2 daily sessions, for each rat. All statistical analyses were performed with GraphPad Prism 9. Percentage data were transformed using the square root of the arcsin function, for parametric statistical analyses. Normality was assessed using D'Agostino & Pearson test. Correlations were performed using Pearson's test. Results were considered significant for $p < 0.05$.

The mean velocity (cm/s) and the percentage of time spent in each part of the maze were calculated from (x,y) coordinates of the center-point of the animals (EthovisionXT 15). The sequence of arms visits was scored during each session for each rat. The total number of errors across training days was calculated for each rat. We also calculated the percentage of time animals spent in the center platform and within each arm of the maze. For these parameters, UVN and sham groups were compared using 2-way Repeated-Measure (RM) ANOVA followed by Sidak's multiple comparisons test.

To test whether UVN and sham groups used different strategies to solve the task we calculated the angular distance between two consecutively visited arms (Fig. 2**A**) and we averaged all angles for each session using the circ_*mean* function on Matlab® (Berens, 2009). We also calculated the angular deviation (circular standard deviation) of the sequence of angles performed in each session, using the *circ_std* function on Matlab® (Berens, 2009). UVN and sham group were compared using a 2-way RM ANOVA followed by Sidak's multiple comparisons test.

Finally, we tested whether rats had a directional bias for the ipsilesional side (i.e., the left side) by quantifying the percentage of ipsilesional turns between 2 consecutively visited arms over the total number of left and right turns, in each session. We used a 2-way RM ANOVA, following by Sidak's multiple comparisons test to compare UVN and sham group over the 10 training days. Then we average the percentage of ipsilesional turns during the first 10 sessions (day 1 – day 5) and the last 10 sessions, and we used the unpaired 2-sample-t-test to compare UVN and sham groups.

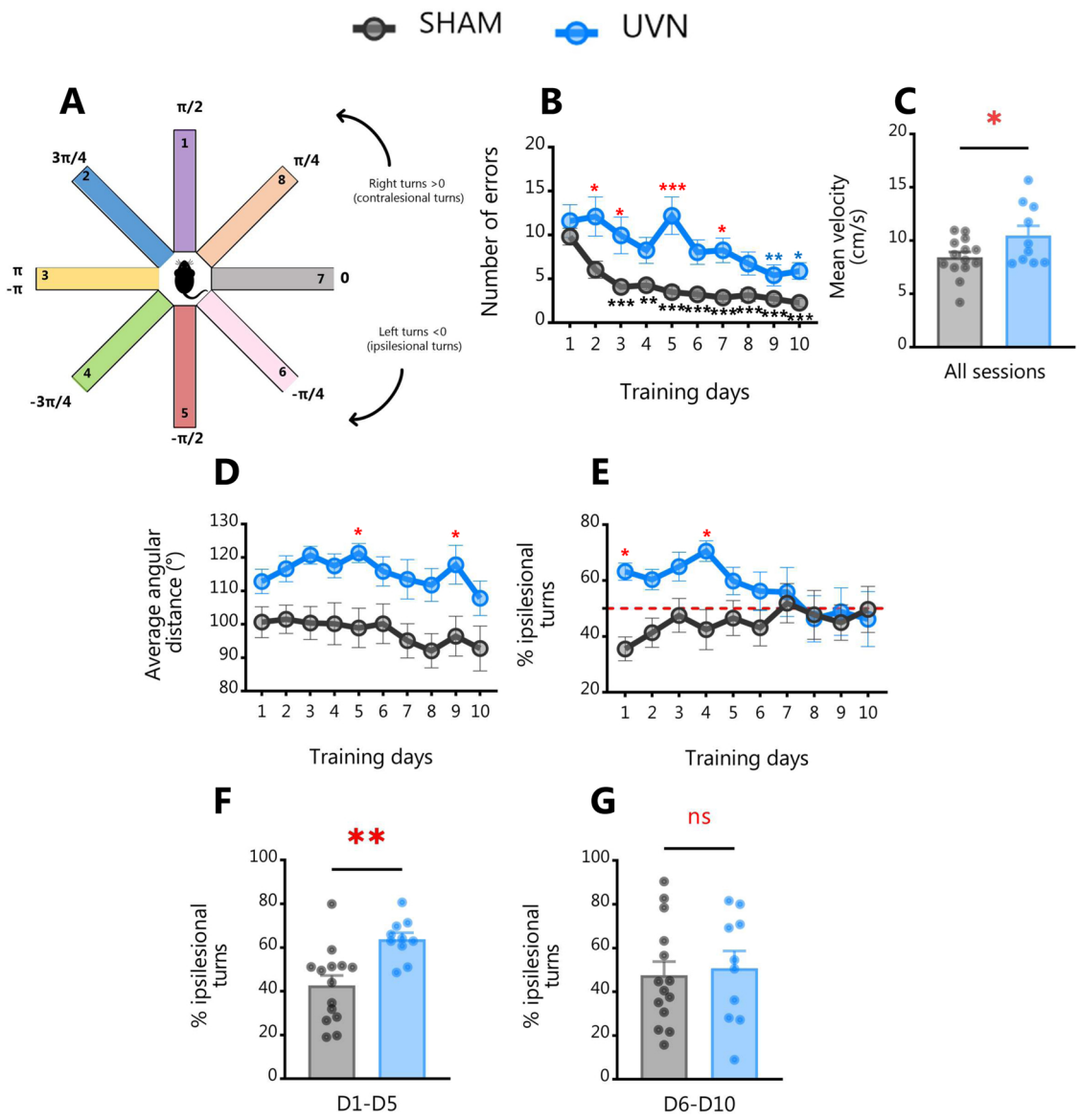


Fig. 2. : Mid-term UVN-induced deficits in spatial working memory. A. Schematic representation of the apparatus. Each arm was associated with an angular value to determine the average angular distance and the directionality (left or right) between 2 consecutively visited arms. **B.** Number of errors across training days for the sham and UVN group; results are expressed as mean ± standard error (SEM). *p < 0.05; * *p < 0.01; * **p < 0.001; Sidak post-hoc comparisons between sham and UVN groups within training days are represented by red * ; Sidak post-hoc comparisons between training days within each group are represented with black (sham) and blue (UVN) * . **C.** Mean velocity (cm/s) ± SEM across all training sessions for the sham and UVN group; each dot represents one rat. *p < 0.05; Sidak post-hoc comparison between groups. **D.** Mean (± SEM) angular distance between 2 consecutively visited arms for the sham and UVN groups across training days.*p < 0.05; Sidak post-hoc comparisons between groups within training days. **E.** Percentage (± SEM) of ipsilesional turns between 2 consecutively visited arms for the sham and UVN groups across training days; the dashed line indicates the chance value (i.e. 50%, left and right arms are equally chosen). *p < 0.05; Sidak post-hoc comparisons between groups within training days. **F.** Percentage (± SEM) of ipsilesional turns during the first 5 training days for the sham and UVN groups; each dot represents one rat. * *p < 0.01; unpaired 2-sample-t-test. **G.** Percentage (± SEM) of ipsilesional turns during the last 5 training days for the sham and UVN groups; each dor represents one rat. ns; unpaired 2-sample-t-test.

2.4.2. *Object recognition*

2.4.2.1. Behavioural procedure. Object recognition was assessed as in (Rodo et al., 2017; Van Cauter et al., 2013). The apparatus was a circular open field (100 cm diameter, walls 50 cm high) with a white cue card attached to one wall to polarize the environment. The open field was surrounded by a white curtain to mask distal cues from the room. An overhead camera was placed above the open field, connected to a video-tracking system (Videotrack, Viewpoint). The behavioral protocol included 10 consecutive 4 min-sessions separated by 4 min intervals during which the animals returned to their home cage. During the first familiarization session, no object was inserted in the open field. In session 2, 4 different objects were placed in a fixed configuration until session 7. In session 8, one of the objects was moved to a new position (spatial change) and in session 10, a familiar object was replaced by a novel object at the same location (object change).

2.4.2.2. Data analyses. A videotracking system (Videotrack, Viewpoint, Champagne-au-Mont-d'Or, France) was used to record and analyze animal locomotion and object exploration. The system tracked both the body and nose of the rat therefore allowing measurement of the distance traveled and the time spent exploring each object, respectively. Exploring an object was defined as directing the snout at a distance of less than 2 cm from the object, most usually touching the object and

actively exploring it (Rodo et al., 2017).

To analyze the time-course of locomotion and object exploration during habituation sessions (S1 to S7), we used 2-way RM ANOVA followed by Sidak's multiple comparison test. Reaction to spatial change was evaluated by calculating a Spatial Change Index (SCI) separately for each category of objects, i.e., the displaced object (one object) and the non-displaced objects (3 objects). SCI is the difference in the time spent exploring the objects (averaged time for the 3 non-displaced objects) between session 8 and session 7. Finally, reaction to non-spatial change, was evaluated by calculating an Object Change Index (OCI) as the time spent exploring the novel object minus the averaged time spent exploring the familiar objects in session 10. An unpaired 2-sample t-test was used to analyze possible differences in SCI and OCI between UVN and sham groups.

2.4.3. Continuous navigation task

2.4.3.1. Behavioural procedure. To assess post-UVN spatial reference memory deficits, we used a continuous navigation task that was originally designed to characterize hippocampal place cell activity (Rossier et al., 2000). The behavioral procedure was similar to that described in (Blanquat et al., 2013). The apparatus was a black circular open field (100 cm diameter, with walls 50 cm high) with an overhead camera connected to a video-tracking system (Ethovision15XT, Noldus) surrounded by a white curtain. A white cue card was attached to the wall to polarize the environment. A virtual (i.e., unmarked) goal zone of 18 cm diameter was delimited in the open field and remained in the same location during the entire behavioral protocol. Each time the rat crossed the goal zone a food reward (a sugar pellet) was released from a food dispenser located above the apparatus. The rat had to retrieve the sugar pellet before re-entering the goal zone. The behavioral protocol started with two 10-min habituation sessions (in two consecutive days) that consisted in placing the rats in the open field with their littermate for 10 min with food rewards scattered over the floor. During the successive training sessions, rats were placed individually in the open field for six 10-min-sessions during 6 consecutive days.

2.4.3.2. Data analyses. We used Ethovision15XT to track the center of the body, the nose, and the base of the tail. We calculated the frequency of entries in the goal zone and in three equivalent zones (i.e., control zones) located in the three remaining quadrants (Fig. 5**A**). An entry was scored when the body center, the nose and the tail base were simultaneously detected in the zone. Data collected from session 2 to session 6 were normalized for each rat by dividing the frequency of entries in each session by the frequency of entries scored in session 1. Then, we calculated a goal zone preference index as the ratio between the number of entries in the goal zone and the average number of entries in the three control zones, for each rat from session 2–6. For each session we also calculated the mean velocity and we evaluated thigmotactic behavior (i.e., the tendency to remain close to the wall) as the percentage of time spent in the outer 20 cm zone of the open field (Fig. 5**D**). The size of the outer zone was defined based on previous studies in rat (Harris et al., 2009; Lukoyanov and Paula-Barbosa, 2000). For all measures (goal zone preference index, mean velocity and thigmotaxis) we used a 2-way RM ANOVA followed by Sidak's multiple comparisons test to analyze possible differences between UVN and sham groups.

2.4.4. T-maze alternation

2.4.4.1. Behavioural procedure. The T-maze alternation task was performed as in (Deacon and Rawlins, 2006; Granon et al., 1995). The apparatus consisted of an opaque Plexiglas T-maze (50 cm long, 10 cm large, walls: 25 cm high) elevated at 50 cm from the floor and surrounded by white curtains, with a camera placed above and connected to a video-tracking system (Videotrack, Viewpoint). A food cup (5 cm diameter) was located at the end of each arm (Fig. 6**A**). Before the training, animals were habituated by letting them explore the apparatus with their littermate for two 10-minutes sessions spaced by a 2-hour delay. Food pellets (Kelllogs chocopops) were randomly scattered on the floor. Then, rats were trained once a day for 5 days, each training session including 10 trials. A typical trial included two runs, a sample run, and a test run separated by a 5 s delay. The inter-trial interval was 3 min. During the sample run, the rat had access to one arm (left or right) containing a food reward while the other arm, also containing a food reward, was blocked with a guillotine door. Once the animal has eaten the reward, it was replaced at the start of the maze for the test run, and the guillotine door blocking the other arm was removed. The rat had to choose the unvisited arm to perform correctly. For the sample run, left or right arms were chosen 5 times each in a pseudo-random order.

2.4.4.2. Data analyses. Rat performance was expressed as the percentage of correct responses in each session. For the UVN group, we calculated the percentage of ipsilesional and contralesional errors. Ipsilesional errors correspond to incorrect choices of the left arm (the correct choice being the right arm) and contralesional errors correspond to incorrect choices of the right arm (the correct choice being the left arm). A 2-way RM ANOVA followed by Sidak's multiple comparisons test was used for all comparisons.

2.5. Cellular investigations

2.5.1. Tissue preparation

At the end of the behavioral protocols (day 30 for the first group – mid-term evaluations; day 90 for the second group – long-term evaluations (Fig. 1**B**), animals received an *i.p* injection of 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU: 200 mg/kg) dissolved in NaCl 0.9% and were sacrificed (n = 4 per group) to assess the expression of plasticity markers in the dorsal hippocampus. The rats were deeply anesthetized with a mixture of ketamine (Imalgène 1000®, 60 mg/kg) and medetomidine (Domitor®, 0.25 mg/kg) for intracardiac perfusion. First, an intracardiac injection of 400 ml of isotonic saline (0.9% NaCl) was performed, followed by an injection of 400 ml of freshly prepared paraformaldehyde (PFA) solution (4% PFA in 0.1 M phosphate buffer (PB), pH 7.4). At the end of the perfusion, brains were extracted and post-fixed overnight at 4 °C in 4% PFA solution. Brains were then rinsed and cryoprotected with successive baths into sucrose solutions at increasing concentrations (10%, 20%, 30% of D-saccharose in 0.1 M PB each for 24 h at 4 °C). They were then frozen in dry ice and cut into serial 40 μm coronal sections with a cryostat (Leica) for immunochemistry.

2.5.2. Immunohistochemistry

Immunohistochemical labelling was performed according to previously validated protocols (Dutheil et al., 2016, 2013; El Mahmoudi et al., 2021; Rastoldo et al., 2021; Tighilet et al., 2007). Briefly, coronal sections of the dorsal hippocampus, mounted on slices (SuperFrost Plus®, ThermoFisher) were first rinsed in 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS) (3x5min) before being saturated and permeabilized with a solution of Bovine Serum Albumin (BSA) 5%; Triton X-100,0.3% for 1 h. Incubation with primary antibody were performed in a solution of PBS 0.1 M; BSA 5%; Triton X-100 0.3% (24 h; 4 °C). For BrdU immunohistochemistry, sections were incubated with a BrdU antibody (1:100, Dako, M0744). For NMDA receptor subunit GluN2B we used an anti-GluN2B antibody (1:200, Alomone labs, AGC-003). Sections were then incubated in secondary antibodies dissolved in PBS 0.1 M for 1 h. We used goat anti-rabbit conjugated with Alexa Fluor 488 (1:500, Invitrogen, A11008) and goat anti-mouse IgG conjugated with Alexa Fluor 594 (1:500, Invitrogen, A11005) for immunostaining. Finally, slats were mounted on the slices with a Roti®-mount fluorcare medium (Roth, HP19.1).

2.5.3. Immunostaining quantification methods

Cell counts were performed as in (Dutheil et al., 2016, 2011, 2009; El Mahmoudi et al., 2021; Rastoldo et al., 2021). In the CA3 region we analyzed GluN2B subunit expression, and in the dentate gyrus (DG) we quantified BrdU staining. The recognition, localization, and delimitation of the CA3 and DG regions were based on Paxinos and Watson's stereotaxic atlas (Paxinos and Watson, 2009). For quantification, 1 in 10 serial sections was used starting from the beginning (−2.28 mm relative to the bregma) to the end of the dorsal hippocampus (−4.56 mm relative to bregma (Paxinos and Watson, 2009)). Immunoreactivity was analysed using confocal imaging with a Zeiss LM 710 NLO laser scanning microscope equipped with a 63X/1.32 BA oil immersion lens. The number of immunoreactive (-ir) elements was analysed using an integrated microscopic counting chamber that delineated the region of interest by a square of 425.10 mm^2. The number of BrdU-ir cells and GluN2B subunits was quantified, for each group, in 20 ± 4 sections of both ipsi and contralesional DG or CA3, respectively. For GluN2B, quantifications a customized macro from Fiji software (Schindelin et al., 2012) was developed to process and analyze confocal images. Segmentation of markers made use of different steps of smoothing, differences of gaussians and thresholding and led to 3 images: the first one shows all specific and non-specific signals; the second one only the specific signals and the last one all nuclei. The number of marked structures, their surfaces and intensities are then quantified from these images.

2.5.4. Cellular data analyses

To avoid any bias, cellular analyses were performed in blind conditions. GraphPad Prism 9 was used for statistical analyses. D'Agostino and Pierson normality test followed by one-way ANOVA was used to test the impact of the lesion on the expression of both BrdU and GluN2B markers in the ipsi- and contralesional hippocampus, followed by Tukey's multiple comparisons test. Results were considered significant for $p < 0.05$.

3. Results

3.1. UVN-induced mid-term deficits in spatial working memory, spatial novelty detection and hippocampal plasticity

All animals were previously submitted to a series of behavioral tasks to evaluate vestibular, postural and locomotor deficits. Spatial memory evaluations started from the 14th day after the UVN since most of the vestibular and posturo-locomotor deficits were compensated at this time (El Mahmoudi et al., 2021). At the end of the behavioral protocols (30 days post-UVN), hippocampal plasticity was assessed by quantifying cell proliferation and NMDA subunit expression.

3.1.1. 8 radial arm maze

We evaluated spatial working memory in the standard version of the 8 radial arm maze, in which rats had to visit each arm only once. We calculated the total number of errors (repetitions + omissions) across 10 days (2 daily sessions) (Fig. 2**B**). UVN rats were significantly impaired compared to the sham group, although they improved their performance over time. Statistical analysis revealed significant 'training days', 'group', and 'training days x group' effects (2-way Repeated Measure (RM) ANOVA, 'training days': $F(9414) = 9.872$, $p < 0.001$; 'group': $F(1,46) = 24.91$, $p < 0.001$; "training days x group": $F(9414) = 2.055$, $p < 0.05$). The number of errors was significantly increased in the UVN group compared to the sham group from the day 2 ($p < 0.01$) to day 7 ($p < 0.01$). When comparing the number of errors of each group to the 1st day of training, we observed that the sham group significantly improved its performance from day 3 ($p < 0.001$) while the improvement in the UVN group was observed only from day 8 ($p < 0.05$). In addition, UVN rats displayed significantly greater velocity during all sessions (Fig. 2**C**; 2-way RM ANOVA, "training days": $F(9198) = 1.58$, $p = 0.12$; "group": $F(1,22) = 4.6$, $p < 0.05$; "training days x group": $F(9198) = 0.3$, $p = 0.9$), but this did not affect the exploration of the maze. Indeed, time in the center of the maze decreases over training days for both UVN and sham groups and no inter-group difference was observed (2-way RM ANOVA, "training days $F(9414) = 4.4$, $p < 0.001$; "group": $F(1,46) = 0.27$, $p = 0.6$; "training days x group": $F(9414) = 0.5$, $p = 0.9$, data not shown). Similarly, no differences in the time spent within each arm of the maze were observed between the groups (2-way RM ANOVA, $p > 0.1$ for each arm, data not shown). However, we observed that UVN rats choose consecutive arms that had larger angular distance compared to sham rats (Fig. 2**D**; 2-way RM ANOVA, "training days": $F(9198) = 2.24$, $p < 0.05$; "group": $F(1,22) = 8.38$, $p < 0.001$; "training days x group ": $F(9198) = 0.5$, $p = 0.8$) but this difference does not seem to account for their poor spatial working memory performance, since no significant correlation was observed between the average angular distance and the number of errors (UVN rats: Pearson $r = -0.08$, $p = 0.45$).

To better characterize the differences in the behavioral strategy used by UVN and sham rats, we analyzed the angular deviation of the sequence of angles between 2 consecutively chosen arms. We observed a significant decrease of this parameter during training days for both groups and no significant difference between UVN and sham rats (2-way RM ANOVA, "training days": $F(9198) = 2.3$, $p < 0.05$; "group": $F(1,22) = 1.07$, $p = 0.3$; "training days x group": $F(9198) = 0.7$, $p = 0.72$, data not shown). Finally, we analyzed the presence of a possible directional bias for the ipsilesional side by quantifying the percentage of left turns between two consecutively visited arms (Fig. 2**E**). Compared to sham rats, UVN rats displayed significantly greater directional bias for the ipsilesional side (2-way RM ANOVA, "training days": $F(9198) = 0.92$, $p = 0.5$; "group": $F(1,22) = 3.34$, $p = 0.08$; "training days x group": $F(9198) = 2.24$; $p < 0.05$), particularly during the initial training phase (Fig. 2**F**, 2-sample t-test, $(22) = 3.6$, $p < 0.01$). Interestingly, this effect disappeared during the last 10 sessions (Fig. 2**G**, 2-sample t-test, $t(22) = 0.32$, $p = 0.75$), during which UVN rats tended to improve their behavioral performance. However, we observed no significant correlation between the percentage of ipsilesional turns and the number of errors (UVN rats; D1-D5: Pearson $r = 0.03$, $p = 0.7$; D6-D10: Person $r = 0.004$, $p = 0.67$) suggesting that this ipsilesional bias does not fully account for the spatial memory deficits.

3.1.2. Object recognition

Spatial novelty detection was assessed in UVN and sham rats using an object recognition task (Fig. 3**A**). Both groups displayed habituation to the apparatus and the objects since they progressively decreased the total object exploration during the 7 habituation sessions (Fig. 3**C**; 2-way RM ANOVA, "session": $F(5,70) = 3.43$, $p < 0.01$; "group": $F(1,14) = 6.4 * 10^{-006}$, $p = 0.99$; "session x group": $F(5,70) = 1.59$, $p = 0.17$) and the total distance traveled (Fig. 3**B**; 2-way RM ANOVA, 'session': $F(9126) = 43.92$, $p < 0.001$; 'group': $F(1,14) = 33.96$, $p < 0.001$; "session x group": $F(9126) = 5.89$, $p < 0.001$), although UVN rats displayed greater distance traveled in all sessions compared to sham rats (from S1 ($p < 0.001$) to S7($p < 0.01$)).

In session 8 a spatial change was induced by displacing one object (Fig. 3**D**). Sham rats detected the spatial novelty by increasing the exploration of the displayed object compared to the non-displayed objects, as revealed by the positive value of the Spatial Change Index (time spent exploring the displaced object minus the mean of the time exploring the non-displaced objects). In contrast, UVN rats explored both types of objects for a similar amount of time. The 2-sample t test revealed a significant difference between the UVN and the sham group ($t(13) = 3.98$, $p < 0.01$). However, both groups were able to detect the object novelty in session 10 (Fig. 3**E**), and no difference was observed in the Object Change Index (time spent exploring the novel object minus the mean of the time exploring the familiar objects) between the two groups (2-sample t-test, $t(14) = 0.93$, $p = 0.37$).

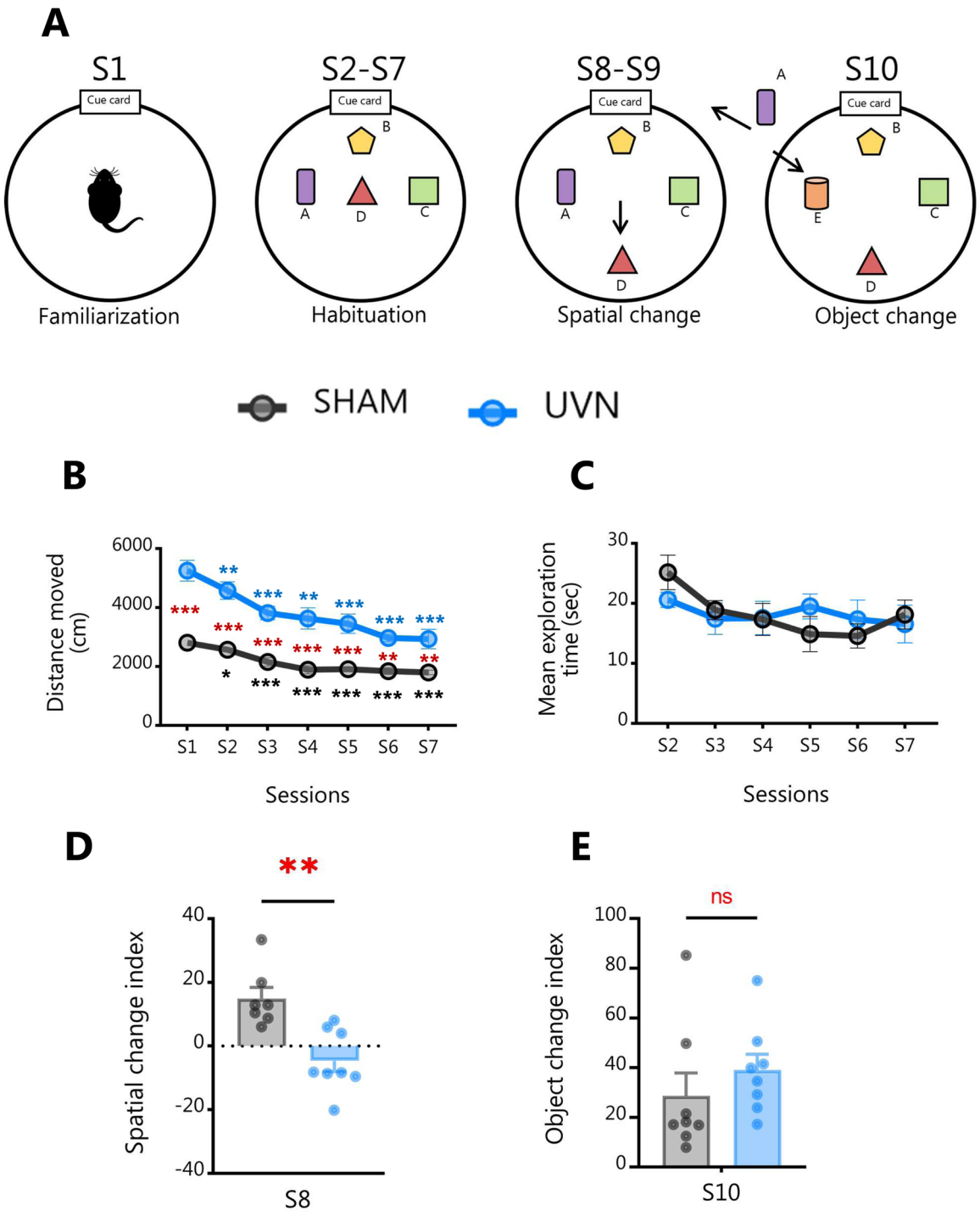


Fig. 3. : Mid-term UVN-induced deficits in spatial recognition memory. A. Behavioral protocol. **B.** Mean distance travelled (cm) across habituation sessions for the sham and UVN groups; results are expressed as mean ± SEM. *p < 0.05; * *p < 0.01; * **p < 0.001; Sidak post-hoc comparisons within training sessions between sham and UVN groups (red *) and within each group (black -sham- and blue -UVN- *). **C.** Mean object exploration (± SEM) during the habituation sessions. **D.** Average spatial change index (± SEM), i.e. time spent exploring the displaced object minus the mean exploration of the non-displaced objects; each dot represents one rat. * *p < 0.01; unpaired 2-sample-t-test. **E.** Average object change index (± SEM), i.e. time spent exploring the novel object minus the mean exploration the familiar objects; each dot represents one rat. ns; unpaired 2-sample-t-test.

3.2. Mid-term expression of BrdU and GluN2B in the hippocampus post UVN

A subset of sham and UVN rats (n = 4 for both groups) was used to assess cell proliferation and GluN2B subunit expression in the dorsal hippocampus, 30 days after the UVN. UVN rats displayed a significant decrease of cell proliferation in the ipsi-lesional DG of the dorsal hippocampus (Fig. 4**A-B**). Statistical analysis revealed a significant difference in the number of BrdU-ir cells between UVN and sham groups (1-way ANOVA, $F(3,76) = 14.3, p < 0.001$), particularly in the ipsilesional DG of the UVN group compared to both left DG ($p < 0.001$) and right DG ($p < 0.001$) of the sham group but also compared to the contralesional DG ($p < 0.01$) of the UVN group. UVN rats also displayed a significant increase in the expression of the GluN2B subunit of NMDA receptors

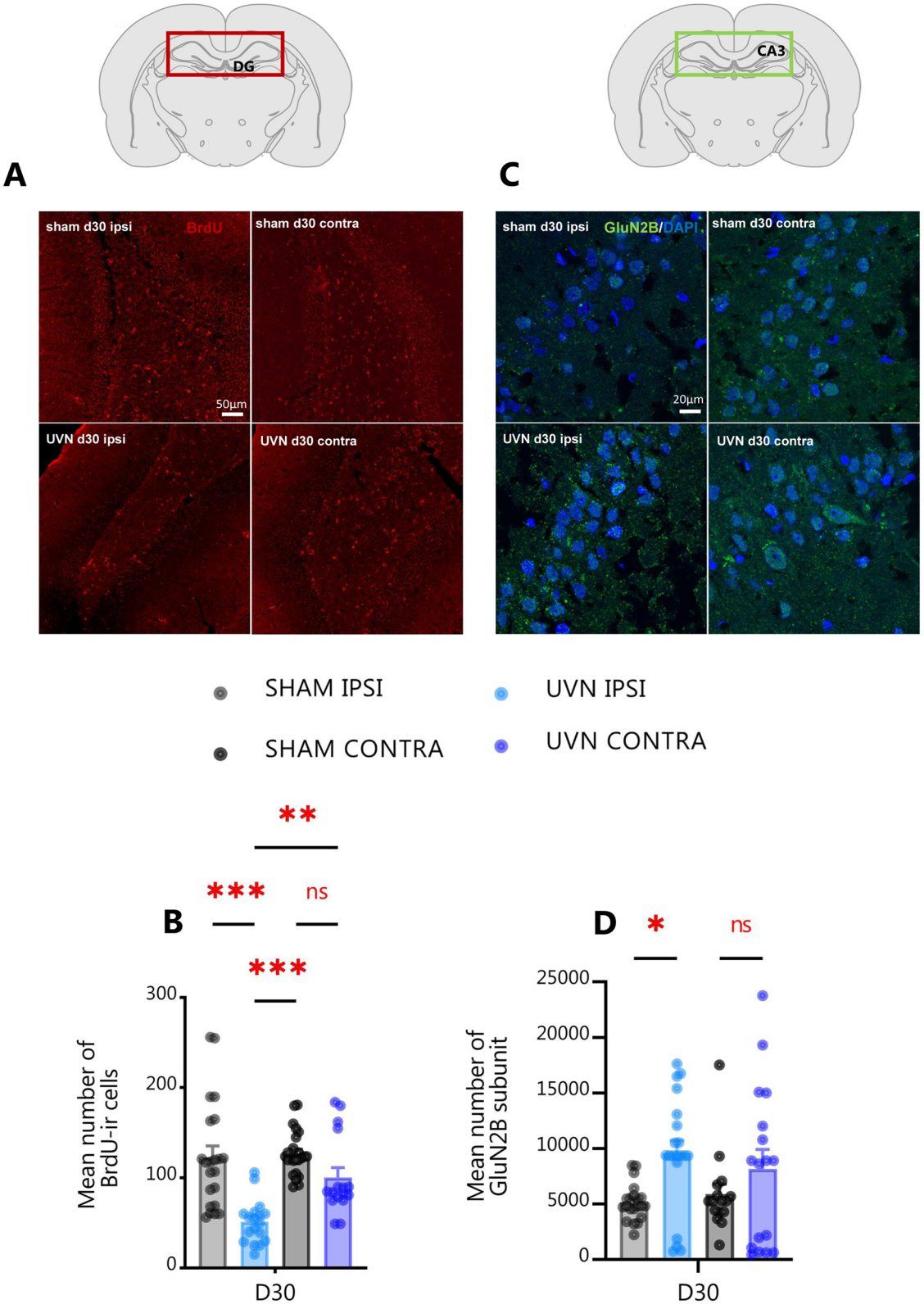


Fig. 4. : Mid-term UVN-induced impairments of hippocampal plasticity. A. Confocal images of cell proliferation immunostained with BrdU in the ipsi (left) and contralesional (right) DG from a representative sham and UVN animal. **B.** Mean (± SEM) number of BrdU-immunoreactive (ir) cells in the DG in sham and UVN groups; dots represent individual values. **C.** Confocal images of NMDA receptor expression in the ipsi (left) and contralesional (right) CA3 from a representative sham and UVN rat. **D.** Mean (± SEM) number of GluN2B-ir postive cells in the CA3; dots represent individual values. *p < 0.05; * *p < 0.01; * **p < 0.001; Tukey's post-hoc multiple comparisons test.

(Fig. 4**C-D**; 1-way ANOVA, $F(3,70) = 3.58, p < 0.05$) in the ipsilesional CA3, compared to the left CA3 of sham animals ($p < 0.05$).

3.2.1. UVN-induced long-term deficits in spatial reference memory, working memory and hippocampus plasticity

A second group of sham and UVN animals was used to evaluate long-term deficits in spatial reference memory and working memory. For the working memory we used a T-maze task rather than the radial maze task previously employed. In the mid-term evaluations, the UVN group improved performance over time exclusively in the radial maze task. We therefore decided to test at long-term a subset of sham and UVN rats ($N = 4$ for both groups) in the same task. Since the two groups displayed good performances and no statistical differences were observed (data not shown, 2-way RM ANOVA, 'training days': $F(9,54) = 4.07$, $p < 0.001$; 'group': $F(1,6) = 1.9$, $p = 0.22$; "training days x group": $F(9,54) = 0.46$, $p = 0.89$), we decided to evaluate long-term working memory using a different behavioral task. Behavioral assessments started 45 days post-UVN (Fig. 1**A**). At the end of the behavioral protocols (90 days post-UVN), hippocampal plasticity was analyzed by quantifying cell proliferation and NMDA subunit expression.

3.2.2. Continuous navigation task

Reference memory was assessed using the continuous navigation task, in which rats were trained to locate an unmarked goal area in one of the four quadrants of a circular open field (Fig. 5**A**). As in the previous tasks, mean velocity was significantly increased in the UVN group compared to sham rats (Fig. 5**D**; 2-way RM ANOVA, 'session': $F(5,75) = 2.36$, $p < 0.05$; 'group': $F(1,15) = 98.24$, $p < 0.001$;"session x group": $F(5,75) = 0.49$, $p = 0.8$; post-hoc $p < 0.001$ for all sessions). To quantify animals' ability to identify the goal zone, we calculated a goal zone preference index as the ratio between the number of entries in the goal area and the average number of entries in 3 equivalent areas located in the three remaining quadrants (Fig. 5**A-B-C**). UVN rats displayed significantly lower values across all training sessions, compared to the sham group (2-way RM ANOVA, 'session': $F(4,60) = 1.85$, $p = 0.13$; 'group': $F(1,15) = 7.53$, $p < 0.05$; 'session x group': $F(4,60) = 3,06$, $p < 0.05$), particularly in session3, 5 and 6 ($p < 0.05$ for all comparisons). Moreover, sham animals significantly improved their performance from S3 compared to S2 (S2 vs S3 $p < 0.05$; S2 vs S5 $p < 0.01$; S2 vs S6 $p < 0.01$), whereas no significant improvement was observed in the UVN group at any sessions. Thigmotaxis did not seem to account for this behavioral deficit since sham and UVN rats spent a similar amount of time in the outer 20 cm zone of the open field (Fig. 5**E-F**; 2-way RM ANOVA, 'session': $F(5,75) = 7,4$, $p < 0.001$; "group": $F(1,15) = 2.49$, $p = 0.14$; "session x group": $F(5,75) = 2.3$, $p = 0.06$).

3.2.2.1. T-maze alternation. Spatial working memory was evaluated from the 65th day post-UVN in the T-maze alternation task (Fig. 6**A**). UVN rats displayed significantly lower percentage of correct responses in all training sessions, compared to the sham group (Fig. 6**B**; 2-way RM ANOVA, "session": $F(4,60) = 1.55$, $p = 0.2$; "group": $F(1,15) = 110.2$, $p < 0.001$, "session x group": $F(4,60) = 0.31$, $p = 0.87$). Moreover, UVN rats tended to turn preferentially into the left arm, that corresponds to the ipsilesional side (Fig. 6**C**). The percentage of errors due to left choices were significantly greater compared to right choices (2-way RM ANOVA, "session": $F(4,64) = 0$, $p > 0.99$; "goal arm position": $F(1,16) = 11,6$, $p < 0.01$; "session x goal arm position"': $F(4,64) = 2.8$, $p < 0.05$), particularly in session 1 and 3 ($p < 0.01$ for both comparisons), thus suggesting that the behavioral impairments could be partially due to a directional bias, particularly during the early sessions.

3.2.2.2. Long-term expression of BrdU and GluN2B in the hippocampus post-UVN. Cell proliferation in DG and GluN2B expression in CA3 were assessed at the end of the behavioral tests, 90 days after the UVN. As in the mid-term cellular investigations, UNV rats showed BrdU-ir cells' decrease in ipsilesional DG (Fig. 7**A-B**; 1-way ANOVA, $F(3,52) = 8.78$, $p < 0.001$) compared to left ($p < 0.001$) and right ($p < 0.05$) hippocampus of the sham group. GluN2B expression was also increased (Fig. 7**C-D**; 1-way ANOVA, $F(3,62) = 2.93$, $p < 0.05$), particularity in the ipsilesional hippocampus of the UVN group compared to the left hippocampus ($p < 0.05$) of the sham group.

4. Discussion

Complete deprivation of vestibular inputs following bilateral vestibular loss (BVL) has been shown to affect spatial memory and hippocampus-dependent plasticity (Baek et al., 2010; Besnard et al., 2012; Zheng et al., 2012, 2007). However, very little is known on the impact of unilateral vestibular loss (UVL) on these processes. In this study we used the model of unilateral vestibular neurectomy (UVN) in the adult rat to evaluate the impact of UVL and the subsequent vestibular compensation on different forms of spatial memory (including reference memory, working memory and object-in-place recognition) and on hippocampal plasticity. Our results demonstrate that UVN induced both mid- and long-term deficits in all spatial memory processes, that were associated with long-lasting impairments of hippocampal plasticity. Our results highlight the crucial role of symmetrical vestibular information in spatial memory and hippocampal function and contribute to a better understanding of the spatial cognitive disorders observed in vestibular patients.

4.1. Post-UVN mid- and long-term spatial memory deficits

UVL is classically known to induce posturo-locomotor and oculomotor deficits that disappear during vestibular compensation. Here we demonstrate that cognitive functions, and in particular spatial memory, are not restored during vestibular compensation. UVN rats displayed strong deficits in both spatial reference memory and working memory as well as spatial novelty detection from 2 weeks until 3 months post-UVN. Although vestibular and posturo-locomotor deficits were mostly compensated at this stage (El Mahmoudi et al., 2021), we cannot exclude the possibility that some locomotor impairments could persist. Indeed, UVN rats displayed significantly greater velocity in all behavioral tasks at both mid- and long-term, compared to sham animals. Increased velocity following UVL was previously reported in various animal models (Brandt et al., 1999; Lacour et al., 1997; Marouane et al., 2020; Rastoldo et al., 2020) and it is thought to represent a compensatory strategy that help improving postural control during locomotion (Borel et al., 2004; Fabre-Adinolfi et al., 2018). In our study, it is very unlikely that hyperactivity may account for the observed spatial deficits, for two main reasons. First, UVN and sham rats had similar exploratory patterns, as measured by the time spent in the different areas of the apparatus (radial maze or open field). Second, UVN did not impair other cognitive processes such as the ability to detect a novel object in the object recognition task, similarly to (Zheng et al., 2004). UVN rats tended to choose arms that were far apart between two successive arms in the radial maze, probably as a consequence of the increased velocity. However, also in this case, this difference does not seem to account for the working memory deficits, since UVN rats significantly improved performance over training and no correlation between the average angular distance performed between two successive arms and the number of errors was observed. Altogether, these results suggest that increased velocity did not interfere with learning processes.

In addition to UVN-induced hyperactivity, we observed the presence of an ipsilesional directional bias in the radial arm maze and in the T maze, particularly in the early sessions. UVN rats had a clear preference for the ipsilesional arms, that disappeared during training in both tasks, similarly to the what was previously reported in vestibular UVL patients (Borel et al., 2004). However, rat performance clearly improved over time in the radial maze whereas no improvement was observed in the T-maze. It should be noted that several extramaze cues were available in

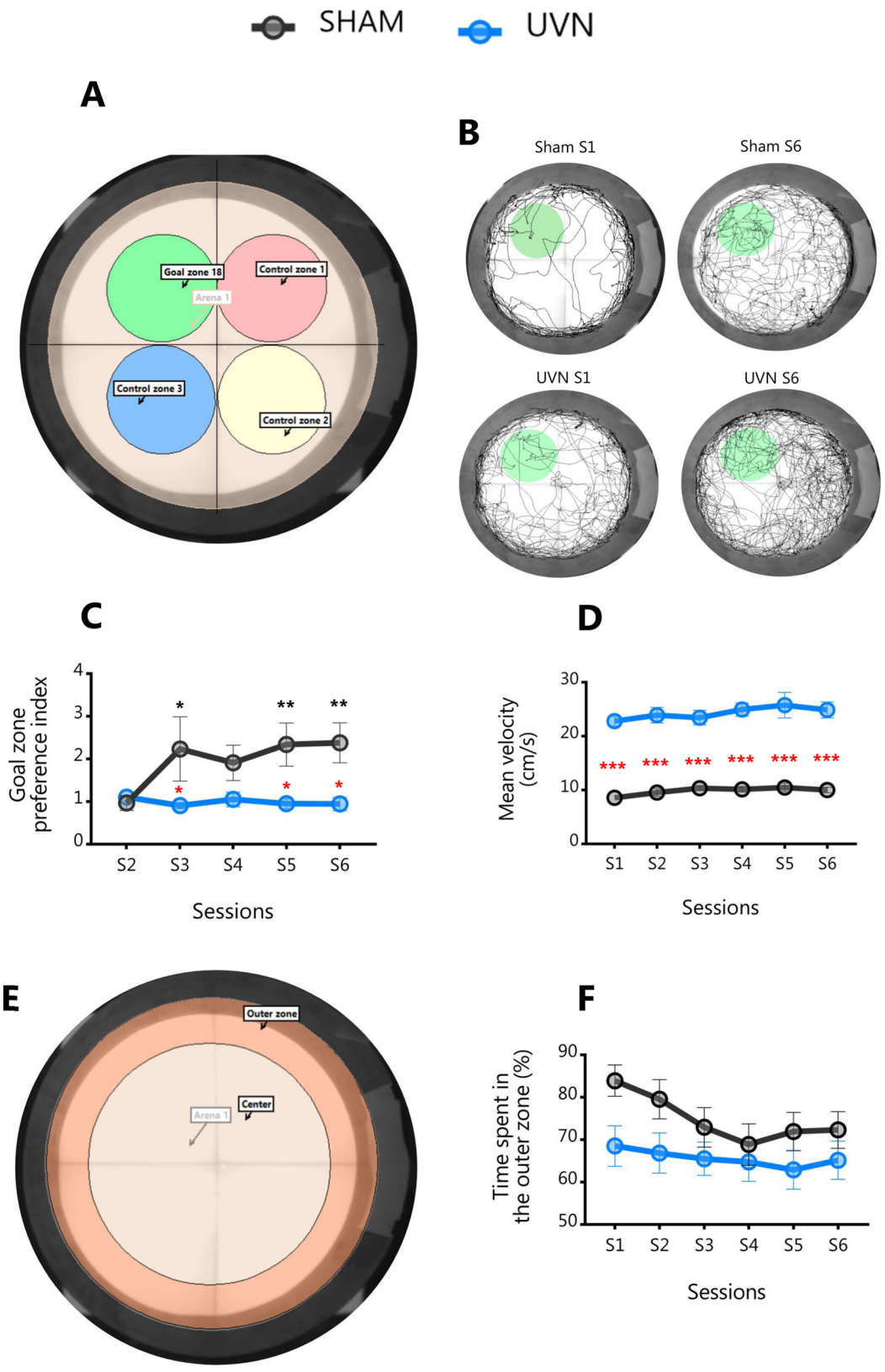
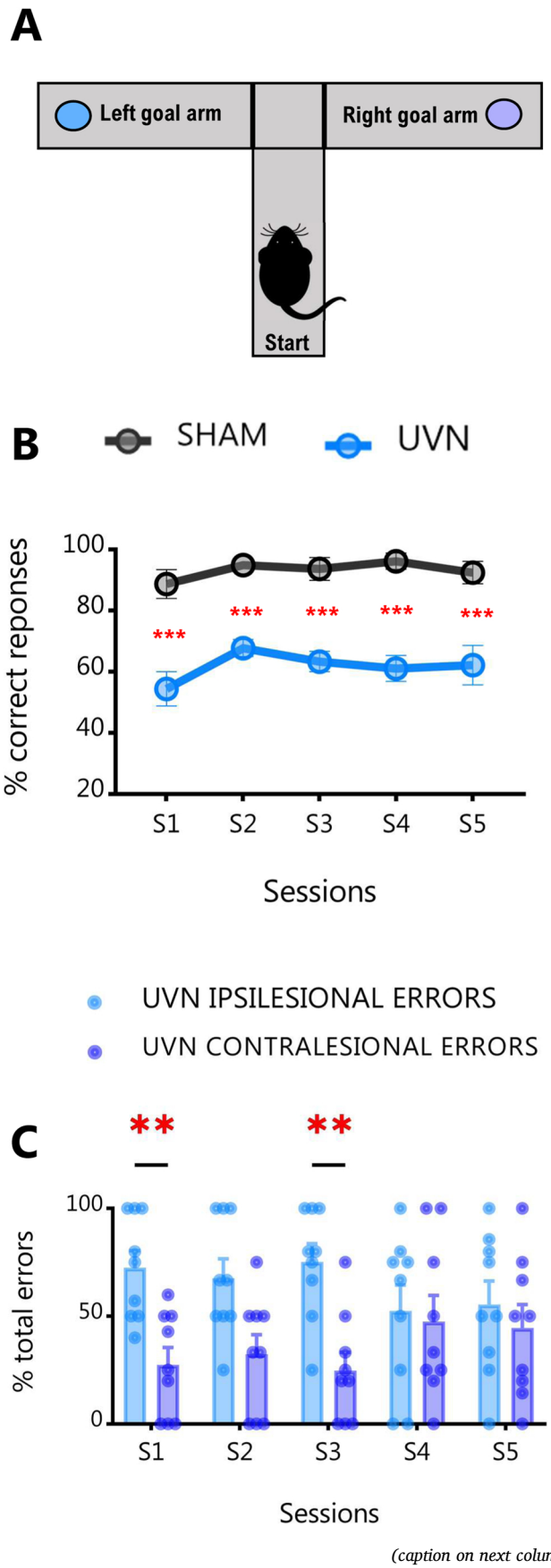


Fig. 5. : Long-term UVN-induced deficits in spatial reference memory. A. Diagram showing the virtual goal area (in green) and the control areas (in pink, blue, and yellow) within the open field; each zone has a Ø 18 cm. **B.** Examples of the trajectory from a representative sham and UVN rat during the first (S1) and the last training session (S6). **C.** Mean (± SEM) goal zone preference index (i.e. number of entries in the goal zone divided by the average number of entries in the control zones) for sham and UVN groups across training sessions; results are normalized according to rat performance during S1. **D.** Mean (± SEM) velocity (cm/s) across sessions for sham and UVN groups. **E.** Diagram of the open field showing the outer 20 cm zone used to evaluated thigmotaxis behavior. **F.** Mean percentage (± SEM) of time spent in the outer zone for sham and UVN groups across training sessions. *$p < 0.05$; * *$p < 0.01$; * **$p < 0.001$; Sidak post-hoc comparisons. Comparisons between sham and UVN group are represented by red * ; comparisons between sessions within sham group are represented with black * .



(caption on next column)

Fig. 6. : Long-term UVN-induced deficits in spatial working memory. A. Representation of the T maze apparatus. **B.** Mean percentage (± SEM) of correct responses for sham and UVN groups across training sessions. * **p < 0.001; Sidak post-hoc comparisons between groups within each session. **C.** Mean percentage (± SEM) of ipsilesional and contralesional errors across training sessions for the UVN group; ipsilesional errors correspond to incorrect choices of the left arm (the correct choice being the right arm) and contralesional errors correspond to incorrect choices of the right arm (the correct choice being the left arm); each dot represents one rat. * *p < 0.01; Sidak post-hoc comparisons between errors within UVN group.

the radial maze, thus allowing rats to use an allocentric spatial strategy, whereas no external cues were available in the T-maze, thus forcing rats to use mainly an egocentric spatial strategy. It is therefore possible that the use of distal visual cues contributes to the partial restoration of spatial abilities exclusively in the allocentric spatial task. The lack of allocentric impairment we observed during long-term vestibular compensation in a small group of UVN rats tends to confirm this hypothesis. Moreover, similar improvement over time in allocentric navigation during mid-term vestibular compensation and an absence of deficits in the long term were described in both animals (Chapuis et al., 1992; Nguyen et al., 2021) and humans (Hüfner et al., 2007; Péruch et al., 1999). Sensory substitution mechanisms involved in vestibular compensation may be the key element for the restoration of allocentric navigation abilities over time. This hypothesis is supported by studies in UVL patients showing increased grey matter volume in visual cortices of vestibular patients (Hong et al., 2014). Similarly, vestibular compensation in rat is accompanied by an early recruitment of visual and somatosensory cortices (Grosch et al., 2021), and a reweighting of visual and proprioceptive inputs in the ipsilesional VNs (Jamali et al., 2014; Lacour and Xerri, 1980; Sadeghi et al., 2011; Zennou-Azogui et al., 1996, 1994).

In contrast to allocentric tasks, post-UVL deficits in egocentric tasks tend to persist during vestibular compensation, in both animals (Chapuis et al., 1992; Zheng et al., 2006) and humans (Borel et al., 2014; Saj et al., 2021). Vestibular inputs have a stronger influence on egocentric representation, compared to allocentric spatial processes (Borel et al., 2008; Lopez et al., 2012; Smith et al., 2010). However, recovery of egocentric navigation abilities were observed in rats 6 months following UVL (Zheng et al., 2006), thus suggesting that restoring egocentric spatial memory function may require longer time, compared to allocentric memory. Indeed, following UVL, VNs undergo a slow and long-lasting reorganization with increased influence of the contralesional VNs on the ipsilesional side, thus helping the recovery of vestibular function (Beraneck and Idoux, 2012). The time-course of this process may account for the long-lasting impairments of egocentric memory processes.

If visual input helps restoring allocentric memory functions after UVL, we may ask why no improvement was observed in the place preference task and the object recognition task. Indeed, both tasks rely on allocentric spatial representations, but the spatial cues (i.e. the objects and the cue card) were located within the mazes, differently from the extra-maze cues used in the radial maze task. Previous studies have highlighted the role of egocentric movements in the perception of proximal (i.e. intramaze) cues, in rodents (for review Chan et al., 2012; Save and Poucet, 2000). In humans it was shown that vestibular cues significantly interact with proximal visual landmarks to improve route navigation (Jabbari et al., 2021). Therefore, UVN-induced deficits in egocentric navigation may strongly impact rat performance in allocentric tasks using proximal cues. Testing the rats in the same task at very long-delays would help confirming or denying this hypothesis.

4.2. Post-UVN mid- and long-term impaired hippocampal plasticity

Spatial memory involves a wide spread brain network that is centered on the hippocampus (HPC) (Burgess et al., 2002; Eichenbaum, 2017; O'Keefe and Nadel, 1978; Vann and Albasser, 2011) and

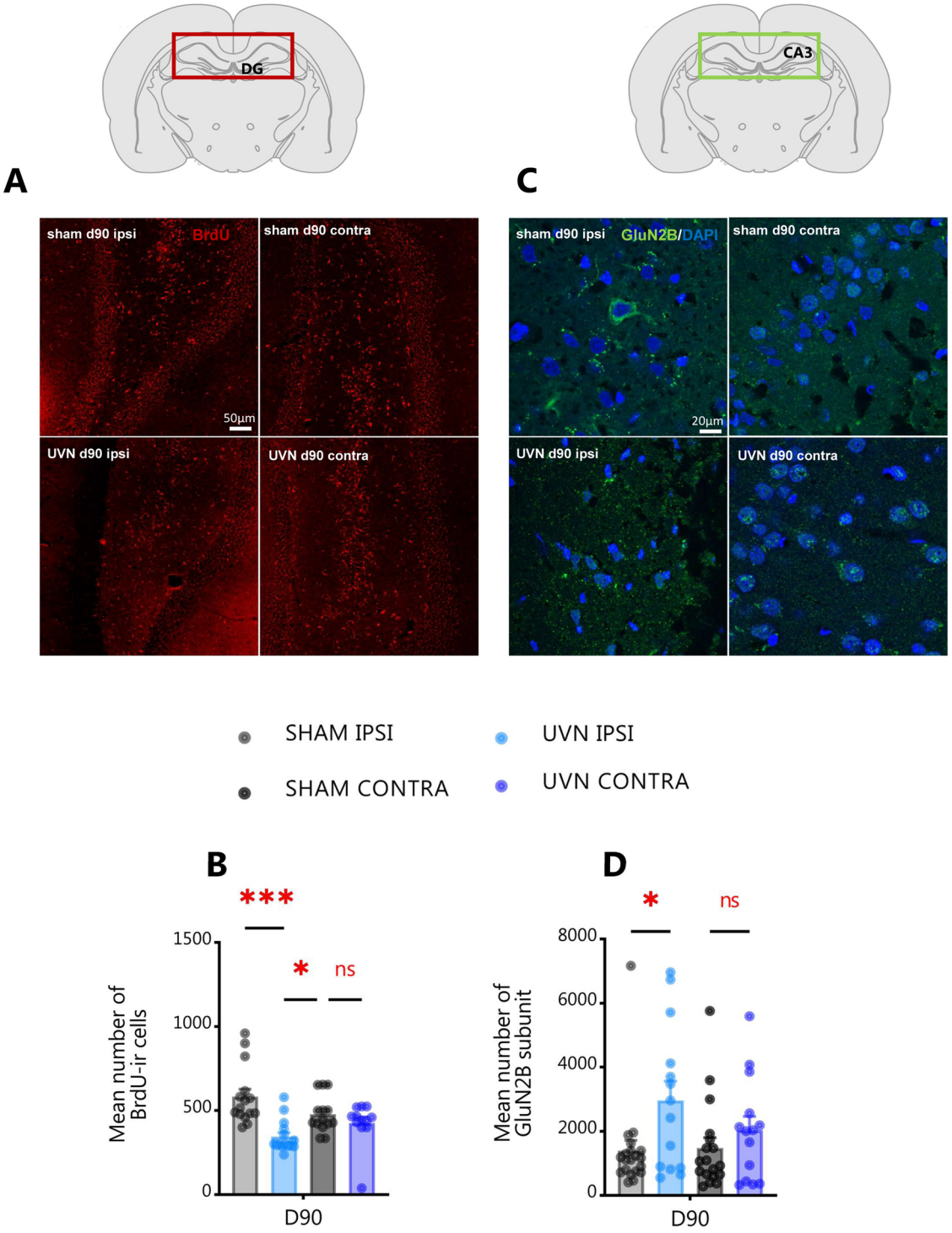


Fig. 7. : Long-term UVN-induced impairments of hippocampal plasticity. A. Confocal images of cell proliferation immunostained with BrdU in the ipsi (left) and contralesional (right) DG from a representative sham and UVN animal. **B.** Mean (± SEM) number of BrdU-immunoreactive (ir) cells in the DG in sham and UVN groups; dots represent individual values. **C.** Confocal images of NMDA receptor expression in the ipsi (left) and contralesional (right) CA3 from a representative sham and UVN rat. D. Mean (± SEM) number of GluN2B-ir postive cells in the CA3; dots represent individual values. *p < 0.05; * **p < 0.001; Tukey's post-hoc multiple comparisons test.

vestibular stimulation is known to activate the hippocampus (Cuthbert et al., 2000; Hitier et al., 2018; Vitte et al., 1996). Previous studies have investigated the impact of bilateral vestibular loss on different plasticity mechanisms in the hippocampus: from cell proliferation (Zheng et al., 2012) to glutamate receptor expression (Besnard et al., 2012; Truchet et al., 2019) and long-term potentiation (Truchet et al., 2019; Zheng et al., 2010). However, little is known on the consequences of UVL on these processes. Here we showed that UVN significantly decreased cell proliferation and increased NMDA receptor GluN2B subunit expression, particularly in the ipsi-lesional dorsal HPC. Post-UVL impaired hippocampal plasticity was observed both at mid- and long-term, with no improvement during vestibular compensation, similarly to UVN-induced spatial memory deficits. It is therefore possible that these modifications may account for the spatial memory impairments

observed in UVN rats both at mid- and long-term.

Neurogenesis in the DG has a strong impact on hippocampal functions (Clelland et al., 2009) and memory processes (Drapeau et al., 2003), and the vestibular system is known to modulate cell proliferation in the DG (for review see Smith, 2017). Similarly, vestibular loss has been shown to impact hippocampal glutamatergic transmission by modifying NMDA receptors expression in the hippocampus (Besnard et al., 2012; Liu et al., 2003; Truchet et al., 2019). Moreover, UVL was shown to induce long-term changes in HPC excitability (Zheng et al., 2003) and reduction of long-term potentiation (LTP) (Lee et al., 2017). The GluN2B subunit of the NMDA, in particular, plays a critical role in the induction of long-term plasticity (Brim et al., 2013; Clayton et al., 2002; El Gaamouch et al., 2012; Halt et al., 2012; Shipton and Paulsen, 2014). As GluN2B was shown to antagonize LTP induction under some circumstances (Delgado et al., 2018), UVN-induced increased expression may potentially disrupt LTP induction, and alter spatial learning and memory. Interestingly, GluN2B was shown to play a role in nitric oxide signaling (Szabadits et al., 2011) which is also involved in LTP induction (Huang, 1997). A previous study reported decreased expression of nitric oxide synthesis in the ipsilesional HPC following UVL (Zheng et al., 2001). Thus, different mechanisms may be implicated in UVL-induced deficits of glutamatergic transmission in the hippocampus.

It is worth noting that the plasticity processes that have been quantified in this study do not allow to distinguish between the effects of UVN on neurons or glial cells. Indeed, previous studies suggest that NMDA receptors are expressed in both cell type (Dzamba et al., 2013; Serrano et al., 2008; Shipton and Paulsen, 2014), and cell proliferation occurs before cell differentiation during neurogenesis (Mobley, 2019). Future studies will help clarifying whether UVN (and more generally vestibular lesions) similarly affect neural and glial cell functions. This issue remains so far unexplored.

Several pathways linking the vestibular nuclei to the HPC have been described. Previous studies have shown that bilateral vestibular loss strongly affects hippocampal spatial firing by totally abolishing place cells' location-specific activity (Russell et al., 2003; Stackman et al., 2002). These results point to place cell deficits as a major substrate for the spatial deficits observed following vestibular lesions. Moreover, they indicate that vestibular inputs are able to shape hippocampal activity despite the multi-synaptic pathways between the vestibular nuclei and the hippocampus (Hitier et al., 2014). In this study we observed that, following UVN, long-term alterations of plasticity markers were present mostly in the ipsilesional HPC. These results are in line with a previous study reporting ipsilesional deactivation of the hippocampal formation following UVL (Grosch et al., 2021). Although ascending vestibular projections are both ipsi- and contra-lateral (Lopez and Blanke, 2011; Zwergal et al., 2009), our results suggests that UVL' impact on HPC is mainly due to the impairment of ipsilateral projections. Based on the current anatomical knowledge, it is, however, difficult to speculate on the mechanisms responsible for this effect. Further studies are needed to answer this question.

5. Conclusions

In this study we demonstrate that unilateral vestibular neurectomy (UVN) in rats induced strong and long-lasting deficits in egocentric and allocentric spatial memory. Allocentric memory processes were partially restored at long-term during vestibular compensation, possibly through sensory substitution mechanisms involving visual input. Behavioral deficits were accompanied by persistent modifications of hippocampal plasticity, that were not restored during vestibular compensation. Altogether these results demonstrate that UVN has a strong impact on hippocampal-dependent memory functions. It remains to be determined whether UVN specifically affects hippocampal functions or may rather impact a larger brain network. Studies from the literature tend to support this latter hypothesis. Indeed, unilateral vestibular loss (UVL) was shown to modify protein expression in cortical areas involved in memory processes, such as the entorhinal and perirhinal cortices (Liu et al., 2004). It would be interesting to extend the investigation to other brain structures that are part of a network devoted to navigation and memory processes. Among these areas, the parietal and the retrosplenial cortices may be key candidates since they integrate vestibular information and have a role in egocentric- to -allocentric transformations (for review Hitier et al., 2014).

Funding

This research was supported by an Actions Incitatives grant from Fédération 3C (Comportement, Cerveau, Cognition), by the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche and, by the Centre National de la Recherche Scientifique.

CRediT authorship contribution statement

Conceptualization: N.E.M, F.S and B.T; Methodology: N.E.M, D.P, I. W, A.L, A.T, B.T, F.S, Data curation: N.E.M and C.L; Formal analysis: N.E. M, P.Y.J and F.S; Writing: N.E.M and F.S. All authors commented and edited the manuscript.

Conflict of interest

The authors declare no competing financial interests.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgement

We thank Elodie Mansour for animal facility care, Abdessadek El Ahmadi for statistical advices, Kévin Poirot for image analyses and Bruno Poucet for proofreading.

References

Baek, J.H., Zheng, Y., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2010. Evidence that spatial memory deficits following bilateral vestibular deafferentation in rats are probably permanent. Neurobiol. Learn. Mem. 94, 402–413. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.08.007.

Bannerman, D.M., Niewoehner, B., Lyon, L., Romberg, C., Schmitt, W.B., Taylor, A., Sanderson, D.J., Cottam, J., Sprengel, R., Seeburg, P.H., Köhr, G., Rawlins, J.N.P., 2008. NMDA receptor subunit NR2A is required for rapidly acquired spatial working memory but not incremental spatial reference memory. J. Neurosci. 28, 3623–3630. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3639-07.2008.

Bannerman, D.M., Sprengel, R., Sanderson, D.J., McHugh, S.B., Rawlins, J.N.P., Monyer, H., Seeburg, P.H., 2014. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. Nat. Rev. Neurosci. 15, 181–192. https://doi.org/10.1038/nrn3677.

Beraneck, M., Idoux, E., 2012. Reconsidering the role of neuronal intrinsic properties and neuromodulation in vestibular homeostasis. Front. Neur 3. https://doi.org/10.3389/fneur.2012.00025.

Beraneck, M., Hachemaoui, M., Idoux, E., Ris, L., Uno, A., Godaux, E., Vidal, P.-P., Moore, L.E., Vibert, N., 2003. Long-term plasticity of ipsilesional medial vestibular nucleus neurons after unilateral labyrinthectomy. J. Neurophysiol. 90, 184–203. https://doi.org/10.1152/jn.01140.2002.

Beraneck, M., Idoux, E., Uno, A., Vidal, P.-P., Moore, L.E., Vibert, N., 2004. Unilateral labyrinthectomy modifies the membrane properties of contralesional vestibular neurons. J. Neurophysiol. 92, 1668–1684. https://doi.org/10.1152/jn.00158.2004.

Berens, P., 2009. CircStat: A MATLAB toolbox for circular statistics. J. Stat. Softw. 31, 1–21. https://doi.org/10.18637/jss.v031.i10.

Besnard, S., Machado, M.L., Vignaux, G., Boulouard, M., Coquerel, A., Bouet, V., Freret, T., Denise, P., Lelong-Boulouard, V., 2012. Influence of vestibular input on spatial and nonspatial memory and on hippocampal NMDA receptors. Hippocampus 22, 814–826. https://doi.org/10.1002/hipo.20942.

Blanquat, P.D.S., Hok, V., Save, E., Poucet, B., Chaillan, F.A., 2013. Differential role of the dorsal hippocampus, ventro-intermediate hippocampus, and medial prefrontal cortex in updating the value of a spatial goal. Hippocampus 23, 342–351. https://doi.org/10.1002/hipo.22094.

Borel, L., Harlay, F., Lopez, C., Magnan, J., Chays, A., Lacour, M., 2004. Walking performance of vestibular-defective patients before and after unilateral vestibular neurotomy. Behav. Brain Res. 150, 191–200. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00257-2.

Borel, L., Lopez, C., Péruch, P., Lacour, M., 2008. Vestibular syndrome: a change in internal spatial representation. Neurophysiol. Clin. /Clin. Neurophysiol. 38, 375–389. https://doi.org/10.1016/j.neucli.2008.09.002.

Borel, L., Redon-Zouiteni, C., Cauvin, P., Dumitrescu, M., Devèze, A., Magnan, J., Péruch, P., 2014. Unilateral vestibular loss impairs external space representation. PLoS ONE 9, e88576. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088576.

Brandt, T., Dieterich, M., 2017. The dizzy patient: don't forget disorders of the central vestibular system. Nat. Rev. Neurol. 13, 352–362. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.58.

Brandt, T., Strupp, M., Benson, J., 1999. You are better off running than walking with acute vestibulopathy. Lancet 354, 746. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)03179-7.

Brim, B.L., Haskell, R., Awedikian, R., Ellinwood, N.M., Jin, L., Kumar, A., Foster, T.C., Magnusson, K.R., 2013. Memory in aged mice is rescued by enhanced expression of the GluN2B subunit of the NMDA receptor. Behav. Brain Res. 238, 211–226. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.10.026.

Bronstein, A.M., Dieterich, M., 2019. Long-term clinical outcome in vestibular neuritis. Curr. Opin. Neurol. 32, 174–180. https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000652.

Burgess, N., Maguire, E.A., O'Keefe, J., 2002. The Human Hippocampus and Spatial and Episodic Memory. Neuron 35, 625–641. https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00830-9.

Chan, E., Baumann, O., Bellgrove, M.A., Mattingley, J.B., 2012. From objects to landmarks: the function of visual location information in spatial navigation. Front. Psychol. 3. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00304.

Chapuis, N., Krimm, M., de Waele, C., Vibert, N., Berthoz, A., 1992. Effect of post-training unilateral labyrinthectomy in a spatial orientation task by guinea pigs. Behav. Brain Res. 51, 115–126. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(05)80205-0.

Clayton, D.A., Mesches, M.H., Alvarez, E., Bickford, P.C., Browning, M.D., 2002. A Hippocampal NR2B Deficit Can Mimic Age-Related Changes in Long-Term Potentiation and Spatial Learning in the Fischer 344 Rat. J. Neurosci. 22, 3628–3637. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03628.2002.

Clelland, C.D., Choi, M., Romberg, C., Clemenson, G.D., Fragniere, A., Tyers, P., Jessberger, S., Saksida, L.M., Barker, R.A., Gage, F.H., Bussey, T.J., 2009. A Functional Role for Adult Hippocampal Neurogenesis in Spatial Pattern Separation. Science 325, 210–213. https://doi.org/10.1126/science.1173215.

Cullen, K.E., 2012. The vestibular system: multimodal integration and encoding of self-motion for motor control. Trends Neurosci. 35, 185–196. https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.12.001.

Cullen, K.E., 2019. Vestibular processing during natural self-motion: implications for perception and action. Nat. Rev. Neurosci. 20, 346–363. https://doi.org/10.1038/s41583-019-0153-1.

Curthoys, I.S., Halmagyi, G.M., 1995. Vestibular compensation: a review of the oculomotor, neural, and clinical consequences of unilateral vestibular loss. J. Vestib. Res. 5, 67–107. https://doi.org/10.3233/VES-1995-5201.

Cuthbert, P.C., Gilchrist, D.P., Hicks, S.L., MacDougall, H.G., Curthoys, I.S., 2000. Electrophysiological evidence for vestibular activation of the guinea pig hippocampus. Neuroreport 11, 1443–1447. https://doi.org/10.1097/00001756-200005150-00018.

Darlington, C.L., Smith, P.F., 2000. Molecular mechanisms of recovery from vestibular damage in mammals: recent advances. Prog. Neurobiol. 62, 313–325. https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00002-2.

Deacon, R.M.J., Rawlins, J.N.P., 2006. T-maze alternation in the rodent. Nat. Protoc. 1, 7–12. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2.

Delgado, J.Y., Fink, A.E., Grant, S.G.N., O'Dell, T.J., Opazo, P., 2018. Rapid homeostatic downregulation of LTP by extrasynaptic GluN2B receptors. J. Neurophysiol. 120, 2351–2357. https://doi.org/10.1152/jn.00421.2018.

Deng, W., Aimone, J.B., Gage, F.H., 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory. Nat. Rev. Neurosci. 11, 339–350. https://doi.org/10.1038/nrn2822.

Drapeau, E., Mayo, W., Aurousseau, C., Moal, M.L., Piazza, P.-V., Abrous, D.N., 2003. Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. PNAS 100, 14385–14390. https://doi.org/10.1073/pnas.2334169100.

Dutheil, S., Brezun, J.M., Leonard, J., Lacour, M., Tighilet, B., 2009. Neurogenesis and astrogenesis contribution to recovery of vestibular functions in the adult cat following unilateral vestibular neurectomy: cellular and behavioral evidence. Neuroscience 164, 1444–1456. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.09.048.

Dutheil, S., Lacour, M., Tighilet, B., 2011. Neurogenic potential of the vestibular nuclei and behavioural recovery time course in the adult cat are governed by the nature of the vestibular damage. PLoS ONE 6, e22262. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022262.

Dutheil, S., Escoffier, G., Gharbi, A., Watabe, I., Tighilet, B., 2013. GABA $_A$ receptor agonist and antagonist alter vestibular compensation and different steps of reactive neurogenesis in deafferented vestibular nuclei of adult cats. J. Neurosci. 33, 15555–15566. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5691-12.2013.

Dutheil, S., Watabe, I., Sadlaoud, K., Tonetto, A., Tighilet, B., 2016. BDNF signaling promotes vestibular compensation by increasing neurogenesis and remodeling the expression of potassium-chloride cotransporter KCC2 and GABA $_A$ receptor in the vestibular nuclei. J. Neurosci. 36, 6199–6212. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0945-16.2016.

Dutia, M.B., 2010. Mechanisms of vestibular compensation: recent advances. Curr. Opin. Otolaryngol. Head. Neck Surg. 18, 420–424. https://doi.org/10.1097/MOO.0b013e32833de71f.

Dzamba, D., Honsa, P., Anderova, M., 2013. NMDA receptors in glial cells: pending questions. Curr. Neuropharmacol. 11, 250–262.

Eichenbaum, H., 2017. The role of the hippocampus in navigation is memory. J. Neurophysiol. 117, 1785–1796. https://doi.org/10.1152/jn.00005.2017.

El Gaamouch, F., Buisson, A., Moustie, O., Lemieux, M., Labrecque, S., Bontempi, B., De Koninck, P., Nicole, O., 2012. Interaction Between CaMKII and GluN2B Controls ERK-Dependent Plasticity. J. Neurosci. 32, 10767–10779. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5622-11.2012.

El Mahmoudi, N., Rastoldo, G., Marouane, E., Péricat, D., Watabe, I., Tonetto, A., Hautefort, C., Chabbert, C., Sargolini, F., Tighilet, B., 2021. Breaking a dogma: acute anti-inflammatory treatment alters both post-lesional functional recovery and endogenous adaptive plasticity mechanisms in a rodent model of acute peripheral vestibulopathy. J. Neuroinflamm. 18, 183. https://doi.org/10.1186/s12974-021-02222-y.

Fabre-Adinolfi, D., Parietti-Winkler, C., Pierret, J., Lassalle-Kinic, B., Frère, J., 2018. You are better off running than walking revisited: Does an acute vestibular imbalance affect muscle synergies. Hum. Mov. Sci. 62, 150–160. https://doi.org/10.1016/j.humov.2018.10.010.

Granon, S., Poucet, B., Thinus-Blanc, C., Changeux, J.-P., Vidal, C., 1995. Nicotinic and muscarinic receptors in the rat prefrontal cortex: Differential roles in working memory, response selection and effortful processing. Psychopharmacology 119, 139–144. https://doi.org/10.1007/BF02246154.

Grosch, M., Lindner, M., Bartenstein, P., Brandt, T., Dieterich, M., Ziegler, S., Zwergal, A., 2021. Dynamic whole-brain metabolic connectivity during vestibular compensation in the rat. NeuroImage 226, 117588. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117588.

Guidetti, G., Monzani, D., Trebbi, M., Rovatti, V., 2007. Peripheral vestibular damage causes impaired navigation tasks on memorized routes in humans. Ann. d'oto-Laryngol. Et. De. Chir. cervico Facial.: Bull. De. la Société d'oto-Laryngol. Des. hôpitaux De. Paris 124, 197–201. https://doi.org/10.1016/j.aorl.2007.04.004.

Guidetti, G., Guidetti, R., Manfredi, Maurizio, Manfredi, Marco, 2020. Vestibular pathology and spatial working memory. Acta Otorhinolaryngol. Ital. 40, 72–78. https://doi.org/10.14639/0392-100X-2189.

Halt, A.R., Dallapiazza, R.F., Zhou, Y., Stein, I.S., Qian, H., Juntti, S., Wojcik, S., Brose, N., Silva, A.J., Hell, J.W., 2012. CaMKII binding to GluN2B is critical during memory consolidation: CaMKII binding to GluN2B affects water maze recall. EMBO J. 31, 1203–1216. https://doi.org/10.1038/emboj.2011.482.

Harris, A.P., D'Eath, R.B., Healy, S.D., 2009. Environmental enrichment enhances spatial cognition in rats by reducing thigmotaxis (wall hugging) during testing. Anim. Behav. 77, 1459–1464. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.02.019.

Hitier, M., Besnard, S., Smith, P.F., 2014. Vestibular pathways involved in cognition. Front. Integr. Neurosci. 8. https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00059.

Hitier, M., Sato, G., Zhang, Y.-F., Besnard, S., Smith, P.F., 2018. Effects of electrical stimulation of the rat vestibular labyrinth on c-Fos expression in the hippocampus. Neurosci. Lett. 677, 60–64. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.04.041.

Hong, S.-K., Kim, J.H., Kim, H.-J., Lee, H.-J., 2014. Changes in the gray matter volume during compensation after vestibular neuritis: A longitudinal VBM study. Restor. Neurol. Neurosci. 32, 663–673. https://doi.org/10.3233/RNN-140405.

Huang, E.P., 1997. Synaptic plasticity: a role for nitric oxide in LTP. Curr. Biol. 7, R141–R143. https://doi.org/10.1016/S0960-9822(97)70073-3.

Hüfner, K., Hamilton, D.A., Kalla, R., Stephan, T., Glasauer, S., Ma, J., Brüning, R., Markowitsch, H.J., Labudda, K., Schichor, C., Strupp, M., Brandt, T., 2007. Spatial memory and hippocampal volume in humans with unilateral vestibular deafferentation. Hippocampus 17, 471–485. https://doi.org/10.1002/hipo.20283.

Jabbari, Y., Kenney, D.M., von Mohrenschildt, M., Shedden, J.M., 2021. Vestibular cues improve landmark-based route navigation: a simulated driving study. Mem. Cogn. 49, 1633–1644. https://doi.org/10.3758/s13421-021-01181-2.

Jamali, M., Mitchell, D.E., Dale, A., Carriot, J., Sadeghi, S.G., Cullen, K.E., 2014. Neuronal detection thresholds during vestibular compensation: contributions of response variability and sensory substitution: Neuronal detection thresholds during vestibular compensation. J. Physiol. 592, 1565–1580. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.267534.

Lacour, M., Xerri, C., 1980. Compensation of postural reactions to free-fall in the vestibular neurectomized monkey. Exp. Brain Res 40, 103–110. https://doi.org/10.1007/BF00236668.

Lacour, M., Sun, J., Harlay, F., 1997. Kinematic Analysis of Locomotion in Unilateral Vestibular Neurectomized Cats. J. Vestib. Res. 7, 101–118. https://doi.org/10.3233/VES-1997-72-303.

Lacour, M., Helmchen, C., Vidal, P.-P., 2016. Vestibular compensation: the neuro-otologist's best friend. J. Neurol. 263, 54–64. https://doi.org/10.1007/s00415-015-7903-4.

Lee, G.W., Kim, J.H., Kim, M.S., 2017. Reduction of long-term potentiation at Schaffer collateral-CA1 synapses in the rat hippocampus at the acute stage of vestibular compensation. Korean J. Physiol. Pharmacol. 21, 423–428. https://doi.org/10.4196/kjpp.2017.21.4.423.

Liu, P., Zheng, Y., King, J., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2003. Long-term changes in hippocampal n-methyl-d-aspartate receptor subunits following unilateral vestibular damage in rat. Neuroscience 117, 965–970. https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00878-3.

Lopez, C., Blanke, O., 2011. The thalamocortical vestibular system in animals and humans. Brain Res. Rev. 67, 119–146. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.12.002.

Lopez, C., Schreyer, H.-M., Preuss, N., Mast, F.W., 2012. Vestibular stimulation modifies the body schema. Neuropsychologia 50, 1830–1837. https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2012.04.008.

Lukoyanov, N.V., Paula-Barbosa, M.M., 2000. A single high dose of dizocilpine produces long-lasting impairment of the water maze performance in adult rats. Neurosci. Lett. 285, 139–142. https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01053-3.
Mao, D., He, Z., Xuan, W., Deng, J., Li, W., Fang, X., Li, L., Zhang, F., 2021. Effect and mechanism of BDNF/TrkB signaling on vestibular compensation. Bioengineered 12, 11823–11836. https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1997565.
Marouane, E., Rastoldo, G., El Mahmoudi, N., Péricat, D., Chabbert, C., Artzner, V., Tighilet, B., 2020. Identification of New Biomarkers of Posturo-Locomotor Instability in a Rodent Model of Vestibular Pathology. Front Neurol. 11. https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00470.
Martineau, F.S., Fournier, L., Buhler, E., Watrin, F., Sargolini, F., Manent, J.-B., Poucet, B., Represa, A., 2019. Spared cognitive and behavioral functions prior to epilepsy onset in a rat model of subcortical band heterotopia. Brain Res. 1711, 146–155. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.01.030.
Mccabe, B.F., Ryu, J.H., 1969. Experiments on vestibular compensation. Laryngoscope 79, 1728–1736. https://doi.org/10.1288/00005537-196910000-00004.
McCall, A.A., Miller, D.M., Yates, B.J., 2017. Descending influences on vestibulospinal and vestibulosympathetic reflexes. Front. Neurol. 8. https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00112.
Mobley, A.S., 2019. Adult Neurogenesis in the Hippocampus. In: Neural Stem Cells and Adult Neurogenesis. Elsevier, pp. 117–148. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811014-0.00006-8.
Nguyen, T.T., Nam, G.-S., Kang, J.-J., Han, G.C., Kim, J.-S., Dieterich, M., Oh, S.-Y., 2021. Galvanic Vestibular Stimulation Improves Spatial Cognition After Unilateral Labyrinthectomy in Mice. Front. Neurol. 12, 716795 https://doi.org/10.3389/fneur.2021.716795.
Niewoehner, B., Single, F.N., Hvalby, Ø., Jensen, V., Meyer zum Alten Borgloh, S., Seeburg, P.H., Rawlins, J.N.P., Sprengel, R., Bannerman, D.M., 2007. Impaired spatial working memory but spared spatial reference memory following functional loss of NMDA receptors in the dentate gyrus. Eur. J. Neurosci. 25, 837–846. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05312.x.
O'Keefe, J., Nadel, L., 1978. The hippocampus as a cognitive map. Clarendon Press. Oxford University Press, Oxford: New York.
Paxinos, G., Watson, C., 2009. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Amsterdam; Boston.
Péricat, D., Farina, A., Agavnian-Couquiaud, E., Chabbert, C., Tighilet, B., 2017. Complete and irreversible unilateral vestibular loss: a novel rat model of vestibular pathology. J. Neurosci. Methods 283, 83–91. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.04.001.
Péruch, P., Borel, L., Gaunet, F., Thinus-Blanc, G., Magnan, J., Lacour, M., 1999. Spatial performance of unilateral vestibular defective patients in nonvisual versus visual navigation. VES 9, 37–47. https://doi.org/10.3233/VES-1999-9105.
Péruch, P., Borel, L., Magnan, J., Lacour, M., 2005. Direction and distance deficits in path integration after unilateral vestibular loss depend on task complexity. Cogn. Brain Res. 25, 862–872. https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2005.09.012.
Precht, W., Shimazu, H., Markham, C.H., 1966. A mechanism of central compensation of vestibular function following hemilabyrinthectomy. J. Neurophysiol. 29, 996–1010. https://doi.org/10.1152/jn.1966.29.6.996.
Rastoldo, G., Marouane, E., El Mahmoudi, N., Péricat, D., Bourdet, A., Timon-David, E., Dumas, O., Chabbert, C., Tighilet, B., 2020. Quantitative Evaluation of a New Posturo-Locomotor Phenotype in a Rodent Model of Acute Unilateral Vestibulopathy. Front. Neurol. 11, 505. https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00505.
Rastoldo, G., El Mahmoudi, N., Marouane, E., Pericat, D., Watabe, I., Toneto, A., López-Juárez, A., Chabbert, C., Tighilet, B., 2021. Adult and endemic neurogenesis in the vestibular nuclei after unilateral vestibular neurectomy. Prog. Neurobiol. 196, 101899 https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101899.
Rodo, C., Sargolini, F., Save, E., 2017. Processing of spatial and non-spatial information in rats with lesions of the medial and lateral entorhinal cortex: Environmental complexity matters. Behav. Brain Res. 320, 200–209. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.12.009.
Rossier, J., Kaminsky, Y., Schenk, F., Bures, J., 2000. The place preference task: a new tool for studying the relation between behavior and place cell activity in rats. Behav. Neurosci. 114, 273–284. https://doi.org/10.1037/0735-7044.114.2.273.
Russell, N.A., Horii, A., Smith, P.F., Darlington, C.L., Bilkey, D.K., 2003. Bilateral peripheral vestibular lesions produce long-term changes in spatial learning in the rat. J. Vestib. Res. 13, 9–16. https://doi.org/10.3233/VES-2003-13102.
Sadeghi, S.G., Minor, L.B., Cullen, K.E., 2010. Neural correlates of motor learning in the vestibulo-ocular reflex: dynamic regulation of multimodal integration in the macaque vestibular system. J. Neurosci. 30, 10158–10168. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1368-10.2010.
Sadeghi, S.G., Minor, L.B., Cullen, K.E., 2011. Multimodal Integration After Unilateral Labyrinthine Lesion: Single Vestibular Nuclei Neuron Responses and Implications for Postural Compensation. J. Neurophysiol. 105, 661–673. https://doi.org/10.1152/jn.00788.2010.
Saj, A., Bachelard-Serra, M., Lavieille, J., Honoré, J., Borel, L., 2021. Signs of spatial neglect in unilateral peripheral vestibulopathy. Eur. J. Neurol. 28, 1779–1783. https://doi.org/10.1111/ene.14701.
Save, E., Poucet, B., 2000. Involvement of the hippocampus and associative parietal cortex in the use of proximal and distal landmarks for navigation. Behav. Brain Res. 109, 195–206. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00173-4.
Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D.J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., Cardona, A., 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nat. Methods 9, 676–682. https://doi.org/10.1038/nmeth.2019.
Serrano, A., Robitaille, R., Lacaille, J.-C., 2008. Differential NMDA-dependent activation of glial cells in mouse hippocampus. Glia 56, 1648–1663. https://doi.org/10.1002/glia.20717.
Shipton, O.A., Paulsen, O., 2014. GluN2A and GluN2B subunit-containing NMDA receptors in hippocampal plasticity. Philos. Trans. R. Soc. B 369, 20130163. https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0163.
Smith, P.F., 2017. Is. hippocampal neurogenesis Modul. Sensat. self-Motion encoded Vestib. Syst. ? Neurosci. Biobehav. Rev. 83, 489–495. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.09.013.
Smith, P.F., Curthoys, I.S., 1989. Mechanisms of recovery following unilateral labyrinthectomy: a review. Brain Res. Rev. 14, 155–180. https://doi.org/10.1016/0165-0173(89)90013-1.
Smith, P.F., Geddes, L.H., Baek, J.-H., Darlington, C.L., Zheng, Y., 2010. Modulation of memory by vestibular lesions and galvanic vestibular stimulation. Front. Neurol. 1. https://doi.org/10.3389/fneur.2010.00141.
Stackman, R.W., Clark, A.S., Taube, J.S., 2002. Hippocampal spatial representations require vestibular input. Hippocampus 12, 291–303. https://doi.org/10.1002/hipo.1112.
Szabadits, E., Cserép, C., Szőnyi, A., Fukazawa, Y., Shigemoto, R., Watanabe, M., Itohara, S., Freund, T.F., Nyiri, G., 2011. NMDA receptors in hippocampal GABAergic synapses and their role in nitric oxide signaling. J. Neurosci. 31, 5893–5904. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5938-10.2011.
Tighilet, B., Chabbert, C., 2019. Adult neurogenesis promotes balance recovery after vestibular loss. Prog. Neurobiol. 174, 28–35. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.01.001.
Tighilet, B., Brezun, J.M., Dit Duflo Sylvie, G., Gaubert, C., Lacour, M., 2007. New neurons in the vestibular nuclei complex after unilateral vestibular neurectomy in the adult cat: Reactive neurogenesis in adult vestibular lesioned cats. Eur. J. Neurosci. 25, 47–58. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05267.x.
Truchet, B., Benoit, A., Chaillan, F., Smith, P.F., Philoxene, B., Guillamin, M., Poucet, B., Coquerel, A., Besnard, S., 2019. Hippocampal LTP modulation and glutamatergic receptors following vestibular loss. Brain Struct. Funct. 224, 699–711. https://doi.org/10.1007/s00429-018-1792-0.
Uffer, D.S., Hegemann, S.C.A., 2016. About the pathophysiology of acute unilateral vestibular deficit – vestibular neuritis (VN) or peripheral vestibulopathy (PVP). VES 26, 311–317. https://doi.org/10.3233/VES-160581.
Van Cauter, T., Camon, J., Alvernhe, A., Elduayen, C., Sargolini, F., Save, E., 2013. Distinct roles of medial and lateral entorhinal cortex in spatial cognition. Cereb. Cortex 23, 451–459. https://doi.org/10.1093/cercor/bhs033.
Vann, S.D., Albasser, M.M., 2011. Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory. Curr. Opin. Neurobiol. 21, 440–445. https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.02.002.
Vidal, P.P., Cullen, K., Curthoys, I.S., Du Lac, S., Holstein, G., Idoux, E., Lysakowski, A., Peusner, K., Sans, A., Smith, P., 2015. The vestibular system. In: The Rat Nervous System. Elsevier, pp. 805–864. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00028-0.
Vitte, E., Derosier, C., Caritu, Y., Berthoz, A., Hasboun, D., Soulié, D., 1996. Activation of the hippocampal formation by vestibular stimulation: a functional magnetic resonance imaging study. Exp. Brain Res 112, 523–526. https://doi.org/10.1007/BF00227958.
Zennou-Azogui, Y., Xerri, C., Harlay, F., 1994. Visual sensory substitution in vestibular compensation: neuronal substrates in the alert cat. Exp. Brain Res 98. https://doi.org/10.1007/BF00233983.
Zennou-Azogui, Y., Xerri, C., Léonard, J., Tighilet, B., 1996. Vestibular compensation: role of visual motion cues in the recovery of posturo-kinetic functions in the cat. Behav. Brain Res. https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00142-5.
Zheng, Y., Horii, A., Appleton, I., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2001. Damage to the vestibular inner ear causes long-term changes in neuronal nitric oxide synthase expression in the rat hippocampus. Neuroscience 105, 1–5. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00217-2.
Zheng, Y., Kerr, D.S., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2003. Unilateral inner ear damage results in lasting changes in hippocampal CA1 field potentials in vitro. Hippocampus 13, 873–878. https://doi.org/10.1002/hipo.10174.
Zheng, Y., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2004. Bilateral labyrinthectomy causes long-term deficit in object recognition in rat. NeuroReport 15, 1913.
Zheng, Y., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2006. Impairment and recovery on a food foraging task following unilateral vestibular deafferentation in rats. Hippocampus 16, 368–378. https://doi.org/10.1002/hipo.20149.
Zheng, Y., Goddard, M., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2007. Bilateral vestibular deafferentation impairs performance in a spatial forced alternation task in rats. Hippocampus 17, 253–256. https://doi.org/10.1002/hipo.20266.
Zheng, Y., Mason-Parker, S.E., Logan, B., Darlington, C.L., Smith, P.F., Abraham, W.C., 2010. Hippocampal synaptic transmission and LTP in vivo are intact following bilateral vestibular deafferentation in the rat. Hippocampus 20, 461–468. https://doi.org/10.1002/hipo.20645.
Zheng, Y., Balabhadrapatruni, S., Baek, J.H., Chung, P., Gliddon, C., Zhang, M., Darlington, C.L., Napper, R., Strupp, M., Brandt, T., Smith, P.F., 2012. The effects of bilateral vestibular loss on hippocampal volume, neuronal number, and cell proliferation in rats. Front. Neurol. 3. https://doi.org/10.3389/fneur.2012.00020.
Zwergal, A., Strupp, M., Brandt, T., Büttner-Ennever, J.A., 2009. Parallel ascending vestibular pathways: anatomical localization and functional specialization. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1164, 51–59. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04461.x.
Zwergal, A., Schlichtiger, J., Xiong, G., Beck, R., Günther, L., Schniepp, R., Schöberl, F., Jahn, K., Brandt, T., Strupp, M., Bartenstein, P., Dieterich, M., Dutia, M.B., la Fougère, C., 2016. Sequential [18F]FDG μPET whole-brain imaging of central

vestibular compensation: a model of deafferentation-induced brain plasticity. Brain Struct. Funct. 221, 159–170. https://doi.org/10.1007/s00429-014-0899-1.